

Mastergradsoppgave i farmasi

Karakterisering og optimalisering av myke omega-3-kapsler med kalsium

Et prosjekt i samarbeid med ProBio Nutraceuticals AS/Ayanda

Av Chipso Judit Tendeland

2009



Avdeling for legemiddelteknologi og biofarmasi, Institutt for Farmasi

Det medisinske fakultet, Universitetet i Tromsø

Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved avdeling for legemiddelteknologi og biofarmasi, Institutt for Farmasi, ved Universitetet i Tromsø i perioden oktober 2008 til mai 2009.

Tusen takk til veileder, Ingunn Tho, for god veiledning og bra samarbeid. Takk for fantastisk god hjelp i innspurten.

Takk til avdeling for legemiddelteknologi og biofarmasi.

Takk til de jeg har vært i kontakt med på ProBio/Ayanda, og takk for omvisning på fabrikken.

Takk til kull-04.

Til slutt vil jeg takke familie og venner (spesielt Aldor) for at dere er der for meg!

Tromsø, 20. mai 2009,

Chipo Tendeland

Innhold

Sammendrag	4
1 Innledning	5
1.1 Bakgrunn.....	5
1.2 Hensikt.....	6
2 Teori	7
2.1 Myke gelatinkapsler.....	7
2.2 Formulering av kapselskall.....	7
2.2.1 Gelatin.....	8
2.2.2 Mykgjørere.....	8
2.2.3 Vann.....	9
2.2.4 Andre tilsetninger.....	10
2.3 Formulering av fyllmateriale.....	10
2.4 Framstilling.....	11
2.5 Interaksjoner mellom kapselskall og fyllmateriale.....	12
2.6 Suspensjoner.....	13
2.6.1 Suspensjoner i myke gelatinkapsler.....	15
2.6.2 Myke omega-3-kapsler med kalsium.....	16
3 Materiale og metode	19
3.1 Kapselformuleringer.....	19
3.2 Kjemikalier.....	21
3.3 Utstyr.....	21
3.4 Karakterisering av kapsler.....	22
3.4.1 Makroskopisk test.....	22
3.4.2 Mikroskopering.....	22
3.4.3 Elektronmikroskopering (SEM).....	22
3.4.4 Mekaniske egenskaper	22
3.4.4.1 Filmstyrke hos kapsler.....	23
3.4.4.2 Sømstyrke hos kapsler.....	25

3.4.5	Partikkelstørrelse i suspensjonene.....	26
3.4.6	Vannbestemmelse ved Karl Fisher-titrering.....	27
3.5	Fremstilling og karakterisering av frie gelatinfilmer.....	29
3.5.1	Fremstilling av frie filmer.....	29
3.5.2	Mekanisk styrke og elastisitet til frie gelatinfilmer.....	30
3.6	Forsøksoppsett.....	34
3.6.1	Karakterisering av problembatcher.....	34
3.6.2	Sammenligning av egenskaper hos frie gelatinfilmer.....	35
3.6.3	Karakterisering av batcher etter prosessoptimalisering.....	36
4	Resultat og diskusjon.....	37
4.1	Nærmere undersøkelse av brune flekker på gelatinkapsler.....	37
4.2	Karakterisering av problemformuleringer.....	41
4.2.1	Effekt av mykgjørere og innvirkning på formuleringen.....	41
4.2.1.1	Kapsler med sorbitol som mykgjørere.....	41
4.2.1.2	Kapsler med glycerol som mykgjørere.....	47
4.2.1.2	Kapsler med kombinasjon glycerol:sorbitol som mykgjørere.....	51
4.2.1.3	Sammenlikning av formuleringer med ulike mykgjørere.....	55
4.2.2	Problemer med suspensjonen(e).....	58
4.2.3	Akselerert oksidasjon av fiskeolje.....	59
4.2.4	Mulighet for Maillards reaksjon.....	59
4.2.5	Tørkeprosess (over eller undertørring).....	60
4.2.6	Forslag til tiltak for intervensjon/prosessoptimalisering.....	60
4.3	Karakterisering av nyproduserte kapsler etter intervensjon.....	61
4.4	Vurdering av forbedring av problemkapsler.....	65
5	Konklusjon.....	67
6	Referanser.....	69
7	Vedlegg.....	71

Sammendrag

ProBio Nutraceuticals/Ayanda er en ledende kontraktsleverandør innen produksjon av omega-3-produkter i Nord-Europa. På et av deres produkter ble det observert brune flekker som misfarget det hvite kapselskallet en viss tid etter produksjon. Problemet kan trolig føres tilbake til formuleringen. Produktet er myke omega-3-kapsler med kalsiumkarbonat suspendert i fyllmaterialet. Av visuelle årsaker er denne suspensjonen maskert ved å tilsette titaniumdioksid som fargestoff i gelatinkapselskallet. En hypotese er at misfargingen skyldes lekkasje av fiskeolje fra fyllmaterialet gjennom kapselskallet. Olje som lekker ut og kommer i kontakt med luft, vil oksideres og få en mørk farge.

Studien tar sikte på å karakterisere ulike kapselformuleringer av dette problemproduktet for å se om man basert på deres oppførsel kan si noe om hvilke formuleringsparametere og/eller produksjonsparametere som kan være årsaken til det observerte problemet. I første del av studien ble eldre kapsler med forskjellige type mykgjørere i gelatinfilmene (glycerol, sorbitol og en blanding av glycerol/sorbitol 40/60) studert over en periode på 4-5 måneder. Prøver ble tatt ut til testing med ca tre ukers mellomrom. Kapslene ble karakterisert med hensyn til mekaniske egenskaper (film- og sømstyrke), vanninnhold, utseende og partikkelstørrelse (evt. vekst i partikkelstørrelse eller aggregering) av suspenderte partikler. For å få en dypere forståelse av de mekaniske egenskapene og effekt av mykgjørerne på kapselskallet, ble frie gelatinfilmer fremstilt med de samme formuleringene som var brukt i kapsleproduksjon. Filmene ble fremstilt ved en "casting" metode.

Siste del av studien tar for seg nyproduserte kapsler av samme produkt hvor det er gjennomført endel endringer med tanke på å forbedring av produktet, og redusere problemet med misfarging og flekkdannelse på kapseloverflaten under lagring. Kort oppsummert ble suspensjonen av titaniumdioxid i gelatinmassen optimalisert ved hjelp av et fuktetrinn og et malningstrinn, en råvare ble byttet ut med en renere kvalitet (mindre jern som kan katalysere oksidasjon av fiskeolje), størrelse på kapslene ble redusert og forholdet mellom glycerol og sorbitol ble justert. Etter en lagringstid på 13 uker (ca 3 måneder) er det fortsatt ikke observert brune flekker på kapslene som ble produsert etter prosessoptimalisering. Kombinasjonen av de i verksatte tiltakene ser ut til fungere tilfredsstillende.

1 Innledning

Myke gelatinkapsler har vært brukt siden midten av 1800-tallet, hovedsakelig for å maskere ubehagelig smak av medisiner. Etter at innkapslingsmaskinen med roterende stempel ble funnet opp i 1933, kunne myke galatinkapsler produseres i industriell skala. Formuleringsformen har mange bruksområder, blant annet innenfor farmasøytiske preparater og kosttilskudd. Myke gelatinkapsler som doseringsform har mange fordeler, som økt ”compliance” og økt biotilgjengelighet. Mange nye virkestoff er hydrofobe og derfor lite løselige i vandige systemer. For å lage en fast doseringsform for disse substansene, er myke gelatinkapsler et bra alternativ [1, 2].

1.1 Bakgrunn

ProBio Nutraceuticals AS ble etablert i 2000 og har utviklet seg til å bli ledende i Nord-Europa innen produksjon av omega-3-produkter. Bedriften har hovedkontor i Tromsø, og produksjonsfasiliteter blant annet på Andenes, Andøya. Selskapet produserer på kontrakt for sluttkundeleverandører [3]. I januar 2009 fusjonerte ProBio Nutraceuticals med et finsk (Medipharmia OY) og et tysk legemiddelfirma (Gelkaps GmbH), og heter nå Ayanda [4].

På et av ProBio/Ayandas produkter ble det observert misfarging av kapselskallet en tid etter produksjon, noe som trolig kan føres tilbake til formuleringen. Produktet er produsert som myke omega-3-kapsler med kalsiumkarbonat suspendert i fyllmaterialet. Av visuelle årsaker maskeres denne suspensjonen ved å tilsette titaniumdioksid som fargestoff i gelatin-kapselskallet. En tid etter produksjon ble det observert brune flekker på disse kapslene. En hypotese er at misfarging skyldes lekkasje av fyllstoff gjennom kapselskallet. Olje som lekker ut og kommer i kontakt med luft, vil oksideres og få en mørk farge som blir synlig som brune flekker på den hvite kapseloverflaten.

ProBio/Ayanda har testet to forskjellige gelatinformuleringer; den ene hadde sorbitol som mykgjører i kapselskallet, og den andre hadde glycerol som mykgjører. Det så ut til at den glycerol-baserte fikk flekker 3-4 uker etter produksjon, mens hos den sorbitol-baserte formuleringen kom flekkene etter 3-4 måneder [5].

1.2 Hensikt

Hensikten med oppgaven er å undersøke, og om mulig forbedre, et omega-3-produkt med kalsium, som viser problemer med at misfargede flekker oppstår på kapslenes overflate under lagring. Denne studien tar sikte på å karakterisere ulike kapselformuleringer for å se om man basert på deres oppførsel kan si noe om hvilke formuleringsparametere og/eller produksjonsparametere som kan være årsaken til det observerte problemet med dannelse av brune flekker på de hvite kapslene.

Kapslene er produsert ved ProBio/Ayandas anlegg på Andøya over en periode på 2 år. Innledningsvis undersøkes tidligere produserte kapselformuleringer med forskjellige type mykgjørere i gelatinfilmene (glycerol, sorbitol og en blanding av glycerol/sorbitol 40/60) over en periode på 4-5 måneder. Det tas ut prøver til testing med ca tre ukers mellomrom. Målet er å komme nærmere en forklaring på hva som skaper problemet med flekkdannelse gjennom å karakterisere kapslenes mekaniske egenskaper (film- og sømstyrke), vanninnhold, utseende og partikkelstørrelse (evt. vekst i partikkelstørrelse eller aggregering) av suspenderte partikler. For en dypere forståelse av de mekaniske egenskapene og effekt av mykgjørerne studeres også frie filmer av gelatinkapselsformulering fremstilt ved en "casting" metode.

Del to av studien er å foreslå mulig endringer til forbedring av produktet, søke å gjennomføre intervensjonen om mulig, for så å studere effekten av endringene på en batch med nyproduserte kapsler av problemproduktet.

2 Teori

2.1 Myke gelatinkapsler

Kapsler er en legemiddelform som inneholder virkestoff i dosert mengde. Kapselskallet kan i henhold til Ph.Eur. være hardt eller mykt, med ulik form og volum [6]. Myke gelatinkapsler består av en flytende eller halvfast matriks, som er omgitt av et sammenhengende skall av gelatin. Flytende stoffer kan kapsles inn direkte, mens faste stoffer enten blir løst opp eller dispergert i et passende medium. Fyllmatriksen kan være hydrofil eller lipofil, eller bestå av en emulsjon [1].



Figur 2.1: Eksempler på myke gelatinkapsler, til venstre oblong form og hvitt fargestoff i kapselskallet, og til høyre oval form.

2.2 Formulering av kapselskall

Kapselskallet til myke gelatinkapsler består av gelatin, vann og en eller flere mykgjørere. Skallet kan også tilsettes farge og smak. Noen kapselskall film-coates med et gastroresistent stoff, slik at kapselen ikke løses før den kommer til tarmen. I spesielle tilfeller kan virkestoff tilsettes til skallet [1, 2].

2.2.1 Gelatin

Gelatin er den vanligste filmdanneren som brukes i produksjon av myke kapsler, og utgjør rundt 40% (w/w) av den våte gelatinmassen [1]. Gelatin danner sterke, elastiske og klare filmer, som lett løses i kontakt med vandig medium, som for eksempel magesyre. En viktig egenskap til gelatin er evnen til å danne gel ved nedkjøling. Gelen smelter når temperaturen økes innenfor små temperaturintervaller.

Gelatin er et protein som utvinnes fra animalsk kollagen ved oppvarming og sur (type A) eller basisk (type B) hydrolyse. Kollagen er hovedbestanddelen i bein, skinn og bindevev hos dyr. Gelatin til kapselproduksjon kommer vanligvis fra kollagen fra svin eller storfe.

Kollagen er formet som en trippel heliks, som holdes sammen av hydrogenbindinger mellom karboksylsyregrupper og aminosyregrupper på forskjellige peptidkjeder. Kjennetegn på kollagen er høy forekomst av aminosyrene prolin, glysin og hydroksyprolin [6]. Ved oppvarming og denaturering med syre eller base, vil hydrogenbindingene i kollagenstrukturen brytes, og da er polypeptidet i enkle, tilfeldig foldete kjeder (gelatin). Ved avkjøling til under 40°C vil det dannes nye hydrogenbindinger som fører til dannelse av et tredimensjonalt nettverk som vann kan fanges inn i. Dette resulterer i dannelsen av en gel.

Overgangen mellom oppløst gelatin ("solution") og gelatin i form av en gel, defineres som "sol-gel"-transisjon. Når gelatinfilm fremstilles er det nettopp det som skjer, oppløst gelatin går over til gelatin i form av gel, fordi den varme gelatinmassen blir avkjølt [1, 2, 8, 9].

Egenskaper som karakteriserer gelatin er gelstyrke (måles i Bloom), viskositet, og både smelte- og gelingstemperatur. Disse egenskapene påvirkes av konsentrasjon, pH, gelingstid og saltinnhold [9].

2.2.2 Mykgjørere

Mykgjørere blir brukt for å gjøre kapselskallet elastisk og smidig, og utgjør ofte 20-30% (w/w) av våt gelatinmasse ved fremstilling av myke gelatin kapsler. Den vanligste mykgjøreren som blir brukt i gelatinkapsler er glycerol, men også sorbitol og propylenglycol blir brukt, ofte i kombinasjon med glycerol. Mengde og type mykgjører avgjør hvor hardt og/eller sprøtt kapselskallet blir, og kan påvirke løseligheten, og både fysisk og kjemisk stabilitet. Riktig valg av type mykgjører og konsentrasjon er viktig for å oppnå ønskede

mekaniske egenskaper og samtidig minst mulig interaksjon og migrering mellom det flytende fyllmaterialet og kapselskallet [1, 9].

Glasstransisjonstemperatur, T_g , er den temperaturen eller det temperaturintervallet hvor et stoff går fra å være i en glassaktig (sprø) tilstand til en gummiaktig (elastisk) tilstand [6, 7]. Mykgjørere er molekyler med lav molekylvekt, som senker glasstransisjonstemperaturen ved å legge seg mellom molekyler i gelatinen slik at de lettere kan bevege seg i forhold til hverandre. Dermed reduseres bindingskreftene mellom molekylkjedene og gelatinet blir mindre sprøtt, og mer elastisk. En god mykgjører skal redusere glasstransisjonstemperaturen til gelatinskallet, uten å påvirke stabiliteten til den tredimensjonale gelstrukturen [2].

Glycerol ($C_3H_5(OH)_3$) har gode mykgjørende egenskaper, er tilstrekkelig kompatibel med fyllmaterialer, har lav flyktighet og evne til å interagere direkte med gelatin. Ved bruk av glycerol som mykgjører, blir kapslene ofte veldig myke. Sorbitol ($C_6H_{14}O_6$) er en indirekte mykgjører, som virker ved å binde vann, slik at vann blir den effektive mykgjøreren. Ved bruk av sorbitol som mykgjører blir kapslene ofte mer rigide, og egner seg best hvis kapslene lagres varmt og fuktig [2]. Et problem ved bruk av sorbitol som mykgjører er dets tendens til ”bloomig”, som er et fenomen hvor mykgjører lekker ut av filmen til kapseloverflata. Dette gjør at mykgjøreren blir mindre effektiv, og kapslene blir mindre elastisk og mer sprø slik at de lettere kan sprekke. I tillegg vil kapslene få en ”våt” overflate og kunne bli klistret inntil hverandre [5, 9]. Propylenglycol ($C_3H_8O_2$) har en enda bedre mykgjørende effekt enn både sorbitol og glycerol, men den brukes lite fordi den har en oppløsende effekt på gelatinet slik at dannelsen av gelstrukturen hemmes [2].

2.2.3 Vann

Vann utgjør 30-40% (w/w) av den våte gelatinmassen ved fremstilling av myke gelatinkapsler. Vann er viktig for å løse gelatinen før produksjonsprosessen og for å gi gelatinmassen lav nok viskositet under produksjonen. Vann er en effektiv mykgjører, men fordi det meste av vannet fordampes i løpet av tørkeprosessen under framstillingen, har vann kun en liten rolle som mykgjører i de ferdige kapslene. Tørre gelatinkapsler har et vanninnhold på 5-8% w/w [1]. Dette vannivået er viktig for å oppnå en god fysisk stabilitet, slik at gelatinkapslene hverken blir for myke og klistrer seg til hverandre, og heller ikke for harde og sprø [1].

2.2.4 Andre tilsetninger

Fargestoffer og pigmenter som gjør kapslene ugjennomskinnelige kan tilsettes kapselskallet, og utgjør kun en liten andel av gelatinmassen. Titaniumdioksid tilsettes for eksempel i en konsentrasjon på 0,2-1,2% (w/w) av gelatinmassen [9]. Fargestoff kan tilsettes for å maskere dårlig farge av fyllmaterialet, maskere en suspensjon, eller for å beskytte lysømfintlig fyllmateriale.

Smakstilsetninger og stoffer som gir kapselen behagelig lukt kan tilsettes til skallet for å maskere vond smak og lukt [1].

2.3 Formulering av fyllmateriale

Fyllmaterialet i myke gelatinkapsler kan være flytende eller halvfast, og bestå av en oppløsning, suspensjon eller emulsjon. Viktige egenskaper til fyllmaterialet er å gi best mulig stabilitet til virkestoffet, forbedre biotilgjengelighet til virkestoffet, fremme effektiv og nøyaktig fylling med tanke på dosering, og å gi et fysikalsk stabilt produkt.

Tradisjonelt har lipofile løsninger eller suspensjoner vært mest brukt som fyllmateriale. Lipofile virkestoff, som for eksempel vitamin A, D og E, egner seg godt til denne formuleringen. Ritanovir er et virkestoff som har veldig lav løselighet i vann, og er i dag på markedet som myke gelatinkapsler (Norvir, Abbott) [10]. Lipofile fyllmaterialer består ofte av raffinerte oljer, for eksempel soyaolje, og /eller av triglycerider med middels kjedelengde, for eksempel fiskeolje og selolje.

Hydrofile fyllmaterialer er ofte basert på polyetylenglykoler. Disse formuleringene kan brukes for å løse biotilgjengelighetsproblemer av legemidler med lav løselighet, eller til dosering av lavdose og/eller høypotente legemidler.

Selvemulgerende oljer blir også brukt som fyllmateriale i kapsler. Fyllematerialet består av virkestoff, olje og en eller flere emulgatorer. Etter at kapselen er løst opp, vil det dannes en emulsjon når innholdet kommer i kontakt med vandig medium, som magesaft, og virkestoffet vil raskere kunne tas opp [1,2].

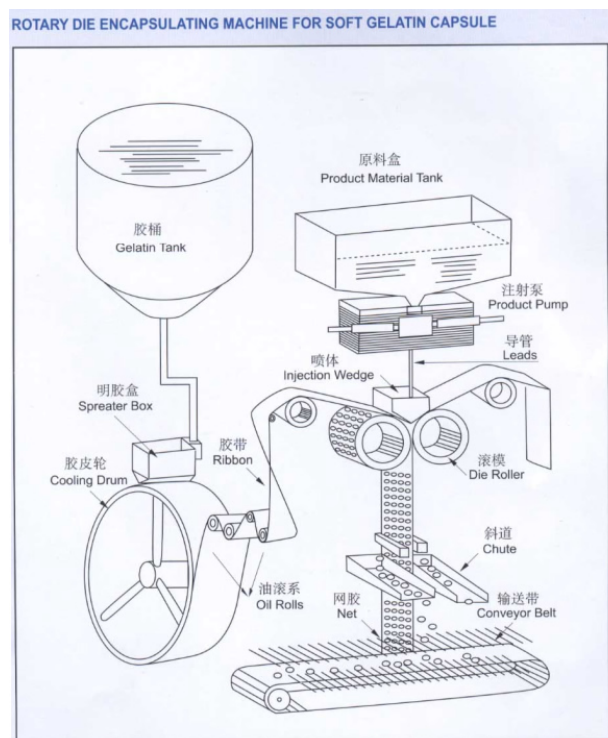
2.4 Framstilling

Myke gelatinkapsler produseres vanligvis ved hjelp av en innkapslingsmaskin med roterende stempel. Kapslene dannes ved at to gelatinfilmmer sveises sammen, samtidig som fyllmateriale doseres inn i hver kapsel i en kontinuerlig prosess. De nylagde kapslene sendes videre til tørking.

Gelatinmassen tillages ved å løse gelatin i vann ved oppvarming til ca 80°C under vakuum, før mykgjører tilsettes. Når gelatinen er helt oppløst, kan andre komponenter tilsettes, som for eksempel farge eller smak [1].

Kapselfyllet tillages separat fra denne prosessen. Hvis fyllmaterialet er en suspensjon, er det viktig at partiklene er mindre enn ca 200 μm for å hindre sedimentasjon [2]. Den optimale forseglings temperaturen for kapslene er 37-40°C, derfor bør fyllmaterialet kunne flyte ved en temperatur på ca 35°C, slik at fyllingen av kapslene blir jevn [9].

Temperaturen til både gelatinmassen og fyllgodset må reguleres slik at forsegling av kapselen blir best mulig. Fylling av kapsel og forsegling må koordineres, slik at det blir riktig dose i hver kapsel. Forseglingsstrykket mellom de to roterende stemplene er også en faktor som må tilpasses [1].



Figur 2.2: Innkapslingsmaskin med roterende stempel (www.sunkingpm.com/pic/PM/Scp/5-3.jpg)

Den flytende gelatinmassen blir plassert over innkapslingsmaskinen (se figur 2.2) og vha. gravitasjonskraften renner den ned til en gelatinspreder som sprer gelatinen ut på en roterende trommel. Her blir den varme gelatinmassen avkjølt, og det dannes en gelatinfilm (basert på en ”sol-gel”-transisjon som beskrevet i kap. 2.2.2). Dette oppsettet finnes i to separate linjer som hver gir opphav til én gelatinfilm, altså hver sin halvdel av gelatinkapselen. De to filmene møtes idet de føres videre til de roterende stemplene. Her blir fyllmaterialet injisert mellom gelatinfilmene fra injeksjonskilen, samtidig som filmene sveises sammen ved hjelp av varme og trykk fra de roterende stemplene. Etter produksjonen gjennomgår kapslene en tørkeprosess. I henhold til litteratur tørkes de først i tørketrommel, deretter på brett i tørketunnel [1]. Tørketrommelen består av en serie med hule, roterende tromler med hull i veggene hvor varm luft ($<35\text{C}^\circ$) pumpes gjennom. Den varme lufta ser ut til å penetrere kapselskallet, slik at skallet tørker fra innsiden og utover. I denne prosessen, som tar 90-180 minutter, fjernes 50-60% av fuktigheten i kapselskallet. Videre tørking kan skje ved at kapslene spres ut på brett i en tørketunnel, som beskrives å ha en temperatur på $21\text{-}24\text{C}^\circ$ og en relativ luftfuktighet på 20-30%. Når fuktigheten til kapslene er kommet i likevekt i dette miljøet, ansees kapslene ferdig tørket. Denne prosessen kan ta fra 2-3 dager og opp til to uker, avhengig av formuleringen til kapselen [9]. Det er mulig å slutføre tørkeprosessen i tromler i stedet for på brett. Resultatene fra en studie i pilotskala gjennomført av Kagabo viste at bruk av tørketrommel kan gi kapsler med samme vanninnhold i kapselskallet etter syv timer som man oppnår etter 14-18 timer med tørking på brett i tunnel [11]. Tørking er derfor et prosessstrinn hvor det er et effektiviseringspotensial.

Etter tørking gjennomgår kapslene en inspeksjon og blir evt. pakket i bulkkonteinere for oppbevaring, før de pakkes i sluttforpakningen (blister eller boks) [8].

2.5 Interaksjon mellom kapselskall og fyllmateriale

Ved produksjon av myke gelatinkapsler må en ta hensyn til mulige interaksjoner mellom kapselskall og fyllmateriale som kan oppstå under produksjonen, tørking og lagring av kapslene. Interaksjonene kan være kjemiske reaksjoner mellom fyllstoffet og gelatin/mykgjørere, eller fysiske interaksjoner, som migrering av fyllkomponenter til kapselskallet og omvendt. Hastigheten og grad av interaksjon mellom kapselskall og

fyllmateriale avhenger av sammensetningen til komponentene. Et lipofilt fyllstoff vil for eksempel ikke interagere med det hydrofile gelatinskallet, hverken under produksjon eller ved lagring. Et hydrofilt fyllmateriale er derimot mer utfordrende å kapsle inn, fordi de kan interagere med skallet. Den mest kritiske perioden for diffusjon mellom skall og fyll er under fremstillingen og tørkingen, fordi da har kapselskallet fortsatt et høyt vanninnhold. I denne perioden kan hydrofile fyllstoffer raskt migrere til skallet, og omvendt, slik at sammensetningen til både skall og fyll blir endret. Ved lagring skjer denne prosessen helt til likevekt er oppnådd. Som et resultat av migreringen kan kapslene bli sprø eller klebrig, og kvaliteten kan bli forringet, enten rett etter produksjon eller ved lagring. Hydrofile og/eller hygroskopiske partikler som er suspendert i en olje kan trekke til seg vann fra skallet, og/eller selv migrere til skallet. For å få en god stabilitet på sluttproduktet er det viktig at komponentene i skall og fyll velges slik at det blir minst mulig migrasjon [2].

2.6 Suspensjoner

I en suspensjon fordeles faste partikler, generelt større enn $1\mu\text{m}$ i diameter [1], av minst en komponent i en flytende, halvfast eller fast fase, for eksempel fin sand suspendert i vann. Partiklene i en suspensjon vil etter en tid sedimentere på grunn av tyngdekraften [12]. Sedimentasjonshastigheten beskrives i Stokes lov:

$$V_s = 2a^2g(\rho_p - \rho_f) / 9\eta \quad (\text{likning 1})$$

hvor

V_s er partiklenes sedimentasjonshastighet (m/s) rett ned hvis $\rho_p > \rho_f$

a er partikkeldiameter (m)

g er tyngdeakselerasjon (m/s^2)

ρ_p er tetthet til partikkel (kg/m^3)

ρ_f er tetthet til væsken (kg/m^3) og

η er viskositeten til væsken ($\text{kg/m}\cdot\text{s}$)

Stokes lov viser at sedimentasjonshastigheten kan reduseres, og dermed få en mer stabil suspensjon, ved å minske partikkelstørrelsen og ved å øke viskositeten til væsken. Tyngdeakselerasjonen er det ikke mulig å påvirke, i likhet med tettheten til væsken og

partikkelen hvis en ikke skal endre på sammensetningen. For å hindre sedimentasjon må energi tilføres, for eksempel ved røring eller risting. Suspensjoner er negative blandinger, i motsetning til oppløsninger, som er positive blandinger og stabil over tid. Negative blandinger kan gå over til nøytrale blandinger, som for eksempel en pasta. Nøytrale blandinger krever energi både ved blanding og ved deblanding, og er dermed stabil over tid [13].

Hvis partiklene i en suspensjon danner svake bindinger til hverandre, ”flokkulering”, og sedimenterer, vil det dannes et lett pakket sediment med stort volum. Fordelen med en slik flokkulering er at sedimentet lett kan ristes opp til en homogen suspensjon igjen. Hvis partiklene ikke er løst bundet til hverandre og sedimenterer langsomt, vil de største partiklene sedimentere først, og de litt mindre vil etter hvert fylle rommet mellom dem. Etter hvert som partiklene sedimenterer, vil de bli pakket hardt sammen og blir vanskelig å riste opp igjen (”caking”) [1].

Et problem som kan oppstå når et fast stoff skal dispergeres i et vandig medium, er at pulveret har en hydrofob overflate og ikke lar seg fukte tilstrekkelig slik at det blir dannet klumper. For å unngå dette, kan en benytte et fuktemiddel for å hjelpe det uløselige stoffet å fordele seg jevnt i væsken. Et fuktemiddel vil virke ved å redusere grenseflatespenningen mellom det tørre stoffet og dispergeringsmediet. Glycerol er et eksempel på et mye brukt fuktemiddel [14].

2.6.1 Suspensjon i myke gelatinkapsler

Myke gelatin kapsler kan som nevnt formuleres som suspensjoner. Et eksempel er omega-3-kapsler som inneholder kalsium. Kalsium tilsettes i form av uløselig kalsiumkarbonat, noe som betyr at fyllmaterialet i kalsiumkapsler må formuleres som en suspensjon. For å maskere suspensjonen og gi kapslene et mer attraktivt utseende, tilsettes ofte det uløselige pigmentet titaniumdioksid til gelatinskallet. Dermed formuleres også kapsleskallet som en suspensjon.



Figur 2.3: Eksempel på myke gelatin kapsler med og uten fargestoff i kapsleskallet. Til venstre kapsel uten tilsatt farge, til høyre kapsel med et hvitt fargestoff i kapsleskallet. Fyllmaterialet er en suspensjon.

På lik linje som for suspensjoner generelt er det viktig at suspensjonene er homogene når de tas i bruk også i fremstilling av kapsler. For fyllmaterialet gjelder det spesielt i det trinnet hvor doseringen til hver kapsel finner sted. Det er viktig for at det skal bli lik mengde virkestoff i hver kapsel. Hvis en øker viskositeten til fyllmaterialet vil suspensjonen bli mer stabil (likning 1), men hvis viskositeten blir for høy, kan den bli vanskelig å overføre fyllmaterialet ved selve innkapslingen. Viskositeten kan for eksempel økes ved å tilsette en viskositetsøkende substans. Andre tiltak for å redusere sedimentasjonshastigheten er å redusere partikkelstørrelsen på de suspenderte partiklene (likning 1), og sørge for mekanisk omrøring i fyllmaterialet før innkapsling. Hvis klumper eller større aggregater av partikler fra fyllmaterialet blir fanget i kapselsømmen under innkapslingen, kan det føre til en svekket søm.

Det er også viktig at titaniumdioksidpartiklene i kapselskallet er jevnt fordelt og danner en stabil suspensjon. Hvis det er klumper, kan dette svekke sømmen under sammensveisingen av de to kapselhalvdelene. For å hindre sedimentasjon er også en liten partikkelstørrelse og kontinuerlig omrøring viktige momenter. Et problem med titaniumdioksid og andre pigmenter eller fargestoffer, er at det er veldig vanskelig å få øye på eventuelle klumper i gelatinmassen, de vil maskeres av det kraftige fargestoffet.

2.6.2 Myke omega-3-kapsler med kalsium

Dette masterprosjektet fokuserer på en formulering hvor det har oppstått et problem; myke omega-3-kapsler med kalsiumkarbonat suspendert i fiskeolje får brune flekker en tid etter produksjon. En hypotese er at flekkene oppstår på grunn av lekkasje av fyllstoff gjennom kapselskallet. Hvis oljen fra kapselen lekker ut og kommer i kontakt med luft, vil den oksideres og resultere i brune, synlig flekker på den hvite overflaten. ProBio/Ayanda har testet to forskjellige gelatinskallformuleringer, og funnet ut at en glycerol-basert formulering fikk flekker 3-4 uker etter produksjon, mens hos en sorbitol-baserte formulering oppstod flekkene etter 3-4 måneder [4]. Innholdsstoffene i fyllgodset og i kapselskallet for de aktuelle formuleringene og stoffenes funksjon i formuleringen er oppsummert i tabell 2.1 og 2.2.

Tabell 2.1: Innholdet i fyllmaterialet og dets funksjon

Fyllmateriale	Funksjon
Fiskeolje (triglycerid 4510)	Virkestoff (kosttilskudd, essensiell fettsyre)
Vitamin D3	Virkestoff (vitamin, fettløselig, blant annet viktig for opptak av kalsium fra tarmen)
DL-alfa-tocoferol (syntetisk form for vitamin E)	Virkestoff (vitamin, fettløselig, antioksidant)
Kalsiumkarbonat	Virkestoff (mineral, løses ikke, blant annet viktig for skjelettet)
Aerosil	Viskositetsøkende (stabiliserer suspensjon)

Tabell 2.2: Innholdet i kapselskallet og dets funksjon

Kapselskall	Funksjon
Gelatin	Kapselskall, film/gel-danner
Glycerol	Mykgjører, fuktemiddel
Sorbitol	Mykgjører, fuktemiddel
Renset vann	Kapselskall (sikrer lav nok viskositet under produksjon, viktig for god fysikalsk stabilitet)
Titaniumdioksid	Hvitt fargestoff (maskerer suspensjonen i fyllgodset)
Peppermynteolje	Lukt (maskerer lukt av fiskeolje)

Det er mange ulike problemer som potensielt kan oppstå ved produksjon av kalsiumkapslene, både fysikalske, kjemiske og prosessrelaterte. Tabell 2.3 oppsummerer mulige problemer og hvilke tiltak som kan løse problemene.

Tabell 2.3: Mulige problemer med kalsiumkapsler, og hvilke tiltak som kan gjøres for å forbedre produktet.

Type problem	Mulige problemer	Mulige tiltak
Fysikalsk, kapselskall	TiO ₂ -aggregater i gelatinblanding, ikke homogen suspensjon	Unngå partikler i søm. Forbedre rutinene når TiO ₂ blandes i gelatin (fukte med mykgjører). Redusere partikkelstørrelse til TiO ₂
	Sorbitol gir "blooming"	Bytte råvare til ikke-krystallisert sorbitol
	Sorbitol gir harde kapsler, frigjør ikke peppermyntelukt	Mer peppermynte, mindre sorbitol. Tilsette lukt etter produksjon. Cyklodekstrin i skall, gir forsinket frigjøring av lukt
Fysikalsk, fyllmateriale	CaCO ₃ -aggregater inkorporert i søm	Bryte opp aggregater av CaCO ₃ . Mer omrøring ved innkapsling, gir mer homogen blanding
Kjemisk, kapselskall	TiO ₂ og lys spalter peptider i gelatin	Bytt fargestoff
Kjemisk, fyllmateriale	Forurensning av Fe i CaCO ₃ kan katalysere oksidasjon av feks fiskeolje Mulighet for "Maillard-reaksjon".	Råvarekvalitet av CaCO ₃ med lavere Fe-innhold. Tilsett EDTA for å binde Fe-ioner.
	CaCO ₃ -aggregater/klumper i søm kan løses i vann i gelatinfilmen, det vil resultere i basisk miljø som kan gi en lokal nedbrytning av gelatin og dermed resultere hull i sømmen. CaCO ₃ +H ₂ O -> Ca ²⁺ +OH ⁻ + HCO ₃ ⁻ .	Forhindre at CaCO ₃ inkorporeres i søm, spesielt kritisk med CaCO ₃ -klumper. Tilsette buffer til gelatinløsningen
	Interaksjon mellom kapselskall og fyll. Mulighet for "Maillard-reaksjon"	Råvarekvalitet av CaCO ₃ med lavere Fe-innhold. Tilsett EDTA til fyll for å binde Fe-ioner.
Produksjon, kapselskall	For store kapsler, misforming	Bytte til mindre kapsler, eks. reduser til 14 oblong
	Ikke homogen TiO ₂ -suspensjon	Fukt TiO ₂ i mykgjører før tilsetning til vann og gelatin. Bland godt. Reduser partikkelstørrelse. .
	Overtørking kan gi sprø film hvor sprekker lettere oppstår	Forbedre tørkerutiner
	Fiskeolje-søl på overflaten, oksideres og gir brune flekker	Vask av kapslene etter produksjon
Produksjon, fyllmateriale	Inhomogen CaCO ₃ -suspensjon	Øke stabilitet til suspensjon. Bland godt under produksjon
	CaCO ₃ -partikler og/eller aggregater	Redusere partikkelstørrelsen, wet-milling

3. Materiale og metode

3.1 Kapselformuleringer

Kapslene som ble undersøkt i denne studien var oblonge av form og av størrelse 16, med enkelte unntak hvor størrelsen var 14 eller 11 (detaljer i tabell 3.3). Sammensetningen av kapselskall varierte med hensyn til mykgjørertype, men ellers var formuleringen lik for gelatinskall og fyllmaterialet. En kapselbatch ble studert både med og uten pigment i gelatinskallet. Detaljert informasjon om sammensetning av fyllmaterialet finnes i tabell 3.1, sammensetning av kapselskall i tabell 3.2 og en oversikt over de ulike batchene som inngår i studien i tabell 3.3.

Tabell 3.1: Sammensetningen til fyllmaterialet (16 oblong)

Fyllmateriale	Mengde (mg/kapsel)
Fiskeolje (triglycerid 4510)	333,3
Vitamin D3	0,10
DL-alfa-tocoferol (syntetisk form for vitamin E)	13,45
Kalsiumkarbonat	541,7
Aerosil	12,0

Tabell 3.2: Sammensetningen til kapselskallet (16 oblong)

Kapselskall	Mengde (% w/w av våt masse)
Gelatin	43,4
Glycerol	7,07*
Sorbitol	15,1*
Renset vann	32,6
Titaniumdioksid	0,805
Peppermynteolje	1,046

*Blanding av sorbitol og glycerol (40:60) som mykgjører

Tabell 3.3: Oversikt over studerte myke omega-3 kapsler med kalsium (oblong, str 16)

Kapsel	Batch nr	Prod. dato	# uker etter prod. ved teststart. (dvs.uke 45 2008)	Mykgjører	Annet
A	03208	06.02.08	40	Sorbitol	
H	01308	28.01.08	41	Sorbitol	
B	39307	21.12.07	46	Sorbitol	
D	18008	02.06.08	22	Glycerol/sorbitol*	Retained sample
C	11408	10.04.08	30	Glycerol/sorbitol*	
G	05508	27.02.08	37	Glycerol/sorbitol*	
F	01208	28.01.08	41	Glycerol/sorbitol*	
E	02007	18.01.07	91	Glycerol	Str. 14
Ia		06.02.09	**	Glycerol/sorbitol ***	Str. 11
Ib		06.02.09	**	Glycerol/sorbitol ***	Str. 11 u/ TiO ₂
Ic		06.02.09	**	Glycerol/sorbitol ***	Str. 14
Id		06.02.09	**	Glycerol/sorbitol ***	Str. 14 u/TiO ₂

* forhold mellom glycerol:sorbitol er 40:60.

** teststart i uke 13, 2009 dvs. 7 uker etter produksjon.

*** forhold mellom glycerol:sorbitol er 53:10

3.2 Kjemikalier

Tabell 3.4: Oversikt over kjemikalier

Kjemikalie	Kvalitet	Merke	Leverandør
Isopropanol	Vann- og fettfri	Prima	Arcus, Norge
Combimethanol	Dehydrert $\leq 0,01$ H ₂ O	Apura	Merck, Tyskland
Combititrant 5	Effekt $\geq 5,0$ mg H ₂ O/ml	Apura	Merck, Tyskland
Combititrant 1	Effekt $\geq 1,0$ mg H ₂ O/ml	Apura	Merck, Tyskland
Formamid	Dehydrert $\leq 0,1$ H ₂ O		Fluka, Tyskland

3.3 Utstyr

Tabell 3.5: Oversikt over utstyr

Utstyr	Modell/type	Leverandør
Texture Analyser	TA.XT pluss	Stable Microsystems, UK
Karl Fisher Titrator	784 KFP Titrino	Metholm, Sveits
Analysevekt	BP211D	Sartorius, UK
Varmeskap	Memmert, UM100	Schwabach FRG, Tyskland
Termometer		VWR International AS, Oslo
Mikroskop	Motic SMZ-168	Motic Incorporation LTD
Elektronmikroskop	JSM 6300-SEM	Japan Electronic Optics Lab. Japan*
Prøveflasker	Hetteglass	NMD, Norge
Forseglingskork	Gummipropp og metallhette	Apotekproduksjon AS, Norge
Sprøyte	1, 2, 5, 10, 20 ml	Becton Dickinson, Irland
Sprøytespiss	1 mm x 40 mm	Becton Dickinson, Irland
Petriskåler	90 mm og 45 mm i diameter	VWR International AS, Oslo
Varmeplate	RCT basic	IKA Werke, Tyskland
Vortex	G560E	Scientific Industries, USA
Mikrometer	IP54	Wolpert Europe, Nederland
Grindometer		Wepa Apothekenbedart, Tyskland

* utført av elektronmikroskopilaben ved MedFak, UiT

3.4 Karakterisering av kapsler

3.4.1 Makroskopisk test

De forskjellige batchene ble studert og beskrevet visuelt med tanke på utseende (brune flekker, søm og form) og lukt.

3.4.2 Mikroskopering

En utvalgt kapselbatch (D, Retained sample, med kombinasjonen av glycerol og sorbitol 40:60 som mykgjører) ble delt, tømt for fyllmateriale, vasket med isopropanol og tørket. Kapselen ble deretter studert under mikroskop. Det ble tatt bilder av noen representative kapselprøver.

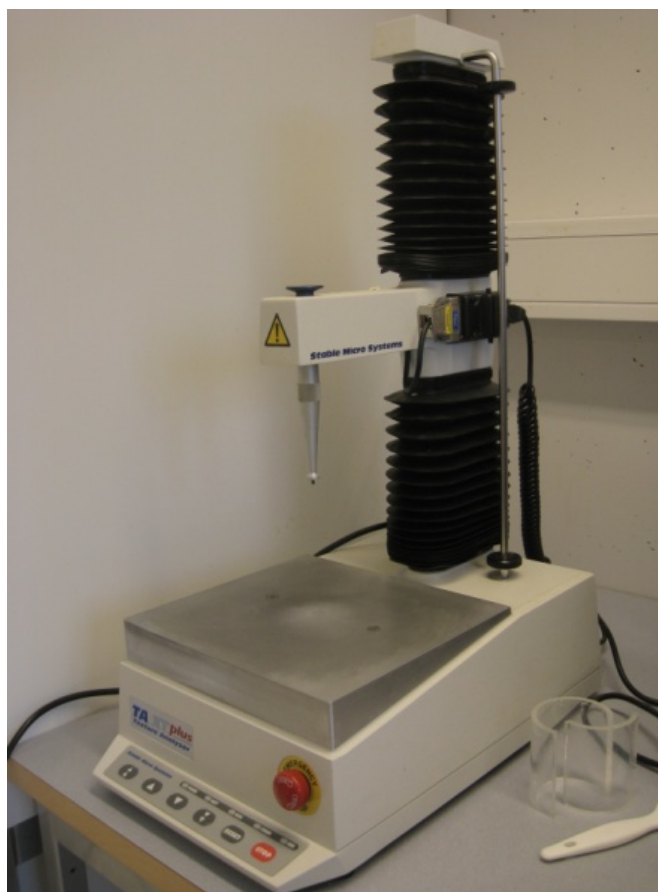
3.4.3 Elektronmikroskopering (SEM)

Prøvene ble preparert og analysert ved elektronmikroskopilaben ved UiT.

Det ble tatt elektronmikroskopbilder av samme kapselprøve som ble mikroskopert på vanlig måte i lysmikroskop (D, Retained sample, med glycerol og sorbitol som mykgjører). Det ble tatt bilde av en hel kapsel som hadde brune flekker på utsida, en bit av utsida, en bit av innsida, og en del av innsida som viste sømmen i kapselveggen.

3.4.4 Mekaniske egenskaper

Film- og sømstyrke til kapslene, distansen fra toppen av kapselen til brist i søm, eller til penetrering, samt styrken (kraft ved brudd og evt flytgrense) og elastisiteten til de frie gelatinfilmene ble målt ved hjelp av en teksturmåler (Texture Analyser, TA.XT pluss, Stable Microsystems, UK). Standard testprogram fra leverandøren ble brukt og tilpasset prosjektet. Forskjellige prober og oppsett ble brukt for måling av film- og søm-styke av kapslene, begge testene var komprimeringstester. For testing av frie filmer ble en strekktest benyttet.



Figur 3.2: Texture Analyser, TA.XT pluss, Stable Microsystems, UK

3.4.4.1 Filmstyrke hos kapsler

Filmstyrken ble målt for å teste hvor stor belastning kapselskallet tåler før en definert probe går gjennom filmen (Se figur 3.3). Før testen ble kapselen festet med dobbeltsidig tape slik at sømmen var 90 grader i forhold til retningen på proben. Den maksimale kraften ble målt idet proben (2mm i diameter) penetrerte kapselfilmen. Distansen fra dette punktet, til toppen av kapselen ble målt, og gir et bilde på elastisiteten til kapselfilmen. Det ble gjort 10 paralleller for hver kapseltype i hver test. Gjennomsnitt og standardavvik for kraft (kg) og distanse (mm) ble beregnet.

Følgende innstillinger ble brukt ved måling av filmstyrke:

Mode: Mål kraft ved kompresjon

Option: Returner til start

Pre-Test Speed: 1.0 mm/s

Test Speed: 2.0 mm/s

Post-Test Speed: 10.0 mm/s

Distance: 8 mm *) Justert noen ganger

Trigger Type: Auto – 5 kg

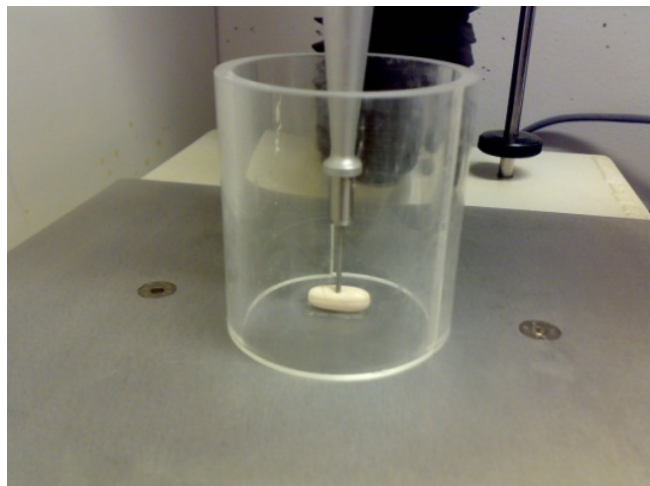
Trigger Force: 5 g

Tare Mode: Auto

Data Acquisition Rate: 400 pps

Probe: 2 mm Cylinder Probe (P/2)

Load cell: 50 kg



Figur 3.3: Bilde av kapsel og probe under måling av filmstyrke (penetreringstest)

3.4.4.2 Sømstyrke hos kapsler

Sømstyrken ble målt på samme måte som filmstyrken, bortsett fra at det ble brukt en probe med større diameter som dekket hele kapselen og testen ble gjennomført inntil sømmen sprakk. Den benyttede proben var 35 mm i diameter (Se figur 3.4). Sømmen er vanligvis det svakeste punktet på kapselen. Den maksimale kraften ble målt idet sømmen sprakk. Distansen fra dette punktet, til toppen av kapselen ble målt, og gir et bilde på elastisiteten til kapselen. Det ble gjort 10 paralleller for hver kapseltype. Gjennomsnitt og standardavvik for kraft (kg) og distanse (mm) ble beregnet.

Følgende innstillinger ble brukt ved måling av sømstyrke:

Mode: Mål kraft ved kompresjon

Option: Returner til start

Pre-Test Speed: 1.0 mm/s

Test Speed: 2.0 mm/s

Post-Test Speed: 10.0 mm/s

Distance: 8 mm *) Justert noen ganger

Trigger Type: Auto – 5 kg

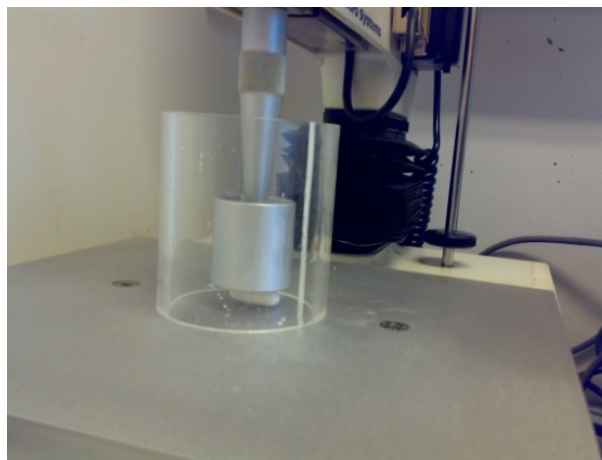
Trigger Force: 5 g

Tare Mode: Auto

Data Acquisition Rate: 400 pps

Probe: 35 mm Cylinder Probe (P/35)

Load cell: 50 kg



Figur 3.4: Bilde av kapsel og probe under måling av sømstyrke (sprekktest)

3.4.5 Partikkelstørrelse i suspensjonene

Det ble gjort forenklete forsøk på å måle partikkelstørrelsen ved hjelp av et grindometer. Dette er et instrument som brukes til kontroll av partikkelstørrelse i halvfast suspensjoner (se fig 3.5).

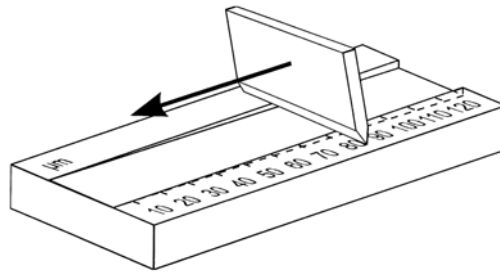


Fig 3.5: Grindometer (Illustrasjonen er hentet fra M. Bultmann, Grundlagen der Arzneiformlehre, J.M.B Verlag, 2003).

Grindometeret virker ved at en stryker ut den halvfast suspensjonen på metallplaten med furer i. Furene blir mindre og mindre, og der hvor en kan se de siste partiklene, kan en lese av størrelsen på skalaen på siden (se figuren for eksempel). Denne partikkelstørrelsemåleren blir blant annet brukt for å måle størrelsen på partiklene i salver.

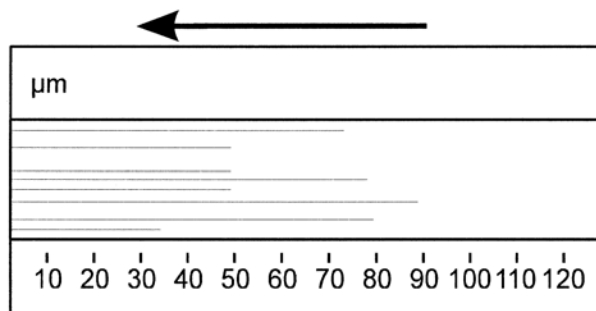


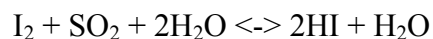
Fig 3.6: Avlesning av partikkelstørrelse vha et grindometer: Eks viser 1 partikkel er 90 µm, 2 stk 80 µm, 1 stk 75 µm, 3 stk 50 µm og 1 partikkel 35 µm. (Illustrasjonen er hentet fra M. Bultmann, Grundlagen der Arzneiformlehre, J.M.B Verlag, 2003)

Kapselskallet er en suspensjon med titandioksid dispergert i gelatinblandingen. Før og under produksjon av kapslene er suspensjonen flytende, mens den omdannes til en fast suspensjon ved avkjøling når geldannelse finner sted. Det ble forsøkt å teste størrelsen på titandioksidpartiklene på en oppløst gelatinkapsel. Kapselen ble delt, tømt for fyllmateriale og vasket med isopropanol. Deretter ble kapslene overført til et reagensrør som ble varmet i vann, slik at gelatinen smeltet. Den flytende massen ble strøket ut. For å forhindre rask avkjøling og gelling av gelatinen ble grindometeret forvarmet i varmt vann.

Fyllmaterialet i kapslene er en suspensjon med partikler av kalsiumkarbonat i olje. Partikkelstørrelsen ble forsøkt målt ved å dele kapselen, ta ut en del av fyllstoffet og stryke det ut.

3.4.6 Vannbestemmelse ved Karl Fisher-titrering

For å bestemme vanninnholdet i kapselskallet skulle Karl Fisher-titrering benyttes. Dette er en volumetrisk analysemetode, som utnytter at jod reagerer kvantitativt og selektivt med vann. Titreringen er basert på oksidering av svoveldioksid i nærvær av vann:



Titranter som brukes, Combititrant 5, inneholder SO_2 , I_2 og en base i samme løsning. Som løsemiddel i titreringen blir det brukt dehydrert methanol (Combimethanol, Merck, Tyskland). Dehydrert methanol forhindrer konkurrerende reaksjoner, og nøyaktigheten vil dermed opprettholdes når vanninnholdet skal bestemmes [15].



Kapslene ble delt, tømt for fyllmateriale, vasket med isopropanol, tørket og veid. Deretter ble kapslene overført til hver sitt hetteglass, og formamid (10 ml, nøyaktig innveid) ble tilsatt. Hetteglassene ble forseglet, plassert i varmeskap (105 grader, ca 2 timer) og ristet ved hjelp av vortex til kapselskallet var helt oppløst. Prøven ble avkjølt til 50 grader. Det ble gjort tre paralleller for hver batch.

Titerverdi ble bestemt ved å titrere destillert vann (0,1 g, nøyaktig innveid) mot Combititrant 5 (Effekt $\geq 5,0$ mg H₂O/ml). Combimethanol ble brukt som løsemiddel. Det ble gjort tre paralleller.

Fordi formamid inneholder litt vann, ble "blindverdien" bestemt, som skulle trekkes fra når reelt vanninnhold i kapselen beregnes. Formamid (2 ml, nøyaktig innveid) ble titrert mot Combititrant 5.

Utregninger:

- I. Blindverdi (Vanninnhold formamid): $\text{titrerforbruk (ml)} \times \text{titerverdi (mg/ml)} / \text{Innveid formamid (g)}$
- II. Vanninnhold prøve: $\text{titrerforbruk (ml)} \times \text{titerverdi (mg/ml)} / \text{innveid prøveløsning (g)}$
- III. Vanninnhold kapsel (mg): $(\text{II}(\text{IV}+\text{V})) - (\text{I} \times \text{V})$
- IV. Kapselvekt (g)
- V. Mengde formamid brukt til å løse opp kapsel (g)

Vanninnhold kapsel (%): $\text{III (mg)} \times 100 \% / \text{IV} \times 1000 \text{ (mg)}$

3.5 Fremstilling og karakterisering av frie gelatinfilmer

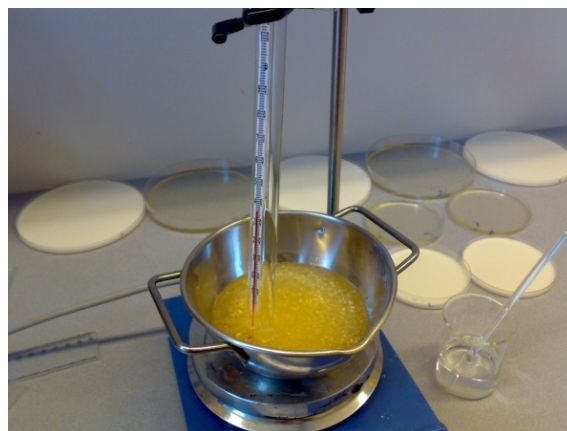
3.5.1 Fremstilling av frie gelatinfilmer

Frie gelatinfilmer ble fremstilt ved å varme gelatin og vann i stålskål under omrøring (ca 75 grader). Fargestoffet ble fuktet med mykgjørere(e) og tilsatt litt vann (ca 40 ml), før det ble blandet med den varme gelatinmassen. Den ferdige blandingen ble trukket opp i sprøyter (20 ml) og overført til petriskåler. Filmene ble tørket ved romtemperatur til dagen etter. Sammensetningen til de ulike gelatinblandingene er vist i tabell 3.8 (Sammensetning fra ProBio/Ayanda).

Tabell 3.8: Tabellen viser sammensetningen til de forskjellige frie filmene som ble laget.

Filmtype	Gelatin (g)	Glycerol (g)	Sorbitol (g)	TiO ₂ (g)	Vann (g)
Glycerol	21,7	11,1		0,4	150
Glycerol u/farge	21,7	11,1			150
Sorbitol	21,7		11,1	0,4	150
Sorbitol u/farge	21,7		11,1		150
Glycerol/sorbitol *	21,7	3,5	7,6	0,4	150
Glycerol/sorbitol * u/farge	21,7	3,5	7,6		150

*forhold 40:60



Figur 3.7: Produksjon av frie filmer.

Definerte rektangler (1,0 cm x 5,0 cm) av den frie filmen ble skåret ut og til måling av filmstyrken og elastisiteten. Filmene var da lette å skjære i, men geleaktige, så de ble tørket tre dager til. Da var prøvene blitt tørre, men litt ujevne i kantene. Bredden og tykkelsen på filmene ble målt ved hjelp av et mikrometer. Denne metoden ble allikevel valgt for å forhindre skader i skjæreflaten i kanten for de mest sprø filmene. Skader i i kanten vil resultere i svakheter og premature brudd i den mekaniske testen.



Figur 3.8: De frie filmene blir skåret ut.

3.5.2 Mekanisk styrke og elastisitet til frie gelatinfilmer

Styrken og elastisiteten på frie gelatinfilmer ble testet ved hjelp av teksturmålinger, hvor festeklemmer ble montert på vektarmen og i bunnplaten på teksturmåleren (TA) som vist i figur 3.9.

Teksturmålingene ble utført ved å feste begge endene av filmen i festeklemmene. Et definert areal av fri film var eksponert ved start av testen. Filmene ble strukket med konstant hastighet til de ble delt i to (Se figur 3.9). Endring i distansen når filmene ble strukket, sier noe om hvor elastiske de er, kraften noe om hvor sterk filmen er. Kraften (kg) ble målt, og den maksimale styrken til filmene ble beregnet. Det ble gjort 5 paralleller på hver filmtyp (hver sammensetning ihht tabell 3.8). Gjennomsnitt og standardavvik for kraft (kg) og distanse (mm) ble beregnet.

Følgende innstillinger ble brukt ved strekktest til de frie filmene:

Test Mode: Tension

Pre-Test Speed: 0.0 mm/s

Test Speed: 0.25 mm/s

Post-Test Speed: 10.0 mm/s

Target mode: Force

Force: 50000 g

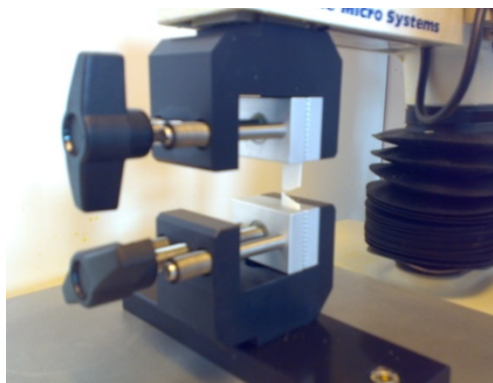
Trigger Type: Auto (force)

Trigger Force: 5.0 g

Break mode: off

Stop plot at: trigger return

Tare mode: Auto



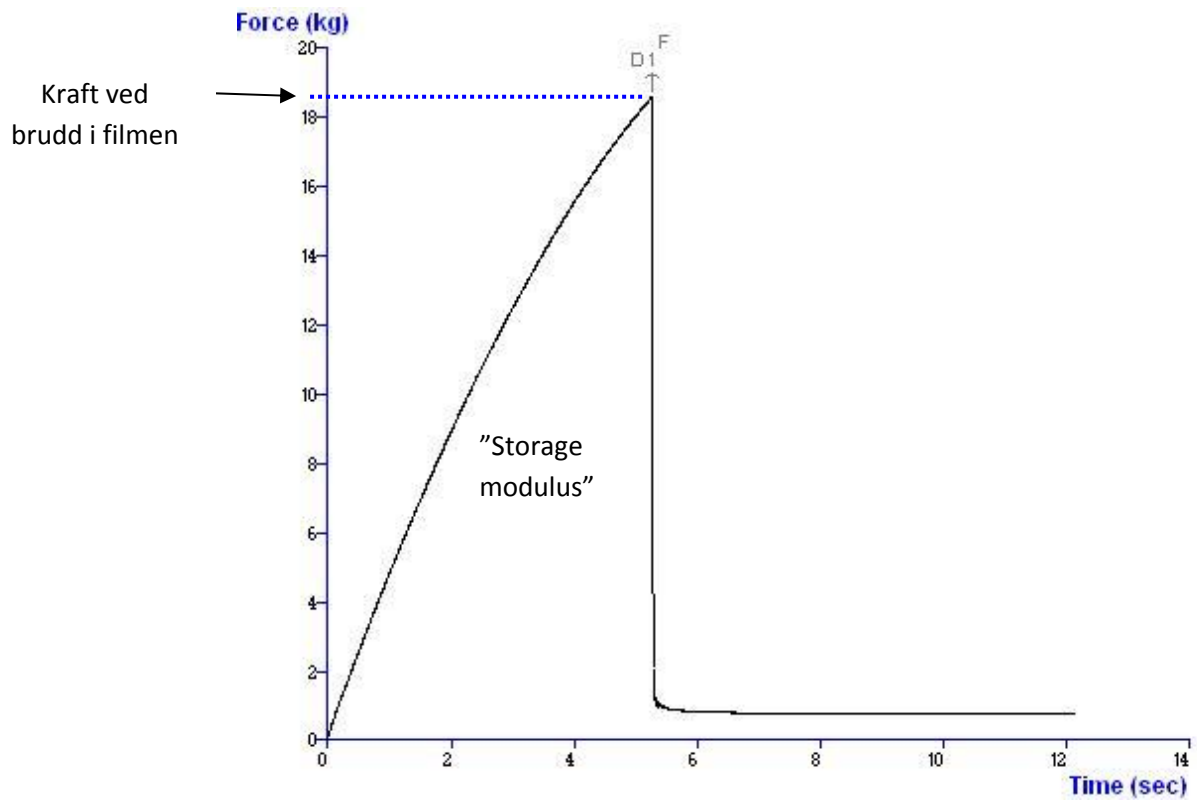
Figur 3.9: Måling av styrke og elastisitet av frie filmer

Styrken til filmene ble beregnet som ”tensile strength” etter følgende formel [16]:

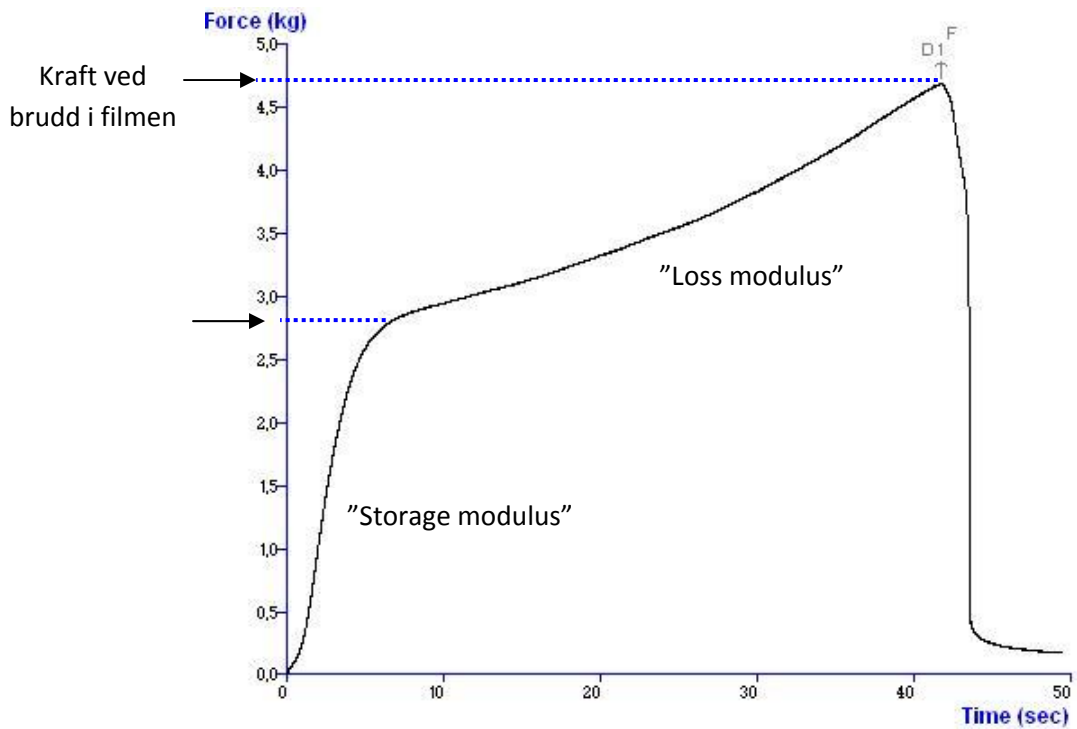
$$\text{Styrke (Kg/mm}^2\text{)} = \text{Kraft (Kg)} / \text{Areal (mm}^2\text{)} \quad (\text{likning 1})$$

Figur 3.10-13 viser hvordan kraften ble målt for de ulike profilene. Den første delen av kurvene viser den elastiske deformasjonen, og kalles ”storage modulus”. Denne delen av deformasjonen er reversibel. Hos enkelte formuleringer oppstår brudd ved denne kraften (figur 3.10). I andre formuleringer flater kraften ut og når et platå før bruddet kommer (figur 3.11 og figur 3.12). I disse formuleringene viser platået kraften ved en flytgrense, mens kraften ved bruddet bestemmes der bruddet kommer. Den deformasjonen som oppstår etter flytgrensen er

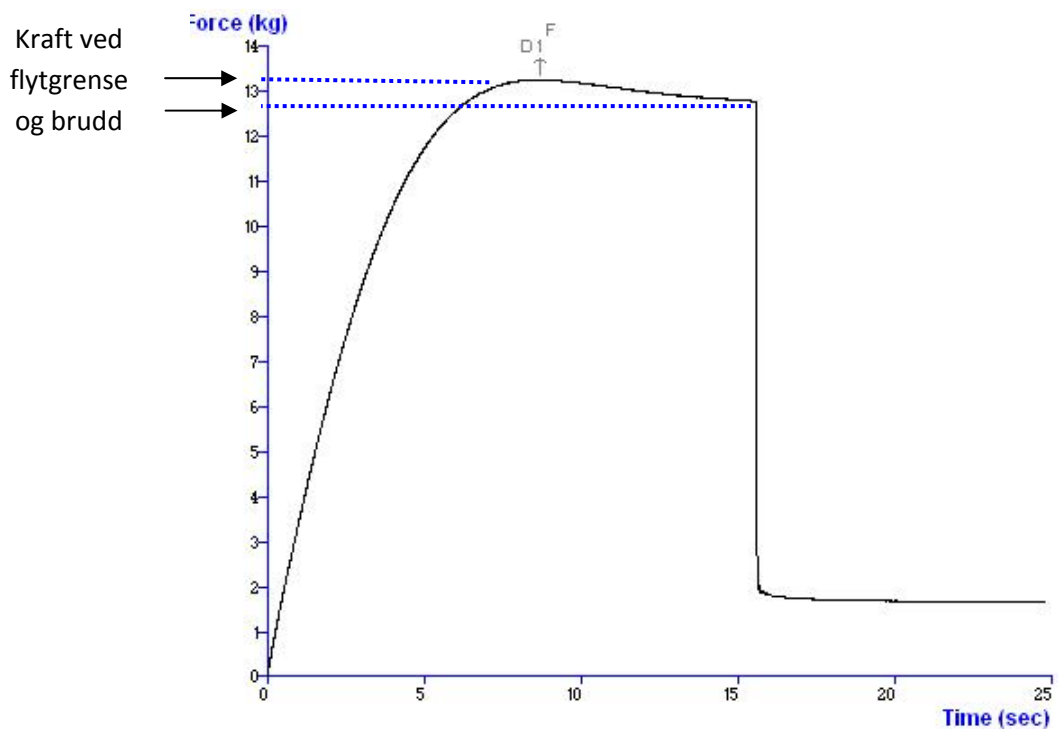
nådd, er en ikke-reversibel deformasjon. Her skjer det en plastisk deformasjon som også beskrives som "loss modulus" [16, 17].



Figur 3.10: Typisk strekk-kurve for elastisk deformasjon. Toppen identifiserer kraften når filmen ryker.



Figur 3.11: Typisk strekk-kurve for plastisk og elastisk deformasjon..



Figur 3.12: Alternativ strekk-kurve for plastisk og elastisk defomasjon

3.6 Forsøksoppsett

3.6.1 Karakterisering av problembatcher

De første undersøkelse ble gjennomført med kapsler som var produsert for flere måneder tidligere. Teststart varierte fra 22 til 91 uker etter produksjonsdato. Kapslene ble sortert i 3 grupper etter type og innhold av mykgjører.

- Glycerolbaserte kapsler: E (ihht. tabell 3.3)
- Sorbitolbaserte kapsler: A, B og H (ihht. tabell 3.3)
- Glycerol/Sorbitol kapsler: C, D, F og G (ihht. tabell 3.3)

Innen hver gruppe ble prøveuttak organisert slik at det var mulig å foreta en relativ evaluering av innflytelse av lagringstid. Tabell 3.6 viser testuttak og hvordan de ulike batchene ble satt inn i en tidsakse.

Tabell 3.6: Oversikt over hvilke batcher som ble testet ved de ulike prøvetidene.

Uke (2008/2009)	Kapsel
45	A, B, C, D
47	F
48	A, B, F, G
4	F, E
6	H
9	C, H
11	G

Tabell 3.7: Antall uker etter produksjon ved testing av kapslene

# uker etter produksjon ved test	Sorbitol	Sorbitol/glycerol	Glycerol
22		D	
30		C	
40	A	G	
43	A	F	
46	B	C	
49	B		
52	H	F	
55	H	G	
91			E
102			E

For å karakterisere kapslene, ble vanninnhold til kapselskallet bestemt, de mekaniske egenskapene ble testet (film- og sømstyrke), og kapslene ble studert makroskopisk (form, utseende, lukt) og under mikroskop. Det ble også tatt bilder av utvalgte kapsler med et digitalkamera og ved hjelp av elektronmikroskopi. Partikkelstørrelsen for faststoffpartikler både i kapselskall og kapselfyll ble målt.

3.6.2. Sammenlikning av egenskaper hos frie filmer

For å studere effekten av de ulike innholdsstoffene i kapselskallet, ble frie gelatinfiler framstilt med de samme hjelpestoffene som inngår i kapselformuleringene. De frie filmene ble karakterisert med hensyn på mekaniske egenskaper, dvs filmstyrke og elastisitet.

3.6.3 Karakterisering av nyproduserte kapsler etter prosessoptimalisering

Før denne batchen ble produsert var enkelt tiltak satt i verk mht. optimalisering av produksjonsparametere. Ved produksjon av kapselskallet ble titaniumdioksiden fuktet med mykgjørere før det ble blandet inn i gelatinmassen. Dette ble gjort for å forhindre klumper av TiO_2 i gelatinfilmene. I tillegg ble massen kjørt gjennom et malningstrinn (wet milling) for å bedre kontroll på partikkelstørrelsen og kvitte seg med klumper. Kalsiumkarbonatråvaren ble byttet til en kvalitet med et lavere innhold av jern (reduert fra maks 200 ppm til maks 10 ppm). Kapselstørrelsen ble redusert fra 16 oblong til 14 og 11 oblong. Forholdet mellom mykgjørerne ble endret, slik at det ble en større andel glycerol enn sorbitol (fra 40:60 til 53:10).

Den nyproduserte kapselformuleringa ble studert i fire utgaver: standard med TiO_2 i skallet (Ia og Ic, tabell 3.3) og sammenliknet med samme formulering uten farge i skallet (Ib og Id, tabell 3.3.). To ulike størrelser ble sammenliknet: 14 oblong (Ia og Ib) og 11 oblong (Ic og Id). For disse ble det foretatt to målinger, med 4 uker mellom; 7 og 11 antall uker etter produksjon. Kapslene ble kun testet med hensyn til mekaniske egenskaper (film og sømstyrke).

4 Resultat og diskusjon

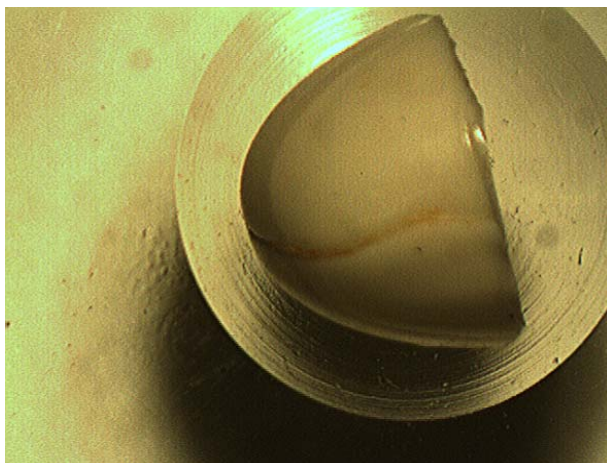
4.1 Nærmere undersøkelse av brune flekker på gelatinkapslene

Figur 4.1 viser et eksempel på utseende til kapsler med mye brune flekker. Forekomst av flekker og diskusjon av årsak og konsekvens kommer i påfølgende kapitler. Som det fremgår av figuren forekommer flekkene tilfeldig fordelt over hele kapselen. Misfarging kan også identifiseres som en farget linje i kapselens søm.

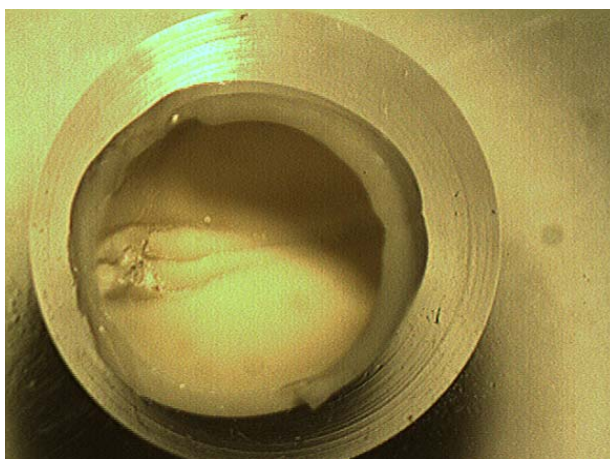


Figur 4.1: Kapsler med brune flekker (Batch D, med glycerol og sorbitol som mykgjørere).

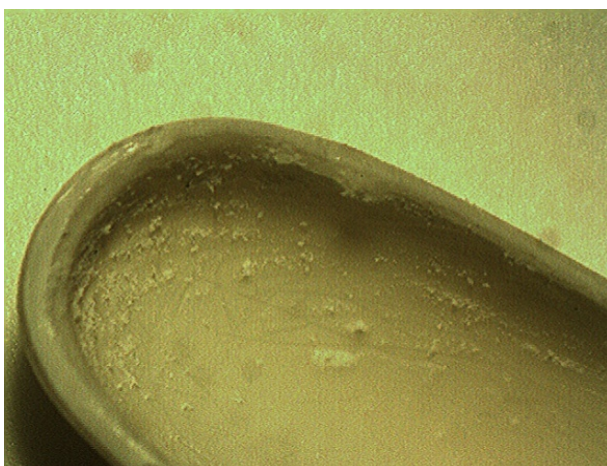
For å få et bedre innblikk i flekkenes natur ble kapslene undersøkt under mikroskop og ved hjelp av elektronmikroskopi for å se nærmere på detaljer. Figur 4.2-4.4 viser bilder av en delt kapsel med flekker og misfarget søm. Kapslene ble først tømt for innhold (kalsiumkarbonat suspendert i fiskeolje) og vasket med isopropanol. Etter tømning og vasking ble det fremdeles observert hvite flekker på innsiden av kapslene. Det så ut som pulver, og kan da enten være kalsiumkarbonat fra fyllmaterialet eller titaniumoksid fra kapselskallet. En kapsel ble delt på tvers, slik at sømmen kunne studeres (Figur 4.2 og 4.3). Sømmen var klumpete på innsida, og hadde en del hvite flekker. På samme plass på utsida av kapselen var det gulbrune flekker og sømmen var misfarget (figur 4.2). Kapselen hadde brune flekker utenom sømmen også, men her ble det ikke observert korresponderende hvite flekker på innsida. I kapselen som ble delt langs sømmen, kunne hvitt pulver observeres på innsida av kapselveggen (figur 4.4).



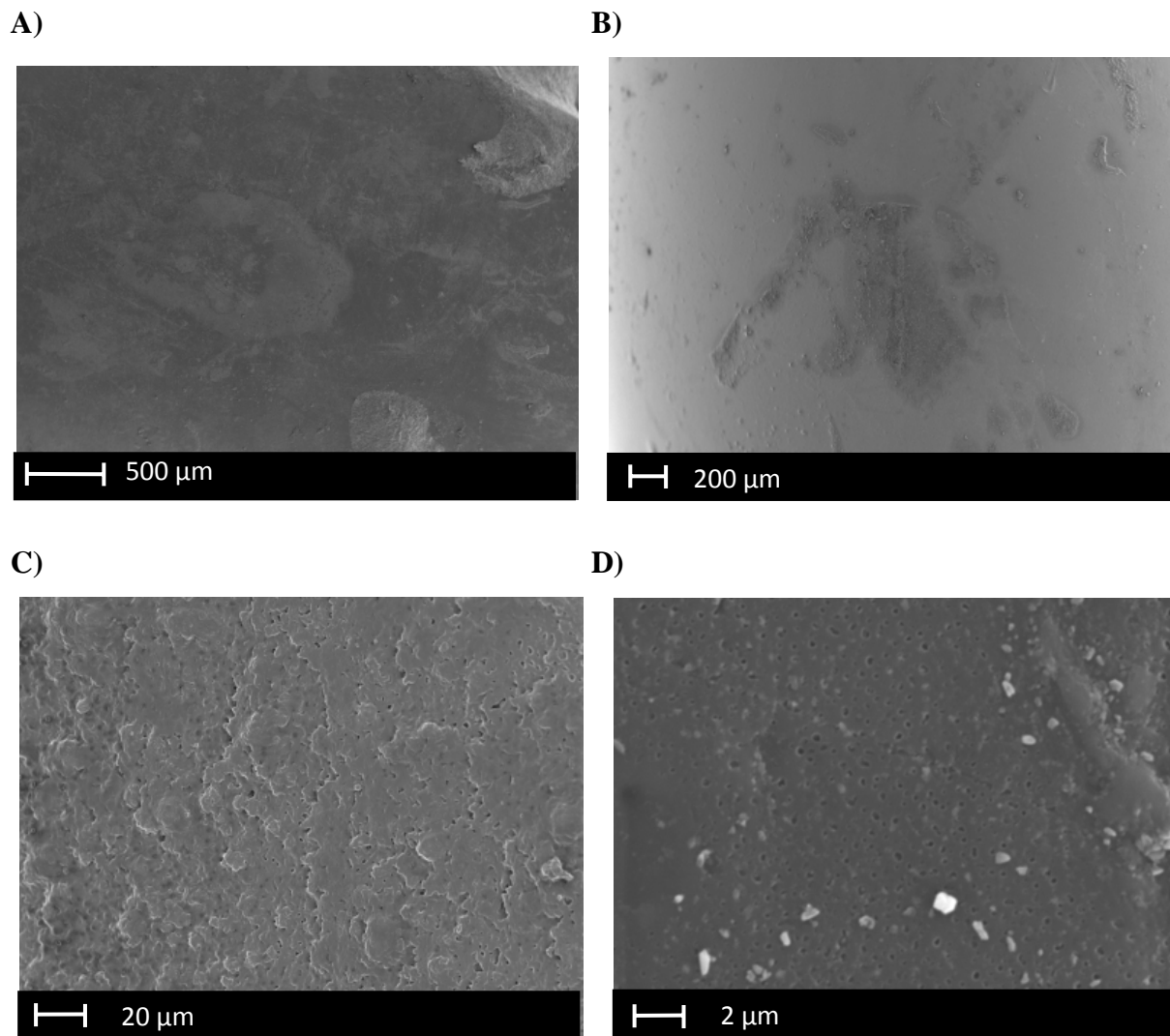
Figur 4.2 Sømmen av en kapsel sett fra utsiden.



Figur 4.3: Sømmen av en kapsel sett fra innsida.



Figur 4.4: Innsiden av en kapsel som er delt langs sømmen.



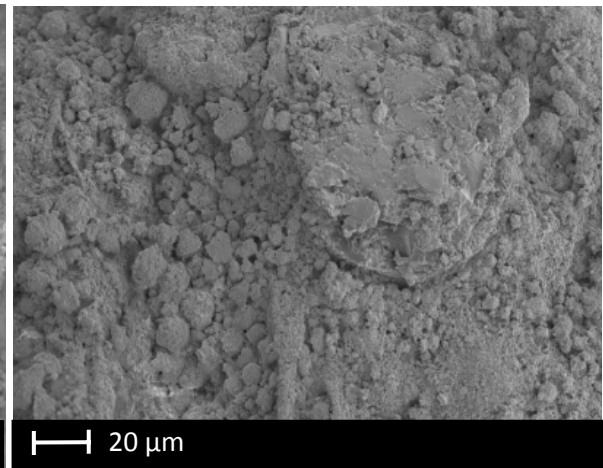
Figur 4.5: SEM: Utsnitt av kapseloverflate med en brun flekk, fra utsida. Bildene viser det brune området i økende forstørrelse fra A (x37), B (x33), C (x500) og D (x5000).

Figur 4.5 viser elektronmikroskopbilder av utsnitt av kapseloverflaten på utsida til to forskjellige kapsler med brune flekker (D, glycerol og sorbitol som mykgjørere). Det ser ut til at flekkene er overflatefenomener. Når man går nærmere inn på dem ser man små porer, mye mindre enn $2\ \mu\text{m}$, på kapseloverflata (fig 4.5D). Porene er veldig små, og det er tvilsomt at disse kan gå helt gjennom kapselskallet og være årsak til at olje lekker ut. Bildene som ble tatt med lysmikroskop (fig. 4.2-4.4) viser en relativt tykk kapselvegg. Tykkelse av kapselfilm og kapselsømmen ble estimert til å være i størrelsesorden $150 - 400\ \mu\text{m}$ for oblonge kapsler i en tidligere masteroppgave [18]. Med utgangspunkt i at de studerte kapslene trolig har en tykkelse i omtrent samme størrelsesområdet, kan man konkludere med at kapselveggen er meget tykk i forhold til porene som en kan se med elektronmikroskop.

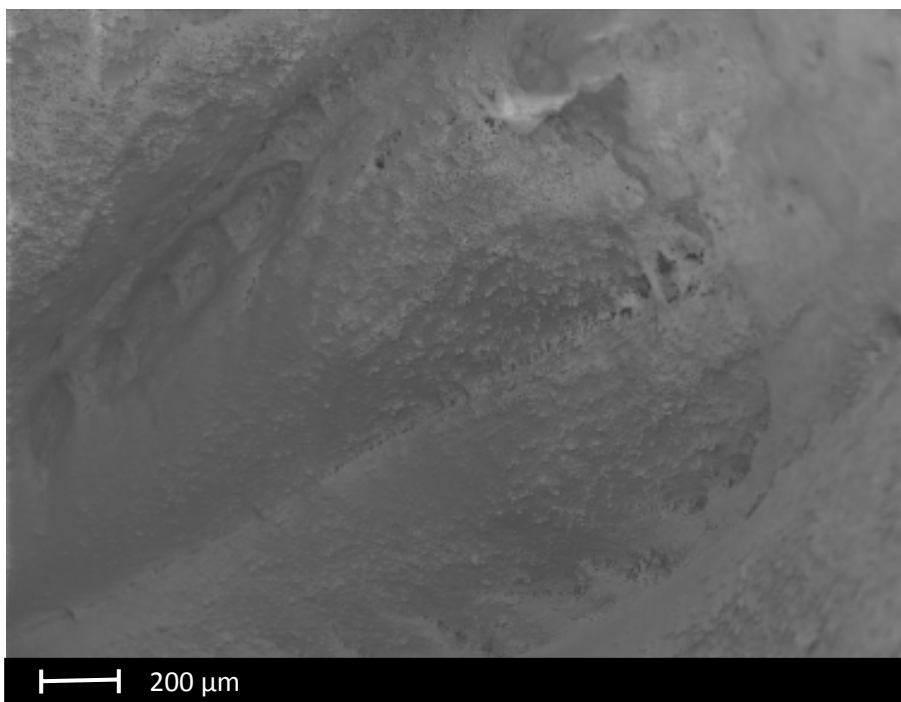
A)



B)



Figur 4.6: SEM: Innsida til kapselskall med hvitt pulver. Bildet til høyre, B (x550), er mer forstørret i området med pulver enn A (x120).



Figur 4.7: SEM: Utsnitt av kapselsømmen sett fra innsida av en kapsel som er delt på tvers (x50). Dette er samme kapselprøve som ble tatt bilde av i lysmikroskop (figur 4.2 og 4.3).

Figur 4.6 og 4.7 viser elektronmikroskopi bilder av innsida til to forskjellige kapsler med brune flekker (Kapsel D, Retained sample, glycerol og sorbitol som mykgjørere). På bildene

ser det ut som om det hvite er pulver, og ikke rester etter olje, som sitter på innsiden avkapselveggen. Da kan det være to muligheter, enten at pulveret er kalsiumkarbonat fra fyllmaterialet eller det er titaniumdioksid fra kapselskallet. I figur 4.6A ser det ut til at pulveret er inkorporert i gelatinskallet. Det er vanskelig å trekke noen sikre konklusjoner ut fra bildene, men det kan tyde på at pulveret stammer fra gelatinmassen og er titaniumoksid og ikke kalsiumrester. Det kan ikke utelukkes at kalsiumkarbonataggregater har blitt fanget i sømmen under innkapslingsprosessen som et resultat av at suspensjonen inneholdt klumper.

Dersom det er kalsiumkarbonatklumper som er inkorporert i sømmen i gelatinskallet representerer det en fare for poredannelse, spesielt dersom det er vann tilstedet. Kalsiumkarbonat løser seg lett i vann, og gir en alkalisk løsning. Det er kjent at en 10 % kalsiumkarbonatoppløsning i vann har pH rundt 9 [5]. Den basiske pH-en kan bryte ned gelatinfilmstrukturen ved alkalisk hydrolyse. Dette vil føre til svekkelse av kapselskallet. I verst tenkelig tilfellet vil en inkorporert klump av kalsiumkarbonat i sømmen kunne løse seg i vann og gi en lokal nedbryting av gelatinfilmen. Dette kan gi en gjennomgående pore eller en kanal hvor fiskeolje fra fyllmateriale kan lekke ut. Spesielt før og under tørking eller evt. ved lagring med høy luftfuktighet vil det være mulighet for en interaksjon mellom vann i kapselskallet og slike kalsiumkarbonatklumper fra fyllstoffet som er i nærkontakt med gelatinfilmen. Det er imidlertid mulig at eventuelle kanaler eller gjennomgående porer som olje har lekket ut av, er blitt ”limt igjen” pga oljens evne til å polymerisere [5].

4.2 Karakterisering av problemformuleringer

4.2.1 Effekt av mykgjørere og innvirkning på formuleringen

4.2.1.1 Kapsler med sorbitol som mykgjørere

Alle kapslene luktet fiskeolje, og ingen luktet peppermynte slik de skulle (Se tabell 4.1). Kapseltype A og H hadde en del flekker, mens av de undersøkte kapslene av type B var det ingen flekker å finne. Flekkene var rapportert å komme 3-4 måneder etter produksjon for de sorbitolbaserte kapslene (ProBio/Ayanda). Da studien startet var kapslene allerede 40 uker (A), 41 uker (H) og 46 uker (B) gamle.

Tabell 4.1: Tabellen viser resultatene av den makroskopiske testen av kapslene med sorbitol som mykgjører.

Kapsel	Flekker	Søm	Lukt	Form
A	87 kapsler hadde ingen flekker, 10 hadde en liten flekk og 14 hadde flere flekker/store flekker	Hakk inn i søm, ikke farget søm	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse
B	Ingen av kapslene (106 stk) hadde flekker	Hakk inn i søm, ikke farget søm	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse
H	30 kapsler hadde ingen flekker, 18 hadde flekker	Alle hadde lys rosa/lilla søm og hakk inn på den ene langsida	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse

Som det fremgår av tabell 4.1 hadde kapslene varierende form, med antydning til bananform, de bulet litt ut på en side, og lengden så ut til å variere noe. Kapslene virket også veldig harde å ta på. På de fleste kapslene var det et lite hakk inn på langsida der hvor sømmen var. Kapselbatchene A og B hadde dette hakkert rundt hele kapselen, mens H hadde det mest tydelig på den ene sida. Kapsel H hadde også en rosalilla farge på sømmen.

Etter at kapslene med sorbitol som mykgjører hadde vært lagret en tid i vår lab (ved ca 1 år fra produksjonsdato), ble det observert at kapslene var fuktig på utsida. Etter noe tid var de så tørket, og klebet sammen (se fig 4.8). Det er sannsynlig at dette er forårsaket av mykgjøreren som har lekket ut av kapselskallet. Dette er et kjent problem når sorbitol blir brukt som mykgjører og fenomenet kalles ”blooming” [9]. Det som skjer er at mykgjøreren migrerer ut av formuleringen. På denne måten mister også kapselskallet sin fleksibilitet. Det kan tyde på

at sorbitol ikke er en godt egnet mykgjører for denne formuleringen, i hvert fall ikke som eneste mykgjører.



Figur 4.8: ”Blooming” og sammenklebing av kapsler med sorbitol observert under lagring.

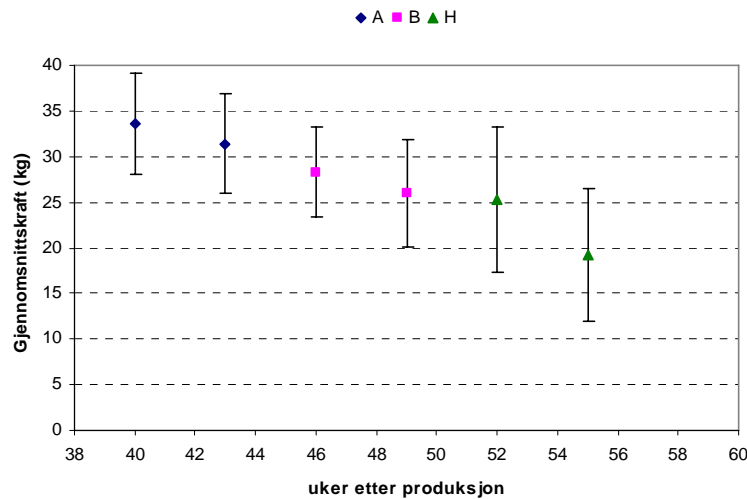
Sorbitol finnes i flere kvaliteter og det er grunn til å anta at krystallinsk sorbitol er mer utsatt for utkrystallisering på kapseloverflaten og/eller ”blooming” enn den ikke-krystallinske (non-cristallisabile) råvaren [5].

Endring i mekaniske egenskaper over tid:

Under testing av filmstyrke sprakk de sorbitolbaserte kapslene (A, B og H) da proben traff kapselen (jfr. beskrivelse i vedlegg 1). I en filmstyrketest skal probe normalt penetrere filmen uten at kapselen sprekker.

De sorbitolbaserte kapslene var, som nevnt, fra 40 uker gamle og oppover, da studien startet opp. Ved hjelp av tre ulike batcher (A, B og H) av samme formulering var det mulig å få til en tidslinje som beskriver lagringstid fra uke 40 fram til 55 uker etter produksjon. Figur 4.9 viser hvordan filmstyrken ser ut til å avta med økende lagringstid. Variasjonen innen hvert prøvetidspunkt er relativt stor (store standardavvik), men en fallende tendens i filmstyrke kan

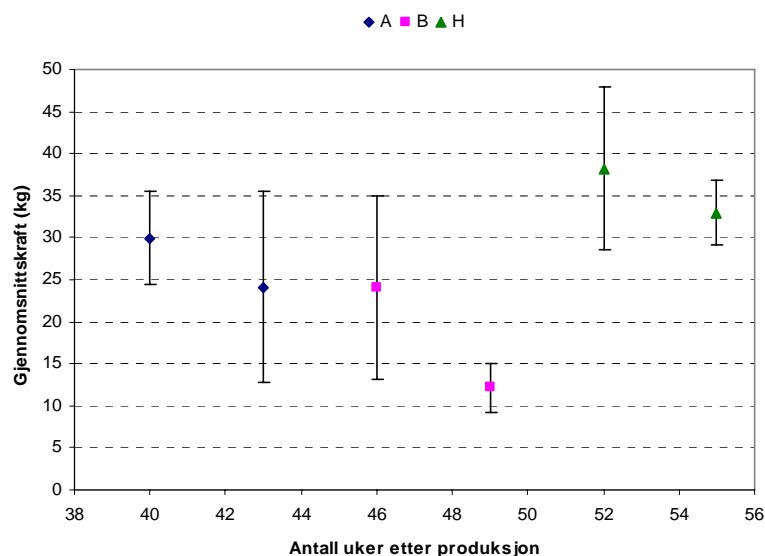
observeres, tross for at serien er satt sammen av prøver fra ulike batcher. En redusert filmstyrke tyder på at kapslene er blitt mer sprø, og at mykgjører ikke virker like godt. Det er som nevnt et kjent problem ved bruk av sorbitol som mykgjører at sorbitol lekker ut, og dermed blir det mindre mykgjører i kapselskallet [9].



Figur 4.9: Endring i filmstyrke under lagring for sorbitolbaserte kapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10).

Kapslene ble også testet med hensyn til sømstyrke, også i denne testen sprakk kapslene i mange deler da proben traff kapslene. Figur 4.10 viser hvordan sømstyrken tilsynelatende varierer tilfeldig med økende lagringstid. Her er ikke like lett å identifisere én klar totaltrend innad i formuleringen, men dersom man sammenlikner batchvis, kan det se ut til at sømstyrken avtar fra den første testen til neste test 3 uker senere. En fallende tendens i sømstyrke kan muligens også identifiseres for de første ukene representert med batchene A og B, men kapslene fra H ligger ved en vesentlig høyere sømstyrke. Hvorvidt dette er tilfeldig vites ikke, men det er verdt å merke seg at variasjonen i sømstyrke er stor. Som det fremgår av bildet av tverrsnittet av en kapsel i figur 4.3, er ofte sømtykkelsen forskjellig i de to sidene. Dette er også beskrevet i tidligere masterprosjekter [11,18] og kan forklares med orienteringen under innkapslingen og hvordan tyngdekraften virker på den våte kapselfilmen ved forsegling. Den tynneste sømmen er det svakeste punktet og der sømmen forventes å sprekke i sømstyrketesten. Som en tommelfingerregel bør forholdet (ratio) mellom

sømtykkelse og filmtykkelse være minst 0,5 for at sømstyrken skal være tilfredsstillende [5]. Når begge testene av kapsler fra H skiller seg ut, med en høyere sømstyrke, men samtidig har samme synkende trend med økende lagringstid, kan det tyde på at denne kapselbatchen kan ha en annen tykkelse på den svakeste sømmen, eller et annet forhold mellom sømtykkelse og filmtykkelse. Tykkelsesmålinger ble ikke gjennomført, men det er en mulig teori som kan forklare sømstyrkefunnene. Filmstyrkemålingene gav ingen indikasjon på at filmtykkelsen var forskjellig for H sammenliknet med A og B, men det utelukker ikke at sømstyrkemålingene være forskjellig. Dersom sømtykkelsen er mye tynnere for kapslene i H, vil sømstyrkemålingene påvirkes uten at filmstyrkeresultatene trenger avvike.

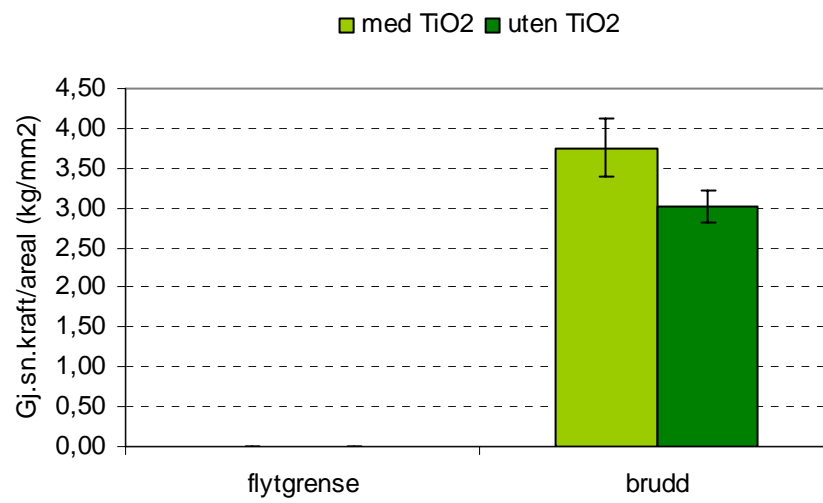


Figur 4.10: Endring i sømstyrke under lagring for sorbitolbaserte kapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10)

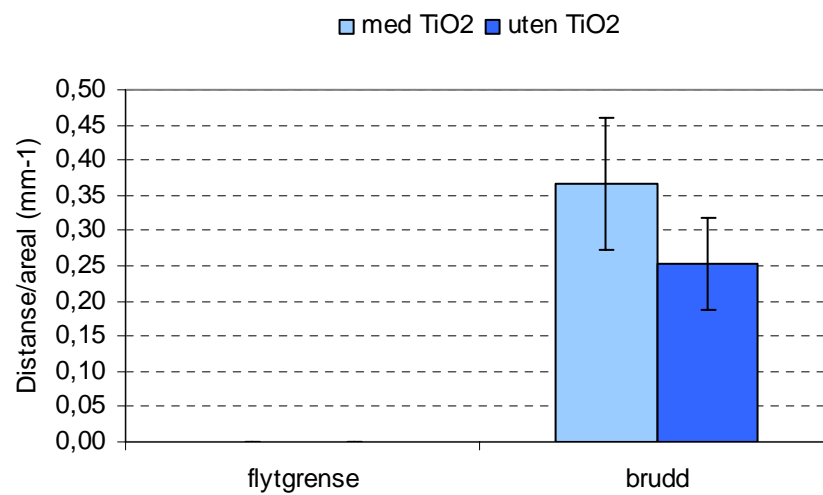
Mekaniske egenskaper til frie gelatinfilmer:

For å få en bedre innsikt i hvordan sorbitol virker som mykgjører i gelatinformuleringen ble frie filmer fremstilt med samme sammensetning som gelatinkapselskallet. Strekktester av filmene viste at formuleringen kun har en elastisk deformasjon som beskrevet i figur 3.10 (i material og metode del). Det oppstår brudd i filmen før en eventuell flytgrense når. Figur 4.11 viser styrken til filmen begrenset som kraft/areal og fleksibiliteten til filmen (mm^{-1}). Effekten av å utelate titandioksid som fargepigment i filmen ser ut til å være at filmen blir mindre fleksibel, brudd oppstår ved en lavere kraft og filmen strekkes kortere før bruddet oppstår.

A)



B)



Figur 4.11: Mekaniske egenskaper ved brudd hos frie filmer av sorbitolkapselformulering: A) gjennomsnittskraft (kg/mm²), B) fleksibilitet (mm⁻¹), (n=5)

4.2.1.2 Kapsler med glycerol som mykgjører

Kapslene med glycerol (kapselbatch E) følte veldig forskjellig i handa sammenliknet med kapslene med sorbitol. Glycerol-kapslene var tykkere og hadde ikke bananform. Det kan være fordi kapslene med glycerol var noe mindre av størrelse (14 oblong) enn de andre (16 oblong). Størrelsen kan ha noe å si for spenningene som bygges opp i filmen og muligens også bidra til at de ikke blir misformet like lett. En annen relevant forklaring er at glycerol som mykgjører gir mykere kapsler enn sorbitol. Glycerol beskrives i litteraturen som den mykgjøreren som er mest brukt til myke gelatinkapsler [1], dette fordi den er kompatibel med veldig mange andre stoffer og er ikke like utsatt for å migrere ut av filmen som sorbitol.

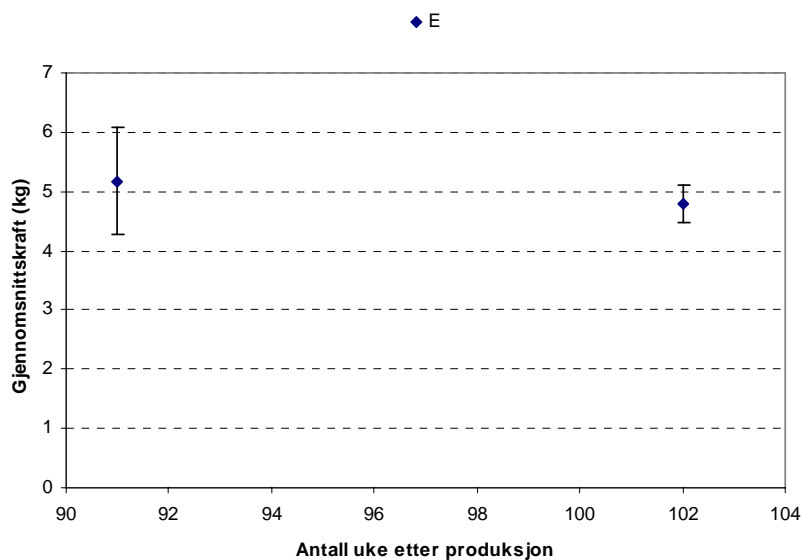
For denne kapseltypene ble det observert brune flekker allerede 3-4 uker etter produksjon (ProBio/Ayanda), derfor ble det ikke produsert flere batcher med kun glycerol som mykgjører. I vår studie viste det studerte utvalget relativt få flekker på overflaten sammenliknet med de sorbitolbaserte kapslene, men alle kapslene hadde misfarging i sømnen (tabell 4.2). En rosalilla farge rundt hele kapselen markerte sømnen tydelig i disse kapslene. De glycerolbaserte kapslene var 91 uker når denne studien startet. Heller ikke i denne formuleringen fungerte peppermynteolje godt nok for å maskere lukten av fiskeolje.

Tabell 4.2: Tabellen viser resultatene av den makroskopiske testen av kapslene med glycerol som mykgjører.

Kapsel	Flekker	Søm	Lukt	Form
E	5 hadde små flekker, 30 hadde ingen flekker	Alle hadde lys rosa/lilla søm rundt hele kapselen, hakk inn i søm.	Fiskeolje, ikke peppermynte	Mange bulet litt ut på den ene sida. Tykk. Ikke bananform.

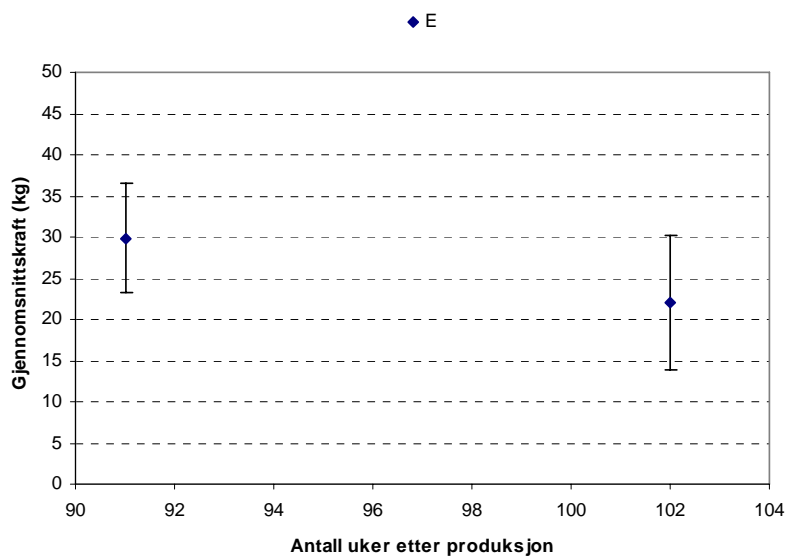
Endring i mekaniske egenskaper over tid:

Kapslene som hadde glycerol som mykgjører var veldig myke og elastiske, og det ble ikke hull i alle kapslene da proben traff kapselen under test av filmstyrke (jfr. beskrivelse i vedlegg 1). Gelatinskallet var så elastisk og tøyde seg med proben slik at testen kunne gjennomføres uten at proben penetrerte filmen. Ettersom kapslene allerede var 91 uker da denne studien startet var det ikke forventet å kunne måle store endringer i løpet av en 11 ukers lagringsperiode, og det ble det heller ikke gjort. Figur 4.12 viser at den største forskjellen mellom de to testpunktene var størrelsen på standardavviket, som tilsynelatende var mindre ved det andre testpunktet. Dette kan være tilfeldig variasjon og bør trolig ikke tillegges for stor betydning.



Figur 4.12: Endring i filmstyrke under lagring for glycerolbaserte kapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10).

Testen på sømstyrke bekreftet disse kapslenes fleksible egenskaper, heller ikke i denne testen sprakk sømmen uten at metoden måtte modifiseres. Distansen proben beveger seg måtte justeres for å kunne foreta målinger av sømstyrke. Dette viser, i likhet med filmstyrkeresultatene at type mykgjører er avgjørende for kapslenes mekaniske egenskaper. Figur 4.13 oppsummerer resultatet for strømstyrketestene for de glycerolbaserte kapslene.



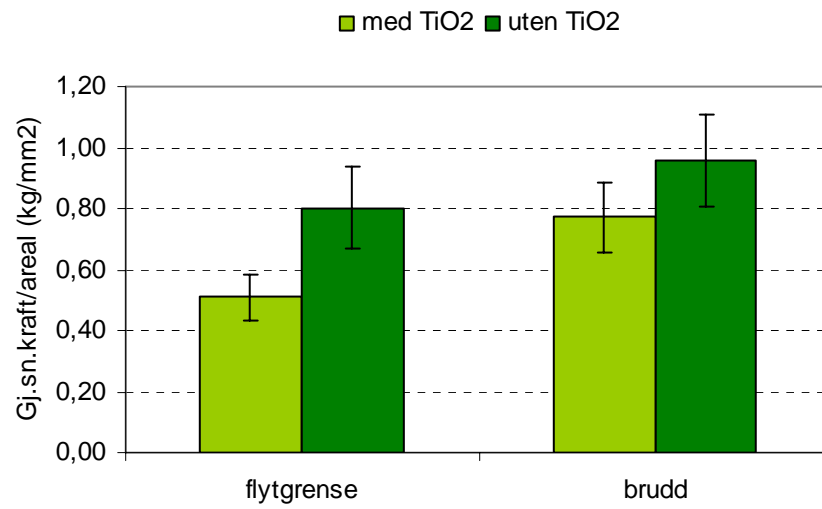
Figur 4.13: Endring i sømstyrke under lagring for glycerolbaserte kapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10).

Mekaniske egenskaper til frie gelatinfilmer:

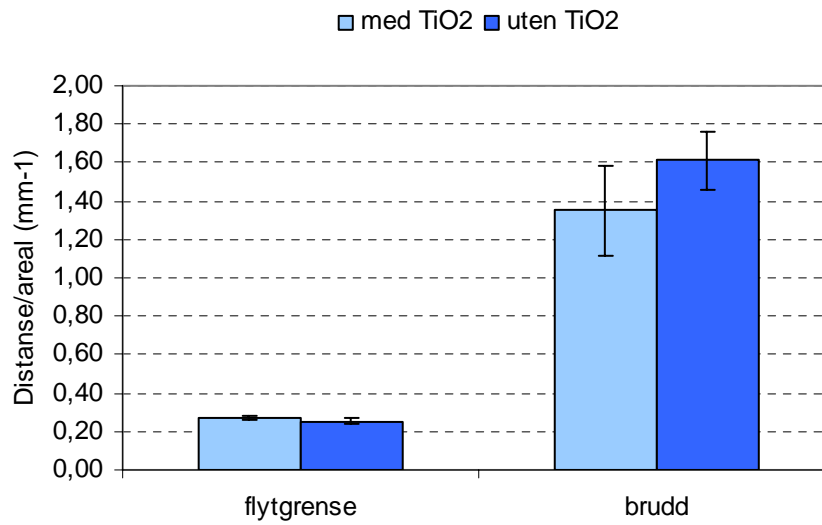
Resultatene fra strekktesten av frie filmer av kapselskallformuleringen til de glycerolbaserte kapslene i figur 4.14, viser at disse filmene både har en elastisk og en plastisk komponent. Profilene beskrives som i figur 3.11 (material og metodedelen). Kraften som skal til for å forårsake brudd i filmen er høyere enn den som er detektert ved flytgrensen. Filmene strekkes også langt fra de når flytgrensen til bruddet oppstår. Dette underbygger funnene i film- og sømstyrketestene av kapslene, hvor det var vanskelig å måle en kraft da kapslene var fleksible.

Figur 4.14 viser at effekten av titaniumdioksid er motsatt for glycerol kapslene i forhold til sorbitol kapslene. Ved tilsats av et partikulært materiale avtar fleksibiliteten til filmene.

A)



B)



Figur 4.14: Mekaniske egenskaper ved flytgrense og brudd hos frie filmer av glycerol-kapselformulering: A) gjennomsnittskraft (kg/mm^2), B) fleksibilitet (mm^{-1}), ($n=5$).

4.2.1.3 Kapsler med kombinasjon glycerol:sorbitol (40:60) som mykgjører

Denne delstudien inneholder 4 batcher av formuleringen med mykgjører kombinasjonen glycerol:sorbitol. Kapselbatchene hadde også her ulik alder ved oppstart (jfr tabell 3.3): fra 22 uker (D), 30 (C), 37 (G) til 41 uker (F). Den yngste batchen (D) hadde en stor frekvens av kapsler med flekker (tabell 4.3), men denne prøven er en samling av dårlige kapsler plukket ut under produksjon ("retained sample"). Ingen av de andre kapselprøvene undersøkt med denne formuleringen, hadde flekker. Dette er en indikasjon på at mykgjørerkombinasjonen er egnet, men at problemene med flekkdannelse trolig ikke er relatert til mykgjøreren.

Tabell 4.3: Tabellen viser resultatene av den makroskopiske testen av kapslene med både glycerol og sorbitol (40:60) som mykgjører.

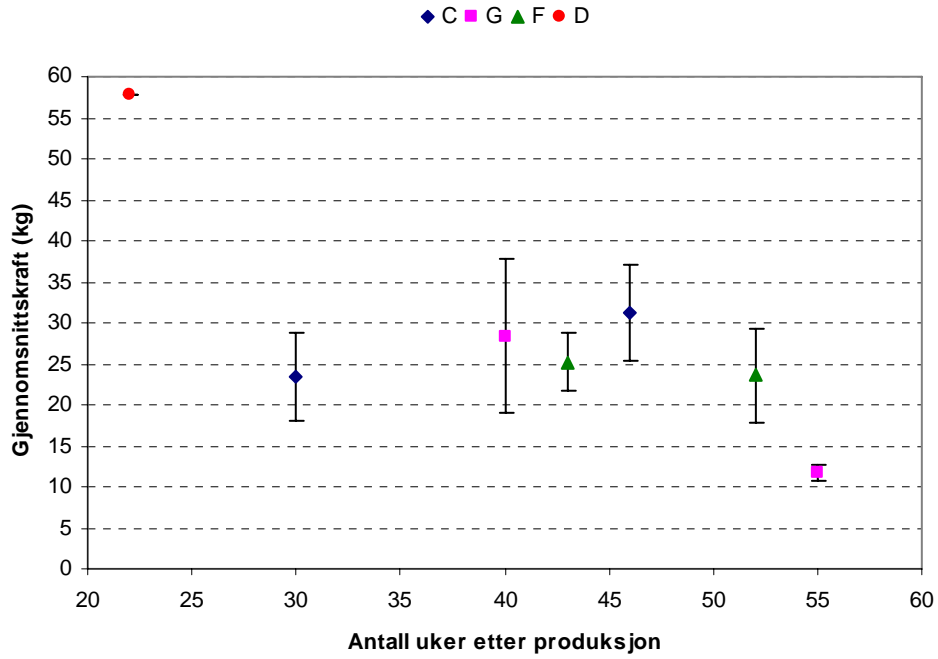
Kapsel	Flekker	Søm	Lukt	Form
C	Ingen av kapslene hadde flekker	Hakk inn i søm på den ene landsida, ikke farget søm	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse
D	19 med noen flekker, 144 med mer flekker og 17 med veldig mange flekker	Hakk inn i søm på den ene landsida, ikke farget søm	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse
F	Ingen av kapslene hadde flekker	Alle hadde lys rosa/lilla søm og hakk inn på den ene langsida	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse
G	Ingen av kapslene hadde flekker	Alle hadde lys rosa/lilla søm og hakk inn på den ene langsida	Fiskeolje, ikke peppermynte	Ulik form: Bananform, bulet ut på den ene sida, ulik lengde og tykkelse

Som det fremgår av oppsummeringen i tabell 4.3 varierte kapselformen også til en viss grad for disse kapslene. Mange hadde antydning til bananform, bulet litt ut på en side, og lengden så ut til å variere. På de fleste kapslene var det et lite hakk inn på langsida ved sømmen slik som det også ble beskrevet for de andre formuleringene. Dette var mest tydelig på den ene sida. Kapselbatch F og G hadde antydning til misfarging i sømmen (rosalilla søm), men sømmen var ikke like sterkt misfarget og kun på den ene sida. Blant de testede formuleringene var det formuleringen med mykgjørerkombinasjonen glycerol:sorbitol som visuelt vurdert gav de beste kapslene.

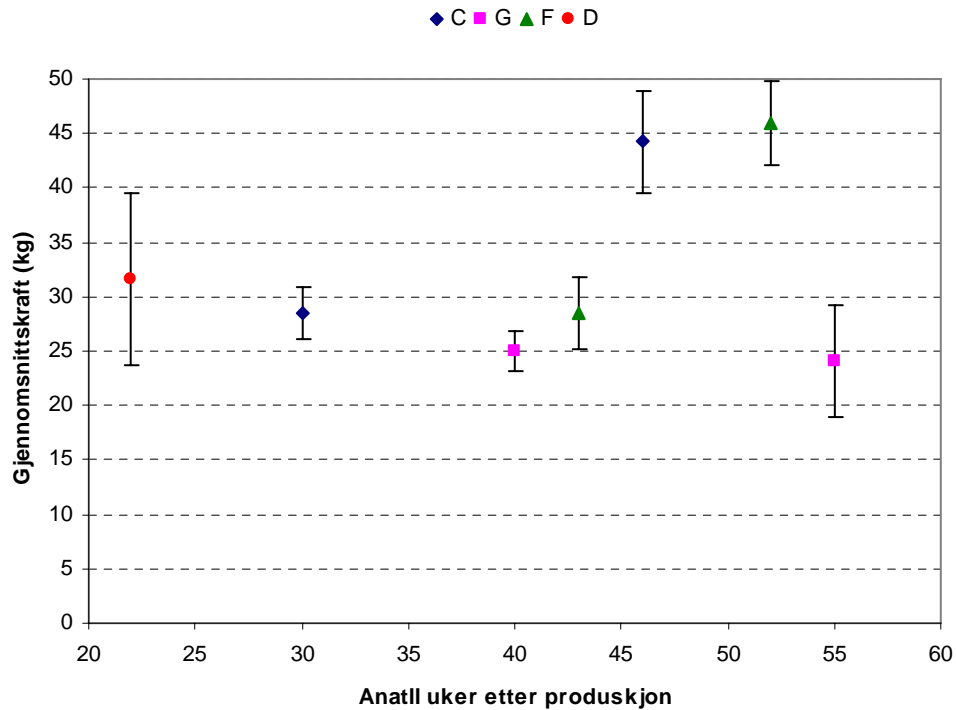
Endring i mekaniske egenskaper over tid:

Kapslene med mykgjørerkombinasjonen glycerol:sorbitol (C, D, F og G), fikk "kulehull" i kapselskallet da proben penetrerte kapselveggen i filmstyrketesten (jfr. beskrivelse i vedlegg). Det vanskeligere å finne en entydig trend når det gjelder endring i mekaniske egenskaper for denne formuleringen (se fig 4.15, neste side). For de ferskeste kapslene (D=22 uker) er filmstyrken veldig høy, i størrelsesorden dobbelt så stor sammenliknet med de eldre batchene. Ettersom akkurat denne batchen (D) ikke er testet mer enn ved ett tidspunkt, vites det ikke om dette er en verdi som vil endre seg med økende lagringstid. Det er uansett verd å merke seg at dette er kapsler som stammer fra en såkalt "retained sample", noe som kan bety at de kan avvike i oppførsel fra standardkapslene. Standardavvikene for de ulike testtidspunktene (og batchene) er store, men det kan kanskje se ut som det er en tendens til at filmstyrken også her avtar med økende tid slik som beskrevet tidligere for sorbitolkapslene. Figur 4.15 viser en synkende trend i hvert fall for kapselbatch G og F innad fra første til siste måling. Kapselbatch C passer ikke i dette bildet.

Sømstyrketesten bekreftet at kombinasjonskapslene var mer fleksible enn kapslene som hadde kun sorbitol som mykgjører, ved at kapslene ikke sprakk slik sorbitolkapslene gjorde. Men de var heller ikke like fleksible som glycerolkapslene, hvor det var vanskelig å bestemme en sømstyrke. I sømstyrketesten fikk kombinasjonskapslene en tydelig sprekk i den ene langsida og videre litt opp på kapselen, uten at resten av kapselen ble ødelagt. Som det fremgår av figur 4.16 (neste side) var det vanskelig å isolere en trend som kunne beskrive oppførsel under lagring.



Figur 4.15: Endring i filmstyrke under lagring for sorbitol:glycerol kombinasjonskapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10).

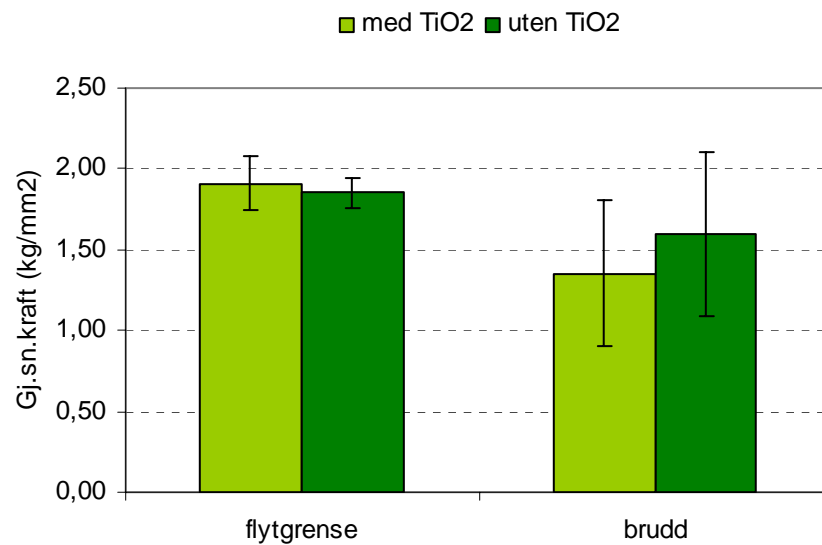


Figur 4.16: Endring i sømstyrke under lagring for glycerol:sorbitol kombinasjonskapsler med identifikasjon av kapselbatch (n=10)

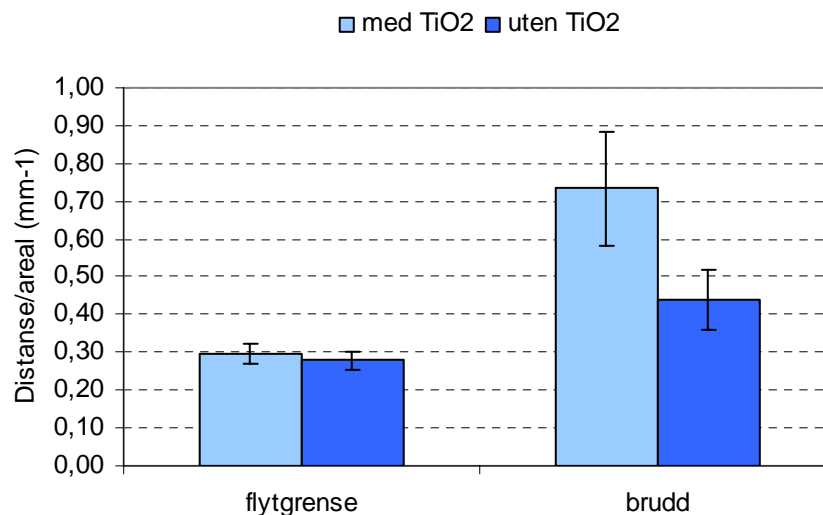
Mekaniske egenskaper til frie gelatinfilmer:

Figur 4.17 viser resultatene fra strekktesten av de frie filmene med kombinasjon av de to mykgjørerne glycerol:sorbitol (40:60). Disse filmene viste både en elastisk og en plastisk deformasjon, men bruddet kom ved en lavere kraft enn selve flytgrensen. Når flytgrensen var nådd kunne filmen strekkes irreversibelt. En slik profil er beskrevet i fig 3.12 (i metoddelen).

A)



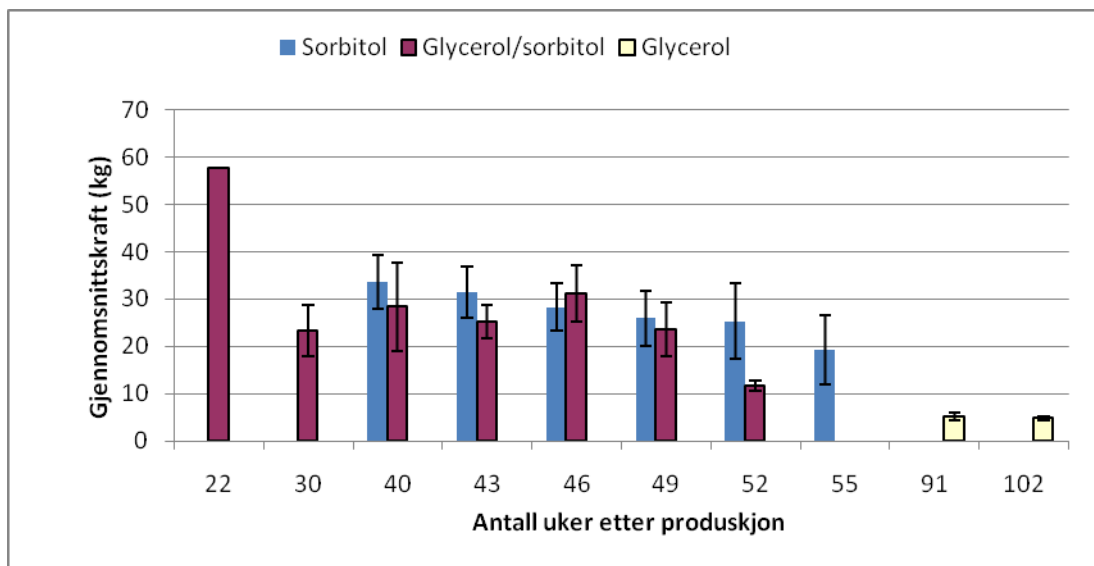
B)



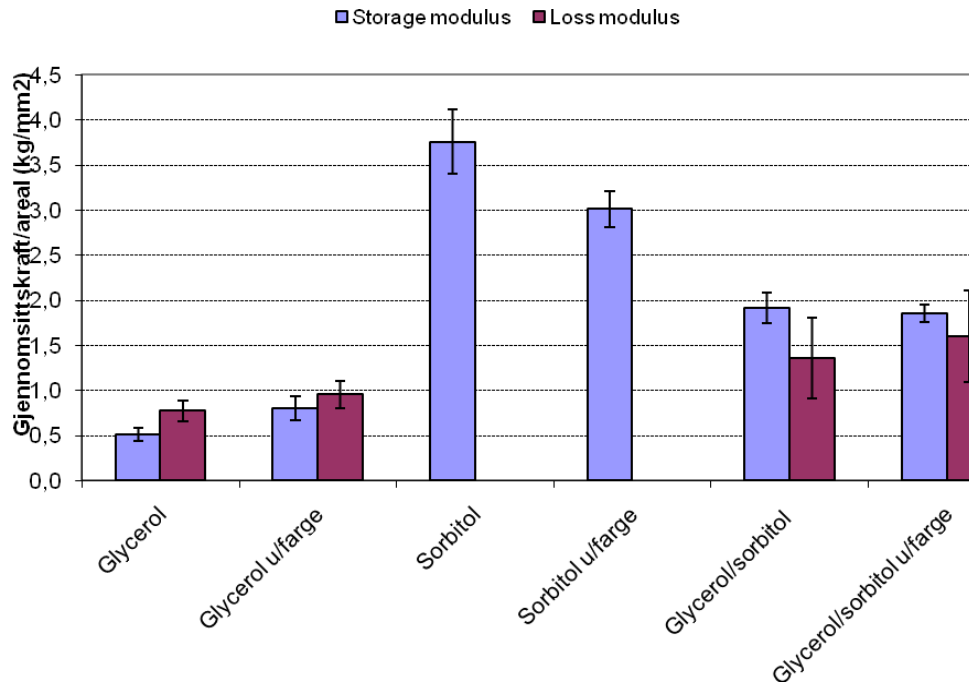
Figur 4.17: Mekaniske egenskaper ved flytgrense og brudd hos frie filmer av kapselformulering med glycerol:sorbitol (40:60) som mykgjører: A) gjennomsnittskraft (kg/mm²), B) fleksibilitet (mm⁻¹), (n=5).

4.2.1.4 Sammenlikning av formuleringer med ulike mykgjørere

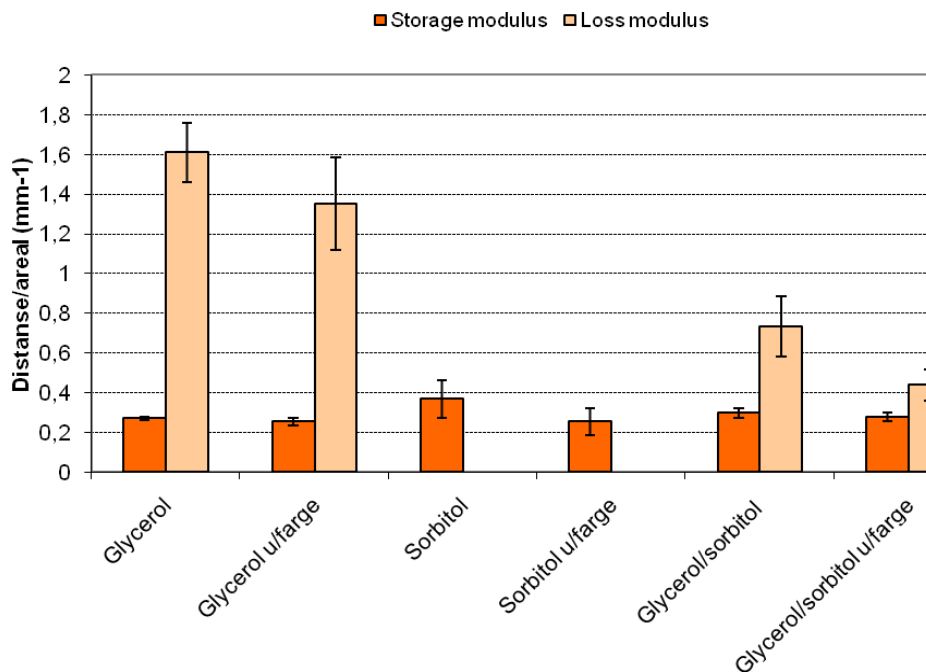
Når man egenskapene både til kapsler og frie filmer av de tre formuleringene, er det tydelig at type mykgjører har en del å si for de mekaniske egenskapene. Figur 4.18 viser filmstyrken målt til kapsler med sorbitol, glycerol og kombinasjonen av sorbitol og glycerol (40:60), samt hvordan filmstyrken eventuelt endres over en periode etter produksjon. Glycerolkapslene viser den laveste filmstyrken. Den er i størrelsesordenen rundt $\frac{1}{4}$ av gjennomsnittstyrken til sorbitolkapslene og også vesentlig høyere enn kapslene som er fremstilt med kombinasjonen av de to mykgjørerne. Ser man på filmstyrken til de frie glycerolfilmene i figur 4.19 (neste side) bekreftes den samme trenden. Figur 4.20 (neste side) viser dessuten at de frie filmene er svært fleksible og har en stor andel av plastisk deformasjon, noe som innebærer at disse filmene kan strekkes mye også etter at flytgrensen er nådd innen det oppstår brudd i filmen. Sorbitolfilmene er de sterkeste, det vil si at de krever den høyeste kraften for å oppnå brudd. Disse filmene har ingen flytgrense. Kombinasjonsformuleringene har litt av begge typene egenskaper; de er mindre fleksible enn glycerol alene, men samtidig mer fleksibel enn sorbitol alene. Samtidig har disse filmene en flytgrense.



Figur 4.18: Effekt av mykgjørertype på filmstyrke over tid (n=10).



Figur 4.19: Filmstyrke (kraft/areal) ved strekktest av de frie filmene.

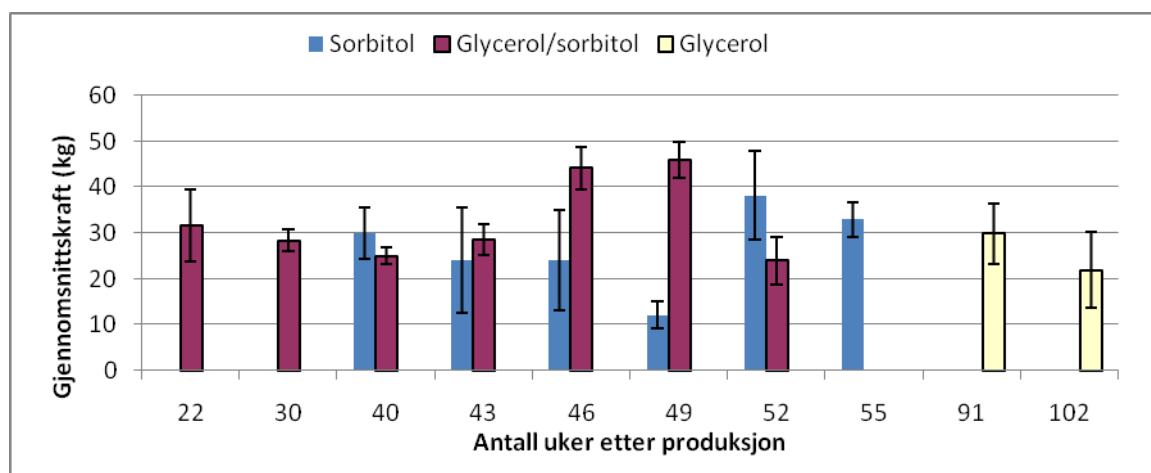


Figur 4.20: Distanse/areal ved strekktest av de frie filmene.

Glycerolcapslene som allerede var 91 uker da testen startet, endret seg ikke i løpet av de 11 ukene de ble lagret. En mulig endring på et tidligere tidspunkt i lagringsforløpet kunne ikke

fanges opp av denne studien. Bortsett fra den første prøven av glycerol:sorbitol kapslene kan man grovt sett si at filmstyrken til de sorbitolbaserte kapslene og kombinasjonskapslene ligger i samme størrelsesorden, men glycerolkapslene har vesentlig lavere filmstyrke. Det er mulig at man kan identifisere en synkende trend for filmstyrke med økende lagringstid for sorbitolkapslene og kombinasjonskapslene (se figur 4.9 og 4.15).

Ettersom kapslene har vært lagret veldig lenge før de ble testet, er det trolig ikke så stor forandring i vanninnhold. Dette kan være med på å forklare at det ikke er noen merkbar forandring i filmstyrken innenfor hver kapselskalls sammensetning..



Figur 4.21: Effekt av mykgjørertype på sømstyrke over tid (n=10).

Når det gjelder sømstyrke er det vanskeligere å finne noen trender som er klart relatert til mykgjører (figur 4.21). Standardavvikene er store. Hvilket nivå (kraft) sømstyrken ligger på avhenger trolig ikke bare av mykgjører, men også i stor grad av sømtykkelse og forholdet mellom sømtykkelse og filmtykkelse for de ulike kapsleproduksjonene. Dersom forholdet mellom søm- og film-tykkelse er veldig ugunstig i en batch vil dette påvirke sømstyrken i mye større grad enn filmstyrken, fordi sømmen er kapselens svakeste punkt.

Kapslene som hadde sorbitol som mykgjører (A, B og H) sprakk i mange deler da proben traff kapslene. Det var tydelig å se at de skilte seg ut i forhold til de som hadde en blanding av glycerol og sorbitol i skallet. Disse sprakk ikke i mange biter (slik som A og B), men hadde en mer tydelig sprekk i den ene langsida og videre litt opp på kapselen, uten at resten av kapselen ble ødelagt. De med kun glycerol som mykgjører (E) var så elastiske at proben først gikk opp igjen uten at sømmen sprakk. Dette viser, i likhet med da filmstyrke ble målt, at type

mykgjører avgjør hvor sprø eller elastisk kapslene blir. Når kapslene ble knust ved målingene, blir nok resultatene veldig varierende. Observasjonene som ble gjort under målingene var derimot mer nyttig.

4.2.2 Problemer med suspensjonen(e)

Undersøkelse av partikkelstørrelse:

Det ble gjort forsøk på å bestemme partikkelstørrelse både i gelatinfilmene og fyllgodset, men det fungerte ikke som forventet. Da den smeltede gelatinmassen kom i kontakt med grindometeret, stivnet den og ble som tyggegummi. Det var derfor ikke mulig å utføre målingene. Det ble så forsøkt å forvarme grindometeret i vannbad, slik at den var varm da gelatinmassen ble strøket ut, men heller ikke dette gav målbare resultater.

En uventet oppdagelse var derimot at gelatinmassen luktet peppermynte da den ble smeltet opp. Det viser at peppermynteoljen er tilstedet i kapselskallet, selv om de ikke lukter annet en fiskeolje ved lagring.

Det var vanskelig å bestemme partikkelstørrelsen på fyllmaterialet også. Det ble gjort flere parallelle forsøk, men resultatene var ikke reproducerbare, så det ble konkludert med at metoden egnert seg dårlig til å bestemme partikkelstørrelsen i de to suspensjonene. Hensikten med måling av partikkelstørrelse var å kunne følge med på en evt. vekst av partikkelstørrelse ved lagring av kapslene. Til dette var metoden for unøyaktig.

En visuell vurdering av kapselfyllet tydet ikke på at det inneholdt synlige klumper, men fargen kan maskere evt. klumper. Suspensjonen i fyllstoffet var veldig fast (høyviskøs), nesten som en pasta, så en eventuell sedimanasjon ville nok gå veldig sakte (Stokes lov). Det største problemet vil trolig være knyttet til en eventuell innkapsling kalsiumkarbonatklumer i sømmen som skissert tidligere.

4.2.3 Akselerert oksidasjon av fiskeolje

Oksidasjon av fiskeolje vil alltid kunne finne sted i denne typen produkter. Det er derfor viktig å forsøke å redusere muligheten for oksidasjon. Dette gjøres bl.a. ved å tilsette antioksidater i fiskeoljen, feks alfa-tokoferol. Innhold av stoffer som katalyserer en slik

oksidasjon vil være svært uheldig for stabiliteten av produktet. Dersom det faktisk er en lekkasje av fiskeolje fra kapslene, vil oksidasjon resultere i misfarging ettersom oksidasjonsproduktet er mørkt på farge som vist i figur 4.22. Fiskeolje tilsatt jern(III)klorid oksideres i løpet av testperioden på 24 timer og får en mørk farge. Jern-ionene fungerer som katalysator i denne reaksjonen.



Figur 4.22: Fiskeolje inkubert i 24 timer uten jernklorid (til venstre) og med jernklorid (til høyre), oksygen fjernet vha nitrogen før lagring. (Bildet er tatt av ProBio/Ayanda).

Ved nærmere undersøkelse av råvarekvaliteten av kalsiumkarbonat viser det seg at denne inneholder 200 ppm med jern. Dette kan være en kilde til misfargingsproblematikken, evt akselerering av misfarging dersom olje lekker ut av kapslene.

4.2.4 Mulighet for Maillards reaksjon

En alternativ forklaring til de observerte brune flekkene på kapseloverflaten, kan være at det er skjer en kjemisk reaksjon mellom aminosyrer i gelatin og en annen komponent i formuleringen, for eksempel en Maillards reaksjon som beskrives som en bruningsreaksjon. Maillards reaksjon er en interaksjon mellom proteiner og polysakkarider (reduserende sukker). Dette er en meget vanlig reaksjon og kan være et relevant problem i prosesser hvor man har proteiner som for eksempel gelatin. I næringsmiddelindustrien beskrives Maillardsreaksjon ofte, og den kan være ønsket eller uønsket. For myke kapsler er den hovedsakelig beskrevet som et problem for kapsler som ikke inneholder gelatin [2, 9].

Dette alternativet er ikke studert nærmere, men lanseres som en hypotese. Et problem med denne teorien, er at det ikke er noe reduserende sukker tilstede i de aktuelle kapsleformuleringene. Hvis det derimot er aldehyder og ketoner som oksidasjonsprodukter tilstedet, kan dette medvirke i en Maillardreaksjon [5].

4.2.5 Tørkeprosess (over eller undertørking)

Forsøk på bestemmelse av vanninnhold ved hjelp av Karl Fisher-titrering:

Det viste seg at vannbestemmelse ved Karl Fischer-titrering bød på problemer tross for at samme metode har vært brukt på myke gelatinkapsler med fiskeolje tidligere masteroppgavene [11, 18]. Det ble gjort en rekke forsøk, uten hell. En mulig forklaring kan være at kapslene i denne studien inneholder uløste partikler både i gelatinfilmene, men også i fyllmaterialet som kapslene i de tidligere studiene ikke har hatt. Karl Fischeranalysene, som er basert på en kvantitativ oksidasjon av jod med vann, er meget sensitiv for konkurrerende reaksjoner. Dersom andre reaksjoner konkurrerer vil det være vanskelig å bestemme vannet på en reproducerbar måte.

Nå viser det seg dessuten at kalsiumkarbonatråvaren som brukes i fiskeoljesuspensjonen inneholder relativt store rester av jern(III)klorid. Små rester av en slik forurensning kan ytterligere katalysere og favorisere konkurrerende reaksjoner og på den måten muligens bidra til problemene med vannbestemmelsen.

4.2.6 Forslag til tiltak for prosessoptimalisering

For å forhindre en mulig katalysert oksidasjon av fiskeolje kan råvarekvaliteten av kalsiumkarbonat forbedres, det vil si å bytte til en råvare med lavere innhold av jern. Dersom dette ikke hjelper kan en i tillegg tilsette EDTA til fyllmaterialet for å kompleksbinde jernionene slik at de ikke kan virke som katalysatorer på oksidasjon.

Selv om det ikke ble målt partikkelstørrelse på titaniumdioksid, er det viktig å forsikre seg om at partiklene i en suspensjon er små, og at de blir homogent fordelt i gelatinmassen. For å forbedre rutinene for dispergering av titaniumdioksid i gelatinmassen, kan en innføre et fuktetrinn hvor man benytter seg av det faktum at mykgjørere faktisk også er typiske fuktmidler. Dersom tørrstoffet fuktes med mykgjørere, før det tilsettes den viskøse

gelatinmassen kan man lettere unngå klumper. Massen kan i tillegg gå gjennom et malningstrinn (wet milling) for å redusere partikkelstørrelsen, evt. fjerne aggregater ytterligere. En forutsetning for å få en god suspensjonsfilm uten klumper er at den varme gelatinmassen er en god flytende suspensjon.

Det så ut til at en kombinasjon av de to mykgjørerne gav de beste kapslene, med tanke på de mekaniske egenskapene. De med kun glycerol som mykgjører var svakest, og de med sorbitol ble for hard. Kapslene med glycerol/sorbitol (40:60) var imidlertid ganske harde, og liknet mest på kapslene med sorbitol som mykgjører. Det kan da være en mulighet for mindre sprø kapsler hvis blandingsforholdet mellom de to mykgjørerne forandres, slik at mengden glycerol blir litt høyere i forhold til sorbitol.

For å ytterligere å redusere spenninger i filmen og hindre misforming av kapslene kan en evt. også vurdere å redusere kapselstørrelsen fra 16 oblong.

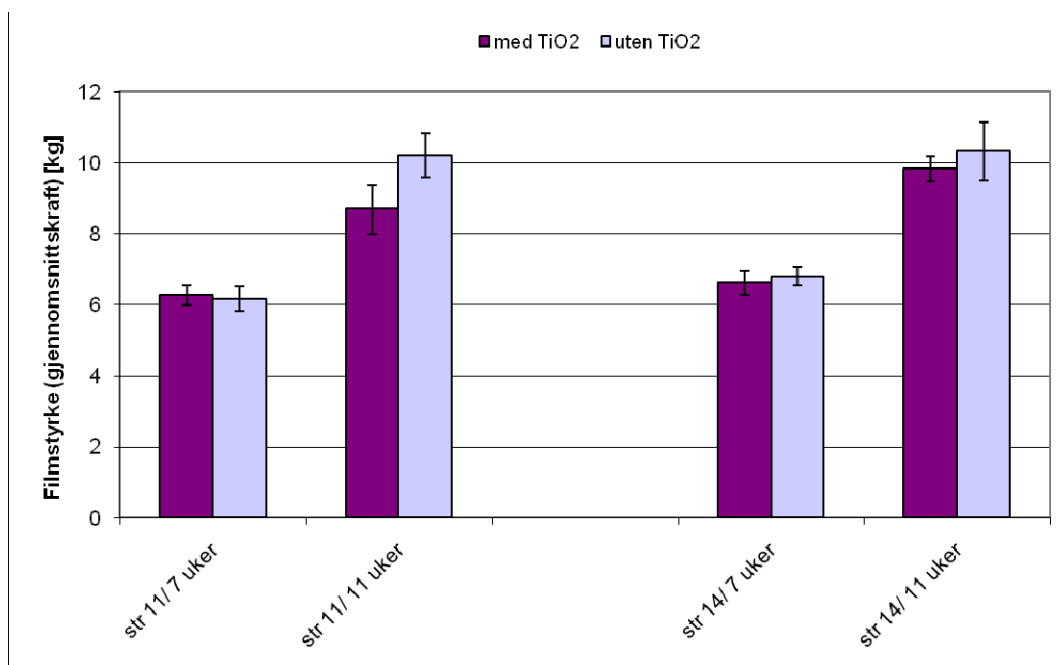
4.3 Karakterisering av nyproduserte kapsler etter intervensjon/prosessoptimalisering

Ved produksjon av de nye kapselbatchene ble det gjort noen tiltak for å forbedre kvaliteten på sluttproduktet og dermed redusere sannsynligheten for problemer med misfarging og brune flekker. Før det første ble titaniumdioksiden fuktet med mykgjørerblandingen og dispergert i en mindre mengde vann før det hele ble blandet inn i den varme gelatinmassen. I tillegg ble massen kjørt gjennom et malningstrinn (wet milling) for å bedre kontroll på partikkelstørrelsen og kvitte seg med eventuelle klumper. Råvaren av kalsiumkarbonat ble byttet til en kvalitet med lavere innhold av jern (reduert fra maks 200 ppm til maks 10 ppm). Kapselstørrelsen ble redusert, og mengden glycerol i forhold til sorbitol ble endret (fra 40:60 til 84:16). I tillegg ble det produsert kapsler både med og uten titaniumdioksid i kapselskallet for å se hvorvidt dette påvirket stabiliteten av kapslene.

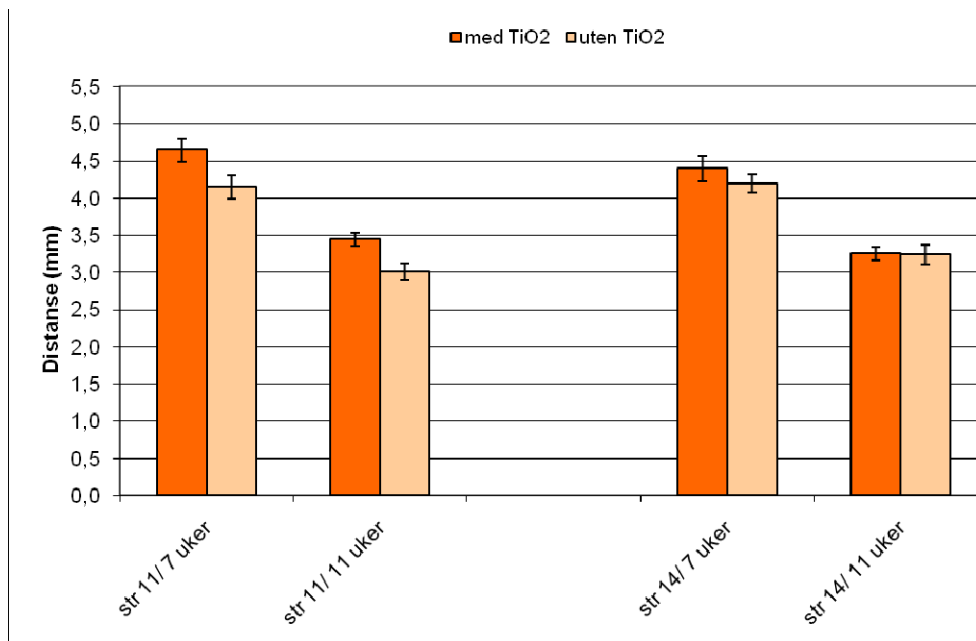


Figur 4.23: Kapsel produsert etter prosessoptimalisering, med og uten TiO_2 i kapselskallet i to størrelser. De to til venstre er str. 11 oblong, og de til høyre er str. 14 oblong.

Figur 4.23 viser bilde av de nyproduserte kapslene. Etter en lagringstid på 13 uker er det fortsatt ikke observert flekker på de ”nye” kapslene. I denne perioden ble kapslene karakterisert ved målinger av mekanisk styrke (teksturmålinger). Det ble foretatt en test 7 uker etter produksjon og en ny test fire uker senere (11 uker etter produksjon). Fordi det er to forskjellige kapselstørrelser som ble testet samtidig, blir det lettere å kunne se trender.

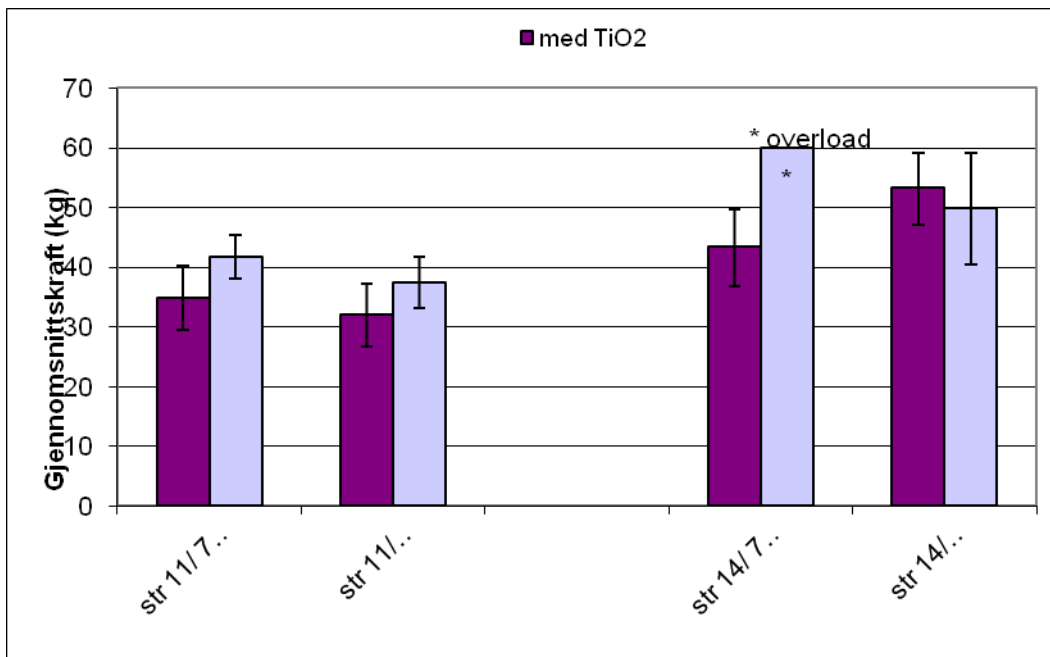


Figur 4.24: Kraft ved måling av filmstyrke.

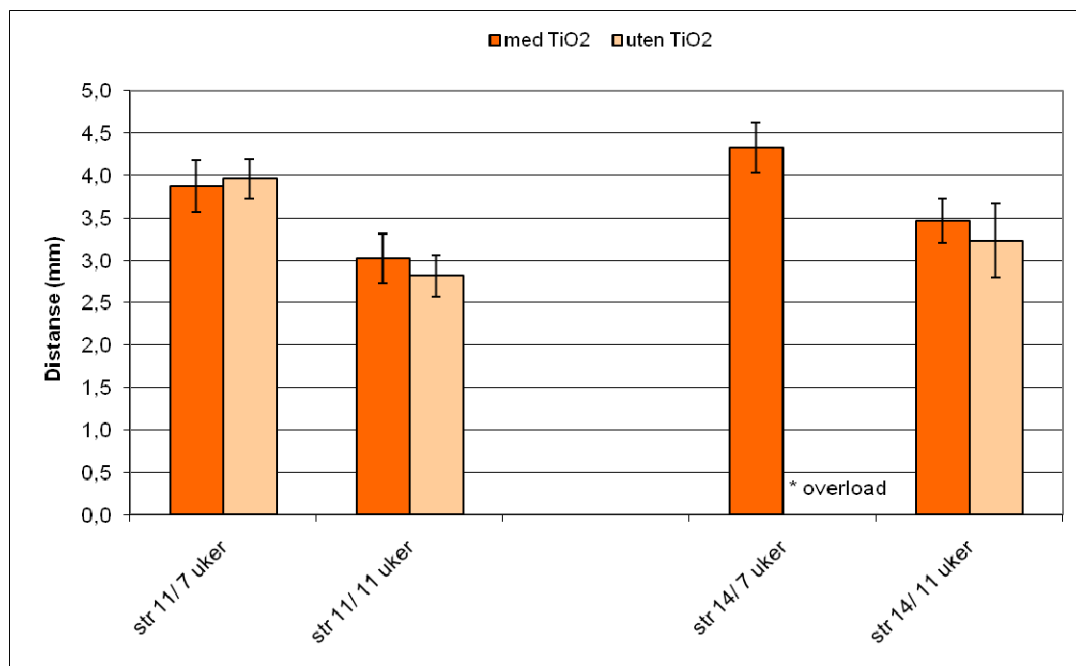


Figur 4.25: Distanse ved måling av filmstyrke.

Figur 4.24 viser at filmstyrken til begge kapselstørrelsene øker fra 7 uker til 11 uker etter produksjon. Hvis en sammenligner kapslene med og uten hvitt fargepigment i kapselskallet, er det ingen forskjell, standardavvikene overlapper hverandre. Det ser heller ikke ut til at kapselstørrelsen påvirker filmstyrken. Samtidig som filmstyrken øker avtar fleksibiliteten uttrykt som distanse kapslene komprimeres før proben penetrer filmen (figur 4.25). For begge kapselstørrelsene er det en markert nedgang fra uke 7 til uke 11. Det ser ikke ut som titaniumdioksid i kapselskallet har noen vesentlig innflytelse på filmens mekaniske egenskaper.



Figur 4.26: Kraft ved måling av sømstyrken.



Figur 4.27: Distanse ved måling av sømstyrke.

Når det gjelder sømstyrken til de nyproduserte kapslene er det ingen endring å se for den minste størrelsen i løpet av testperioden. Selv om kraften ikke ser ut til å endre seg (figur 4.26) så avtar distansen proben beveger seg før filmen sprekker (figur 4.27). For de store kapslene ligger kraftmålingene i øvre del av instrumentets måleområde og en av prøvene gav

faktisk også overload og ingen målbare resultater. Ser man på distansen proben beveger seg før sømnen gir etter avtar denne også systematisk for de store kapslene på samme måte som beksrevet for de små.

Hvis en sammenligner den målte filmstyrken (figur 4.24) med filmstyrken som ble målt for problembatchene med en blanding av glycerol og sorbitol (40:60) som mykgjørere (jfr figur 4.15), ser vi at de nyproduserte kapslene har en lavere filmstyrke. Sømstyrken ser ut til å være minst like høy ved de nyproduserte kapslene (figur 4.21), som ved problembatchene (figur 4.16). Dette stemmer med funn i en tidligere hovedoppgave hvor det ble beskrevet at kapslene med høyest filmstyrke og lavest sømstyrke var de kapslene som hadde tørket lengst [11].

Det er imidlertid vanskelig å bestemme nøyaktig hva som gjør at de mekaniske egenskapene til problembatchene og de nyproduserte kapslene er forskjellige, fordi det er mange faktorer som er endret samtidig (ved prosessoptimalisering). Som beskrevet (i kap. 4.2.1.4) har sammensetning av mykgjørere stor betydning for de mekaniske egenskapene til kapslene.

4.4 Vurdering av forbedring av problemkapsler

Etter en lagringstid på 13 uker (ca 3 måneder) er det fortsatt ikke observert brune flekker på kapslene som ble produsert etter prosessoptimalisering. Det er nå omtrent i det tidsrommet hvor flekker ble observert på de sorbitolbaserte kapslene. De nyproduserte kapslene bør fortsatt følges i en periode før man kan konkludere, men så langt ser det ut til at endringene har ført til et like godt og muligens til og med bedre produkt.

Kombinasjonen av de i verksatte tiltakene ser ut til å ha fungert godt og har trolig forbedret formuleringen. Det å fukte titaniumdiosiden med mykgjørere slik at tørrstoffet dispergeres bedre, i tillegg til "wet milling" av gelatinmassen er tiltak som gir en bedre, mer homogen suspensjon med lavere sannsynlighet for tørrstoffklumper. Det reduserer også sjansen for at kanaler oppstår i film eller søm som et resultat av et en tørrstoffklump løser seg eller skaper en svakhet på annen måte. Ved å redusere innholdet av jern(III) forurensninger i kalsiumkarbonatråvaren, er faren for oksidasjon av fiskeolje betraktelig redusert. Dette vil bidra til bedre stabilitet og lengre holdbarhet av fiskeoljen i disse kapslene uavhengig av om fiskeoljen lekker ut eller ikke.

Det ser ikke ut til at sammensetning av mykgjørere har hatt noen vesentlig betydning for dannelsen av brune flekker, men at det er av stor betydning for de mekaniske egenskapene til

kapslene. Indirekte kan en optimal mykgjørerkombinasjon bidra til å redusere sjansen for sprekkdannelse ved at spenninger i kapselskallet reduseres og en tilstrekkelig fleksibilitet av film og søm opprettholdes.

5 Konklusjon

For å kunne si noe om hvilke formuleringsparametere og/eller produksjonsparametere som er årsaken til problemet med dannelse av brune flekker på de hvite omega-3-kapslene, er ulike kapselformuleringer karakterisert. Eldre kapselformuleringer av problemproduktet med forskjellige typer mykgjørere (glycerol, sorbitol og en blanding av glycerol/sorbitol 40/60) ble studert over en periode på 4-5 måneder, med prøveuttak med tre ukers mellomrom.

Da kapslene med brune flekker (D, retained sample, med glycerol/sorbitol 40/60) ble studert i mikroskop og ved hjelp av elektronmikroskopering, ble det observert et fast stoff på innsiden av kapselsømmen. Det er vanskelig å vite om det faste stoffet er titaniumdioksidaggregater fra gelatinskallsuspensjonen eller kalsiumkarbonataggregater fra fiskeoljesuspensjonen i fyllmaterialet. Elektronmikroskopibildene antyder at det faste stoffet kunne være inkorporert i kapselskallet. Det taler for at tørrstoffet er titaniumdioksid som stammer fra gelatinskallsuspensjonen, men på en annen side kan det også være kalsiumkarbonataggregater som er blitt inkorporert i sømmen under innkapslingsprosessen. Dersom det er kalsiumkarbonat innesluttet i sømmen kan det være veldig uheldig. Kalsiumkarbonat som løser seg i vann gir en basisk løsning som kan bryte ned gelatinstrukturen ved basisk hydrolyse. Dette kan resultere i en lokal svekkelse som gjør at olje kan lekke ut. Uansett hvor det faste stoffet kommer fra, er det viktig å unngå at dette skjer, slik at det ikke blir svekkelse i kapselskallet/sømmen slik at olje kan lekke ut.

Resultatene fra den første delen av studien viste at det ikke er en opplagt sammenheng mellom type mykgjørere og dannelse av de brune flekkene. Det så ikke ut til at de mest sprø kapslene var så mekanisk svake at det kunne forklare en lekkasje. Effekten av mykgjørere har imidlertid, som forventet, stor innvirkning på kapsenes/gelatinfilmenes hardhet og elastisitet, og riktig valg er viktig for et best mulig produkt.

Nye kapsler ble produsert for problemproduktet hvor flere endringer, både med formuleringen og under produksjonen, var iverksatt for å bedre kvaliteten av produktet. Før det første ble titaniumdioksiden fuktet med mykgjører før det ble dispergert i gelatinmassen, i tillegg

gjennomgikk denne massen et ekstra malingsprosess for å sikre en mer homogen suspensjon. Kalsiumkarbonatråvaren ble byttet til en bedre kvalitet som ikke inneholdt like mye jern(III), slik at en eventuell oksidasjon av fiskeolje ikke katalyseres i like stor grad av jernforurensning. Kapselstørrelsen ble redusert for å unngå misforming. Sammensetning av mykgjørere ble endret, slik at det ble større andel glycerol i kapslene med en kombinasjon av de to mykgjørerne. Disse kapslene ser fortsatt bra ut etter en lagringstid på 13 uker, foreløpig er det ingen observasjoner av brune flekker eller misforming. For å kunne trekke en endelig konklusjon må disse kapslene følges videre framover, men de foreløpige resultatene ser meget lovende ut.

6 Referanser

- 1 Aulton, M.E., *Pharmaceutics: The science of dosage form design*, 2nd ed., Churchill Livingstone, 2002, s. 461-472.
- 2 Reich, G., *Formulation and physical properties of soft capsules*, in *Pharmaceutical Capsules*, 2nd ed., Podczec/Jones, s. 201-211.
- 3 ProBio ASA, *Årsmelding 2007*, Lunblad Media AS, Tromsø.
- 4 www.ayanda.com, sist besøkt 13. mai 2009.
- 5 ProBio, *Personlig informasjon fra ProBio (muntlig og skriftlig)*, 2008-2009, Tromsø og Andenes.
- 6 British Pharmacopoeia, vol. 2, 1998, s. 1421.
- 7 Nelson, D.L, Cox, M.M, *Lehninger, Principles of Biochemistry*, Third edition, USA, 2000, s.173.
- 8 Osorio, F.A., Bilbao, E., Bustos, R., Alvarez, F., *Effects of concentration, bloom degree, and pH on gelatin melting and gelling temperatures using small amplitude oscillatory rheology*, Taylor and Francis Group, 2007, s 841-851.
- 9 Wilkinson, P.K., *Softgels: Manufacturing considerations*, in *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 1990, s. 409-449.
- 10 www.felleskatalogen.no, sist besøkt 13 mai 2009.
- 11 Kagabo, V.R., *Studie av tørking av myke gelatinkapsler med varierende filmtykkelse, et prosjekt i samarbeid med ProBio Nutraceuticals AS*, Universitetet i Tromsø, 2008.
- 12 Brady, J.E., *Gennerell kjemi*, Tapir Akademisk forlag/John Wiley & Sons, Trondheim 2000, s. 392-395.
- 13 Forelesning, Per Waaler, FAR-2041, 2007.
- 14 www.astrazeneca.no, sist besøkt 13 mai 2009.

15 Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., Legemiddelanalyse, Fagbokforlaget, 2004, s. 379-381.

16 Hagesaether, E., Sande, S.A., *Effect of Pectin Type and Plasticizer on In Vitro Mucoadhesion of Free Films*, Pharmaceutical Development and Technology, USA, 2008, s. 105-108.

17 Hagesaether, E., Mucoadhesive properties of pectin, Effect of type of pectin and drug delivery system, Dissertation for the Degree of Ph.D 2008, Faculty of mathematics and natural sciences University of Oslo, s. 28-30.

18 Holst, L., *Myke gelatinkapsler: Studie av tørkebetingelser og egenskaper, et prosjekt i samarbeid med ProBio Nutraceuticals AS*, Universitetet i Tromsø, 2007.

19 www.apotek1.no, sist besøkt 13. mai 2009

7 Vedlegg

1. Tabell 1-6 viser en oversikt over hvilke observasjoner som ble gjort da de mekaniske egenskapene til kapselskallene til formuleringer hvor en blanding av glycerol og sorbitol ble brukt som mykgjørere (dvs C, D, F og G ihht tabell 3.3), ble testet.

Tabell 1, Glycerol/sorbitol: Observasjoner under test på **filmstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
22	"Kulehull".	D	5	45
30	"Kulehull", litt større enn proben. Kun en av kapslene sprakk i sømmen på den ene kortsida.	C	8	45
40	"Kulehull", men en del av kapslene sprakk, også i søm. Mindre sprø enn A og B.	G	8	48
43	"Kulehull".	F	8	47
46	"Kulehull", men sprakk også i skall.	C	8	9
52	"Kulehull", men sprakk også i skall.	F	8	4
55	Sprakk i ca to deler, sprø.	G	5	11

Tabell 2, Glycerol/sorbitol: Observasjoner under test på **sømstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
22	Kapselene sprakk i søm på langsida, og videre opp på kapsel-skallet.	D	5	45
30	Kapslene sprakk i søm på langsida, men ble ikke ødelagt ellers. Virket mindre sprø enn A og B.	C	8	45
40	Sprakk i søm, men også i skall.	G		48
43	Søm sprakk på den ene langsida. Det så ut som om den sprakk der hvor sømmen var farget, men det kan være tilfeldig.	F	8	47
46	Sprakk i mange deler. Mindre sprø enn H.	C	6	9
52	Kapslene ble knust, sprø.	F	6	4
55	Kapslene sprakk i sømmen, men ble også knust.	G	5	11

Tabell 3, Sorbitol: Observasjoner under test på **filmstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
40	Kapslene sprakk da proben traff, sprø.	A	8	45
43	Kapslene sprakk da proben traff, sprø.	A	8	48
46	Kapslene sprakk da proben traff, sprø.	B	8	45
49	Kapslene sprakk da proben traff, sprø.	B	8	48
52	Sprø kapsler. Mange sprakk i ca 3 store biter, noen sprakk i flere biter.	H	8	6
55	Sprø kapsler.	H	8	9

Tabell 4, Sorbitol: Observasjoner under test på **sømstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
40	Kapslene sprakk i mange deler, virket mer sprø enn D.	A	8	45
43	Kapslene sprakk i mange deler. Sprakk i søm, men hele kapselen ble knust.	A	8	48
46	Kapslene ble knust i mange biter, virket enda mer sprø enn A	B	8	45
49	Kapslene sprakk i mange deler. Sprakk i søm, men hele kapselen ble knust.	B	8	48
52	Kapslene ble knust, sprø.	H	8	6
55	Kapslene ble knust, sprø.	H	8	9

Tabell 5, Glycerol: Observasjoner under test på **filmstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
91	Myke, elastiske kapsler. Det ble ikke hull i alle kapslene da proben traff.	E	8	45
102	Ble ikke hull i to av parallellene. Elastiske og myke kapsler	E	7	102

Tabell 6, Glycerol: Observasjoner under test på **sømstyrke** for kapsler med økende lagringstid

Testet # uker etter prod.	Observasjoner, kommentarer	Kapsel	"Distance" (mm)	Testet i uke nr (08-09)
91	Proben gikk opp igjen uten at kapsel sprakk. Elastisk.	E	7	45
102	Kapsel sprakk i søm, men ellers var kapsel hel. Elastisk.	E	7	102

