

І. С. Давідовіч, Г. В. Калітовська, Н. Г. Антонюк, А. Ф. Бурбан

Отримання альгінатних мікрокапсул мікроемульсійним методом: вплив параметрів процесу на характеристики мікрокапсул

(Представлено академіком НАН України М. Т. Картелем)

Розроблено та оптимізовано методику отримання альгінатних мікрокапсул мікроемульсійним методом. Досліджено вплив параметрів процесу, таких, як співвідношення полімер:емульгатор, швидкість перемішування і концентрація розчину полімеру на розміри та дисперсність мікрокапсул.

Останнім часом все частіше увагу дослідників привертають так звані розумні матеріали, під якими розуміють речовини, що здатні реагувати на незначні зміни зовнішнього середовища заздалегідь запрограмованим чином. Серед водорозчинних полімерів, які використовуються для отримання мікрокапсул, чутливих до змін рН, для адресної доставки лікарських засобів, великого поширення набув альгінат натрію через його біосумісність, здатність до біодеградації та мукоадгезивні властивості.

Розмір альгінатних мікрокапсул істотно впливає на спосіб їх введення в організм. Так, мікрокапсули розміром 20 мкм можна вводити безпосередньо у кров'яне русло людини. Мікрокапсули, розміри яких більше, вводять перорально. Згідно з вимогами, мікрокапсули для введення лікарських засобів повинні мати вузький розподіл за розмірами та індекс однорідності 2,0. Крім того, розмір мікрокапсул також впливає на кінетику вивільнення введених лікарських засобів.

Метою роботи було отримання альгінатних мікрокапсул із заданими характеристиками, які в подальшому будуть використовуватися як рН чутлива матриця для цільової доставки та контрольованого вивільнення лікарських засобів. Мікрокапсули, які отримано методом екструзії, відповідають вимогам стосовно ширини розподілу та однорідності, однак мають великі розміри. Це призводить до незадовільної швидкості вивільнення з них лікарських засобів [1], що є одним з недоліків методу. Мікроемульсійний метод дозволяє широко варіювати розміри альгінатних мікрокапсул та ширину їх розподілу за розмірами. Характеристики мікрокапсул можна контролювати, змінюючи такі параметри процесу мікрокапсулювання, як природа емульгатора, співвідношення полімер:емульгатор, швидкість перемішування та концентрація розчину полімеру.

Експериментальна частина. Методика отримання мікрокапсул мікроемульсійним методом. Розчин альгінату натрію (1,25, 1,5, 1,75% й 2,0%) додавали краплями до суміші 160 мл рослинної олії та 1,0–2,2 г поверхнево-активної речовини (ПАР) Tween-80, перемішували на механічній мішалці впродовж 10 хв з частотою 600–1200 об./хв, потім додавали 30 мл 0,33 моль/л розчину хлориду кальцію, продовжуючи перемішування 30 хв. Після цього емульсію відстоювали 60 хв для отвердіння мікрокапсул. Відфільтровували отримані мікрокапсули на ультрафільтраційній комірі Amicon 8200 (Millipore, США) непроточного типу під тиском 3 атм, промивали дистильованою водою та етиловим спиртом до відсутності ПАР у промивній рідині.

Методика визначення розмірів мікрокапсул. Визначення розміру мікрокапсул проводили за допомогою світлового мікроскопа MBL 2000. Невелику кількість сухих мікрокапсул суспендували в дистильованій воді (10 мл) за допомогою ультразвуку. Краплину суспензії поміщали на предметне скло, зафарбовували розчином фуксину. Визначали розмір 300 мікрокапсул при збільшенні 4800. Середнє значення та розподіл за розмірами за допомогою програми Microsoft Excel.

Індекс однорідності (UI) визначали за формулою [2]:

$$UI = \frac{D_w}{D_n},$$

де D_w — середньомасовий діаметр мікрокапсул; D_n — середньочисловий діаметр мікрокапсул.

Аналіз результатів. *Вплив швидкості перемішування емульсії на розмір альгінатних мікрокапсул.* Швидкість перемішування мікроемульсії зміщує рівновагу коалесценція/диспергування крапель розчину полімеру, а отже, впливає на розмір мікрокапсул (табл. 1) [3].

Як і очікувалося, зменшення швидкості перемішування від 1800 до 600 об./хв призводить до збільшення середнього розміру мікрокапсул від 8,9 до 19,8 мкм, а при швидкості <800 об./хв мікрокапсули набувають видовженої форми. Збільшення швидкості перемішування >1200 об./хв викликає високу турбулентність, спінування та адгезію до стінок контейнера, що також призводить до отримання мікрокапсул неправильної форми. Так, неагреговані мікрокапсули сферичної форми з найвужчою межею розподілу за розмірами було отримано при швидкості перемішування 1200 об./хв.

Вплив концентрації альгінату натрію на розмір альгінатних мікрокапсул. На наступному етапі було досліджено вплив концентрації альгінату натрію на розподіл мікрокапсул за розмірами, оскільки в цьому випадку відбувається зміна в'язкості розчину полімеру. Концентрацію полімеру в розчині варіювали від 1,25 до 2,00%. Як видно з рис. 1, а–в, криві розподілу мікрокапсул за розмірами, отриманих з розчинів полімерів концентрацією 1,25, 1,50 та 1,75%, є асиметричними. При збільшенні концентрації полімеру до 2,00% крива розподілу стає симетричною та звужується, отже мікрокапсули стають більш однорідними (див. г на рис. 1). Характеристики розмірів та індекс однорідності мікрокапсул демонструє табл. 2. Як видно з таблиці, збільшення концентрації розчину альгінату натрію зумовлює зростання середніх розмірів мікрокапсул. Таким чином, змінюючи концентрацію альгінату натрію в розчині, можна отримати різні за розміром мікрокапсули.

Таблиця 1. Характеристики альгінатних мікрокапсул, отриманих мікроемульсійним методом при різних швидкості перемішування

Швидкість перемішування, об./хв	$D_{сер}$, мкм	D_{min} , мкм	D_{max} , мкм	Індекс однорідності	Сферичність
600	19,8	5,0	47,5	1,8	—
800	15,7	5,8	47,5	1,7	—
1000	15,3	5,0	35,0	1,7	+
1200	10,4	5,2	32,3	1,7	+
1400	10,0	5,0	31,7	1,7	—
1600	9,5	4,8	29,6	1,7	—
1800	8,9	4,6	27,8	1,7	—

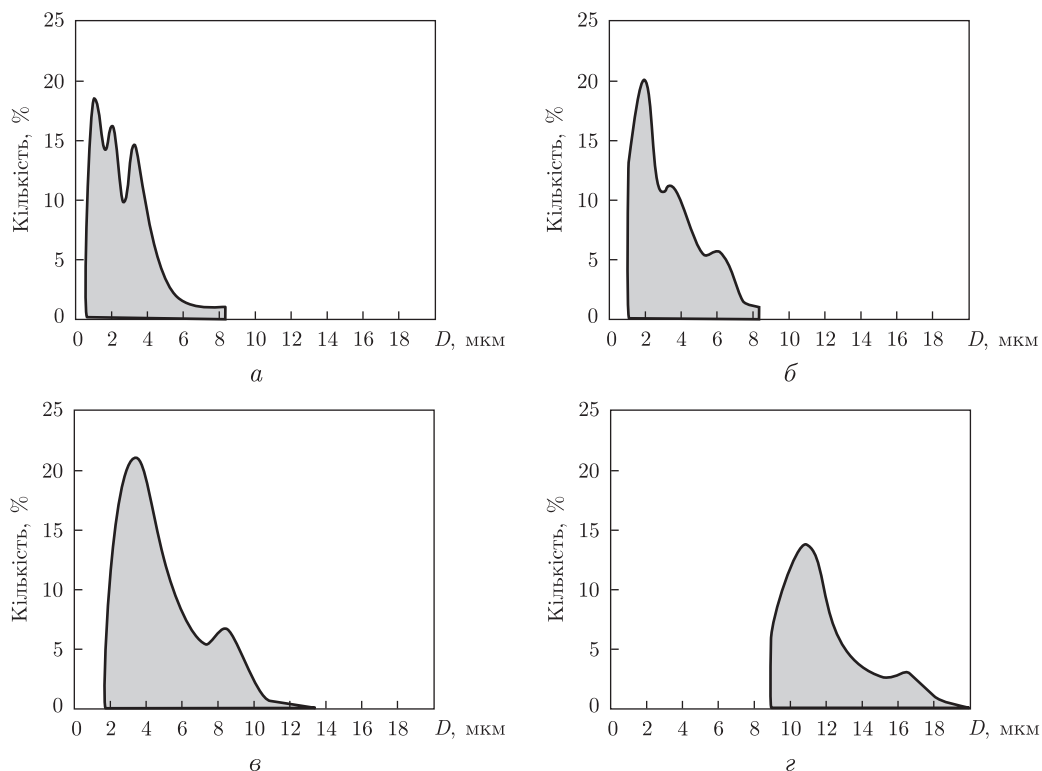


Рис. 1. Розподіл за розмірами альгінатних мікрокапсул, отриманих мікроемulsійним методом при різних концентраціях альгінату (*a* – 1,25%, *б* – 1,50%, *в* – 1,75%, *г* – 2,00%): співвідношення ПАР : альгінат натрію – 5,5 : 1,0 (1200 об./хв)

Вплив співвідношення ПАР : альгінат натрію на розмір мікрокапсул. При використанні розчинів полімерів з високою в'язкістю швидкість коалесценції перевищує швидкість диспергування. Розв'язати цю проблему можна додаванням диспергуючого агента, який створює тонкий захисний шар навколо мікрокапсул, знижуючи при цьому ступінь коалесценції. Як диспергуючі агенти використовують різні полімерні матеріали [4], білки [5] та поверхнево-активні речовини [6]. У нашій роботі для стабілізації емульсії “вода в маслі” використовували неіоногенну ПАР Tween-80.

Вплив кількості емульгатора на розмір альгінатних мікрокапсул було досліджено при зміні вмісту емульгатора за постійної концентрації розчину альгінату натрію (2%). При збільшенні кількості ПАР спостерігається зменшення розмірів мікрокапсул, що можна пояснити зростанням стійкості диспергованих крапель розчину полімеру до злипання, що зумовлено сорбцією молекул Tween-80 на поверхні полімеру, та утворенням захисного шару

Таблиця 2. Характеристики альгінатних мікрокапсул, одержаних мікроемulsійним методом при різних концентраціях альгінату натрію

Концентрація альгінату натрію, %	$D_{\text{сер}}$, мкм	D_{min} , мкм	D_{max} , мкм	Індекс однорідності
1,25	2,2	0,6	8,3	2,5
1,50	2,9	1,0	8,3	2,3
1,75	4,9	1,7	27,1	2,7
2,00	10,4	5,2	32,3	1,7

(табл. 3). Кількість емульгатора істотно впливає як на розмір мікрокапсул, так і на їх індекс однорідності. Крім того, зменшення вмісту ПАР спричинює звуження межі розподілу мікрокапсул за розміром. У даному випадку спостерігається чітка кореляція між вмістом ПАР і IU альгінатних мікрокапсул. Отже, за результатами дослідження можна зробити висновки, що кількість емульсифікатора є визначальним параметром, який впливає на ширину розподілу та однорідність мікрокапсул.

Регресійний аналіз. Для систематичного дослідження спільного впливу параметрів мікроемульсійного процесу (концентрації альгінату натрію, C ; вмісту ПАР, m ; швидкості перемішування, w) на $D_{\text{сер}}$ та IU альгінатних мікрокапсул був використаний регресійний аналіз (табл. 4).

Регресійна залежність середнього діаметра мікрокапсул від змінних параметрів є значущою на 100,0% і має $R^2 = 0,975$ та доводить, що всі досліджені параметри значно впливають на розмір мікрокапсул. Концентрація альгінату прямо пропорційно впливає на середній діаметр, а зі збільшенням вмісту ПАР та швидкості перемішування емульсії розмір мікрокапсул зменшується. Дані параметри на 47% обумовлюють розмір альгінатних мікрокапсул. Рівняння регресії має такий вигляд:

$$D_{\text{сер}} = 14,875C - 18,600m - 0,012w + 36,789.$$

З параметрів регресії IU альгінатних мікрокапсул від змінних параметрів, яка є значущою на 99,5% та має $R^2 = 0,787$, видно, що швидкість перемішування не впливає на однорідність розмірів мікрокапсул, тоді як концентрація альгінату натрію має обернено пропорційний вплив, а вміст емульгатора — прямо пропорційний. Вивчені параметри тільки на 30% зумовлюють дисперсність мікрокапсул. Рівняння регресії має такий вигляд:

$$UI = 0,323m - 1,198C + 3,484.$$

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що найбільш сприйнятливими умовами для одержання мікрокапсул сферичної форми з вузьким розподілом за розміром є: концентрація полімеру 2,0%; співвідношення полімер : ПАР у діапазоні від 1 : 1 до 1,0 : 5,5; швидкість перемішування 1000–1200 об./хв.

Таблиця 3. Характеристики альгінатних мікрокапсул при різному співвідношенні ПАР : альгінат натрію

Альгінат натрію-ПАР	$D_{\text{сер}}$, мкм	D_{min} , мкм	D_{max} , мкм	Індекс однорідності
1,0 : 1	44,1	17,5	113,3	1,22
1,0 : 2,5	37,0	15,8	79,2	1,39
1,0 : 4	19,3	7,5	40,0	1,45
1,0 : 5,5	10,4	5,2	32,3	1,70

Таблиця 4. Параметри лінійної регресії

Змінна	Залежність $D_{\text{сер}}$			Залежність індексу однорідності		
	Коефіцієнти		Значущість	Коефіцієнти		Значущість
	B	похибка		B	похибка	
Константа	36,789	$\pm 8,065$	0,002	3,484	$\pm 0,816$	0,003
C	14,875	$\pm 3,043$	0,001	-1,198	$\pm 0,308$	0,005
m	-18,600	$\pm 1,268$	0,000	0,323	$\pm 0,128$	0,036
w	-0,012	$\pm 0,003$	0,003	0,000	$\pm 0,000$	0,932

1. Чабан М. О., Давидович І. С., Антонюк Н. Г. та ін. Одержання рН-чутливих альгінат-агарових мікрокапсул для контрольованого вивільнення білкових лікарських засобів // Наук. зап. НаУКМА. Сер. Хімічні науки і технології. – 2011. – **118**. – С. 30–35.
2. Dubey R. R., Parikh R. H. Two-Stage Optimization Process for Formulation of Chitosan Microspheres // AAPS PharmSciTech. – 2004. – **5**. – P. 1–9.
3. Denkbas E. B., Seyyal M., Piskins E. 5-Fluorouracil loaded chitosan microspheres for chemoembolization // J. Microencapsul. – 1999. – **16(6)**. – P. 741–749.
4. Bezemer J. M., Radersma R., Grijpma D. W. et al. Microspheres for protein delivery prepared from amphiphilic multiblock copolymers: 1. Influence of preparation techniques on particle characteristics and protein delivery // J. Control. Release. – 2000. – **67**. – P. 233–248.
5. Lambert O., Nagele O., Loux V. et al. Poly (ethylene carbonate) microspheres: manufacturing process and internal structure characterization // Ibid. – 2000. – **67**. – P. 89–99.
6. Petrovic L. B., Sovilj V. J., Katona J. M. et al. Influence of polymer-surfactant interactions on o/w emulsion properties and microcapsule formation // J. Colloid and Interface Sci. – 2010. – **342**. – P. 333–339.

Національний університет
“Киево-Могилянська академія”

Надійшло до редакції 14.03.2012

И. С. Давидович, Г. В. Калитовская, Н. Г. Антонюк, А. Ф. Бурбан

Получение альгинатных микрокапсул микроэмульсионным методом: влияние параметров процесса на характеристики микрокапсул

Разработана и оптимизирована методика получения альгинатных микрокапсул микроэмульсионным методом. Исследовано влияние параметров процесса, таких, как соотношение полимер:эмульгатор, скорость перемешивания и концентрация раствора полимера на размеры и дисперсность микрокапсул.

I. S. Davidovich, H. V. Kalitovska, N. G. Antoniuk, A. F. Burban

Microemulsion technique for the production of alginic microcapsules: influence of parameters of the process on the characteristics of microcapsules

The microemulsion technique for the production of alginic microcapsules is developed and optimized. It is shown that varying the parameters such as the ratio of polymer: emulsifier, stirring speed, and polymer concentration influences the size and the dispersion of microcapsules.