

Pregled metod izdelave mikrokapsul za farmacevtsko uporabo

Microcapsules for pharmaceutical application: review of microencapsulation methods

Alenka Zvonar, Mirjana Gašperlin

Povzetek: Splošno gledano je mikrokapsuliranje proces, s katerim zelo drobne kapljice ali trdne delce obdamo s kontinuiranim filmom iz ustreznega materiala z namenom zaščite kapsuliranega jedra ali spremembe njegovih lastnosti. Na področju farmacije, kjer smo v zadnjih letih pričali zelo hitremu razvoju omenjene tehnologije, se mikrokapsuliranja poslužujemo zlasti s ciljem zaščititi vgrajeno učinkovino pred vplivi iz okolja in zagotoviti nadzorovano sproščanje vgrajene učinkovine. Razen tega izkoriščamo izdelavo mikrokapsul tudi za spremembo agregatnega stanja snovi ter za izboljšanje dispergiranja zdravilnih učinkovin, ki so slabo vodotopne. Zaradi velikega nabora in raznolikosti razpoložljivih metod mikrokapsuliranja, smo v tem prispevku predstavili splošne značilnosti omenjenega procesa, ter podrobneje opisali nekaj najpogostejših metod mikrokapsuliranja. Le-te niso univerzalno uporabne za vgradnjo različnih učinkovin, saj je pri izbiri ustrezne metode potrebno upoštevati tako osnovni namen kapsuliranja kot tudi lastnosti kapsulirane snovi. Posledično moramo prilagoditi tudi izbiro ogrodnega materiala in procesne pogoje ter upoštevati tako željeno velikost in morfološke lastnosti mikrokapsul kot tudi učinkovitost vgradnje in mehanizem sproščanja vgrajene učinkovine.

Ključne besede: mikrokapsuliranje, metode izdelave, mikrosfere, mikrokapsule.

Abstract: Microencapsulation is a process in which tiny droplets or solid particles are surrounded with a continuous layer of appropriate material in order to protect the encapsulated core or modify its properties. In recent years rapid development of microencapsulation technology can be observed also in the field of pharmaceutical technology. Microencapsulation enables protection of incorporated drug, controlled drug release, transformation of the aggregate state of material, and enhanced water dispersibility of hydrophobic drugs. Due to high diversity of methods, this paper proposes a classification and description of the main microencapsulation technologies. When deciding for microencapsulation technique one should consider that available methods can not be used universally, therefore the goal and the characteristics of encapsulate should be considered carefully. Afterwards suitable matrix material and process conditions can be selected in relation to the desired size and morphology of microcapsules as well as encapsulation efficiency and drug release mechanism.

Key words: microencapsulation, preparation methods, microspheres, microcapsules.

1 Uvod

Mikrokapsuliranje so razvili s posnemanjem procesov v naravi. Narava z ovojnico zaščiti obdani material pred vplivi okolja; najenostavnejši primer na makroskopskem nivoju predstavljata ptičje jajce in seme, na mikro-oz. nanometriškem pa celica s svojo vsebino. (1)

Razvoj postopka mikrokapsuliranja se je začel v tridesetih letih prejšnjega stoletja. Sprva so ga uporabljali v papirni industriji za pripravo brezsjajnega kopirnega papirja. Danes se omenjena tehnologija široko uporablja tudi na drugih področjih, kot so prehrabena industrija, kozmetologija, biotehnologija, medicina in farmacija. Na področju farmacije mikrokapsuliranje izrazito pridobiva na pomenu, saj omogoča zaščito vgrajene učinkovine pred vplivi okolja in njeno nadzorovano sproščanje, prekrivanje neprijetnega okusa in vonja zdravilne učinkovine, spremembo agregatnega stanja (iz tekočega v trdno), ločitev reaktivnih sestavin zmesi, izboljšanje dispergiranja v vodnem mediju netopnih zdravilnih učinkovin in pripravo bioadhezivnih oblik. Med prednostmi

mikrokapsuliranja omenjajo tudi izboljšanje biološke uporabnosti peptidov in proteinov ter ciljano terapijo. Moramo pa se zavedati, da je z ekonomskega vidika to draga tehnologija, zato je njeno uporabo potrebno tehtno utemeljiti. (2, 3, 4)

2 Mikrokapsule

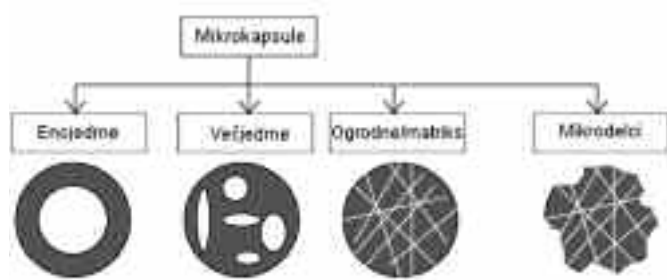
Mikrokapsuliranje je proces, pri katerem zelo drobne kapljice, trdne delce ali zračne mehurčke obdamo oz. obložimo s kontinuiranim slojem polimera, lipida ali drugih ustreznih snovi (preglednica 1). Če je velikost nastalih delcev v mikrometriškem nivoju, le-ti ustrezajo širši definiciji mikrokapsul, ki zajema s postopkom mikrokapsuliranja izdelane delce mikrometriških velikosti. Vendar lahko v literaturi zasledimo precejšnjo nedoslednost v rabi termina mikrokapsule, saj obstaja tudi ožja definicija le-teh. Slednja zajema tudi morfološke lastnosti nastalih delcev in mikrokapsule definira kot majhne, trdne delce okroglih oblik, velikosti 1-1000 (2000) μm , ki so sestavljeni iz jedra in ovojnice.

Preglednica 1: Materiali, ki so primerni za tvorbo ogrodja oz. ovojnice mikrokapsul (5).

Table 1: Materials used as matrix or coating material of microcapsules (5).

Proteini:	albumin, kazein, želatina, gluten, peptidi, sojini proteini idr.
Sladkorji in njihovi produkti:	fruktoza, galaktoza, glukoza, maltoza, saharoza, oligosaharidi, koruzni sirup, idr.
Škrob in njegovi produkti:	maltodekstrini, dekstrini, škrobi, modificirani škrobi
Gumiji:	agar, alginati, karagenani, arabski gumi, pektini idr.
Derivati celuloze:	metilceluloza, etilceluloza, karboksimetil celuloza, celulozni acetat-ftalat, hidroksipropil metilceluloza, hidroksipropil celuloza idr.
Ostali ogljikovi hidrati:	hitosan, ciklodekstrini
Lipidi:	voski, mono- in digliceridi, naravne masti in olja, frakcionirane in hidrogenirane masti, lecitin, parafin
Ostali vodotopni polimeri:	polietilen glikol, polivinil pirolidon, polivinil alkohol,
Ostali nevodotopni polimeri:	polimlečna kislina, polikaprolakton idr.

Morfološke lastnosti mikrokapsul so odvisne predvsem od sestave jedra, ki je lahko trdno, tekoče ali plinasto, in procesa izdelave. Po širši definiciji, ki jo bomo upoštevali tudi v tem prispevku, so mikrokapsule lahko tako pravilnih kot tudi nepravilnih oblik, na osnovi njihove morfološke sestave pa jih delimo na enojedrne, večjedrne in ogrodne mikrokapsule (slika 1). Pri *ogrodnem oz. matriks tipu mikrokapsul* sta mikrokapsulirana snov in ogrodni material enakomerno razporejena po celotnem volumnu delca; za takšen tip mikrokapsul je v uporabi izraz *mikrosfere*. Podobno notranjo strukturo imajo tudi *mikrodelci*, ki se od mikrosfer ločijo le po tem, da so nepravilnih oblik. Za enojedrne in večjedrne mikrokapsule, ki ustrezajo tudi ožji definiciji mikrokapsul, pa je značilno, da lahko v njihovi strukturi jasno razločimo eno ali več jeder ki ga/jih obdaja ovojnica; za poimenovanje takšnih mikrokapsul uporabljamo tudi izraz *filmski tip mikrokapsul*. (2)



Slika 1: Morfološke lastnosti mikrokapsul; vgrajena učinkovina je lahko bodisi enakomerno dispergirana po celotnem volumnu delca (*mikrosfere*) bodisi se nahaja le v jedru delca (*mono- oz. večjedrne mikrokapsule*).

Figure 1: Morphological properties of microcapsules; incorporated drug can be either homogeneously dispersed through the whole particle volume (*microspheres*) or entrapped in the microcapsule's core (*mono-core or poly-core microcapsules*).

3 Postopki izdelave mikrokapsul

Prve mikrokapsule so izdelali z metodo, imenovano *kompleksna koacervacija*, do danes pa so razvili in izpopolnili še mnogo drugih metod. Izmed teh nekatere temeljijo na popolnoma fizikalnih fenomenih, druge za tvorbo ovojnice mikrokapsul izkoriščajo reakcijo polimerizacije, mnoge pa kombinacijo omenjenih procesov. Metode mikrokapsuliranja lahko torej v grobem razdelimo na *kemijske* (medfazna polimerizacija,

polimerizacija *in situ*) in *fizikalno-kemijske* (koacervacija, oblaganje plast-na-plast, tehnologije s superkritičnimi fluidi, ohlajanje dispergirane taline in metode z odstranjevanjem topila) ter *fizikalno-mehanske* (sušenje z razprševanjem, mikrokapsuliranje na rotirajočem disku, metode (ko-)ekstruzije curka tekočine in ekstruzije talin ter mikrokapsuliranje z razprševanjem v zvrtničenih plasteh in v bobnih).

Ne glede na mehanizem nastanka mikrokapsul lahko vsako izmed metod razdelimo v tri osnovne korake: vgradnja učinkovine, oblikovanje mikrokapsul in stabiliziranje le-teh (6).

1. korak: Vgradnja učinkovine v sistem, ki bo kasneje tvoril bodisi ogrodje bodisi jedro mikrokapsule; omenjeni sistem je lahko v obliki raztopine, emulzije ali suspenzije. Ta korak lahko vključuje procese, kot so mešanje, mletje oz. drobljenje, sejanje, sušenje in dispergiranje.

2. korak: Oblikovanje (izdelava) mikrokapsul;

(a) kadar izhajamo iz tekočega ogrodja, slednjega v tej fazi dispergiramo v zraku (s postopkom kapljanja oz. ekstruzije tekočine ali s postopkom razprševanja), v drugi tekočini (postopek emulgiranja ali mikroemulgiranja) ali v superkritičnem fluidu.

(b) Kadar izhajamo iz trdnega ogrodja, na gibajoče delce slednjega razpršujemo raztopino za oblaganje (oblaganje v zvrtničenih plasteh, oblaganje v bobnih).

3. korak: Stabiliziranje/utrjevanje izdelanih mikrokapsul s kemijskimi (polimerizacija), fizikalno-kemijskimi (geliranje/premreževanje, koacervacija) ali fizikalnimi postopki (sušenje, obarjanje, strjevanje), ki vodijo v nastanek trdne farmacevtske oblike.

Reakcija *polimerizacije* se običajno uporablja za utrjevanje mikrokapsul izdelanih s kemijskimi metodami, ki so predstavljene v poglavju 3.1.

Postopek *geliranja* se uporablja za utrjevanje mikrokapsul, ki v ogrodju oz. ovojnici vsebujejo hidrofilen polimer ali protein, ki lahko tvori hidrogel. Pri kapljanju takšnega materiala v raztopino za utrjevanje (poglavje 3.3.1.), je nastanek hidrogela lahko posledica tvorbe ionskih interakcij med polimernimi verigami (npr. nastanek hidrogela pri kapljanju raztopine alginata v raztopino Ca-ionov), geliranja zaradi spremembe temperature (npr. pri ohlajanju raztopine agaroze) ali spremembe pH (geliranje raztopine hitosana v alkalnem mediju). Geliranje se izkorišča kot metoda utrjevanja mikrokapsul tudi pri postopku razprševanja termogelov (razprševanje s strjevanjem, poglavje 3.3.2.) ter pri metodah emulgiranja raztopin hidrofilnih polimerov oz. polipeptidov (poglavje 3.2.3.).

Proces koacervacije se izkorišča za utrjevanje mikrokapsul izdelanih z metodo koacervacije, ki je podrobneje opisana v poglavju 3.2.1.

Kadar oblikujemo kapljice oz. neutrjene mikrokapsule iz raztopine ogrodnega polimera in učinkovine v organskem topilu, je nastanek čvrstih mikrokapsul posledica bodisi odstranitve organskega topila (z odparevanjem ali difuzijo) bodisi dodatka netopila. V obeh primerih se začne ogrodni polimer *obarjati* in nalagati okoli učinkovine, ki jo kapsuliramo. Proces *obarjanja* se izkorišča za oblikovanje in utrjevanje mikrokapsul izdelanih na osnovi tehnologij s superkritičnimi fluidi (poglavje 3.2.2.), metode emulgiranja raztopin hidrofobnih polimerov v organskih topilih (poglavje 3.2.1.), metode sušenja z razprševanjem (poglavje 3.3.2.) ter postopkov oblaganja z razprševanjem (poglavje 3.3.4.).

Mikrokapsule lahko utrdimo tudi z znižanjem temperature, pod vplivom katere se tekoče ogrodje mikrokapsul strdi. *Proces strjevanja* se izkorišča za utrjevanje mikrokapsul, ki smo jih izdelali z uporabo talin ogrodnih materialov. Slednje lahko bodisi emulgiramo v vodnem mediju (poglavje 3.2.3), razpršujemo v hladen zrak (poglavje 3.3.2.) ali iztiskamo s pomočjo ekstrudorja (poglavje 3.3.3.).

3.1 Kemijske metode

Med najpomembnejše kemijske metode izdelave mikrokapsul uvrščamo *medfazno polimerizacijo* ter *in situ polimerizacijo*. Postopek mikrokapsuliranja z medfazno polimerizacijo se uporablja za mikrokapsuliranje tekočin. Polimerna stena mikrokapsul nastaja na mejni površini dveh faz, ki se med seboj ne mešata; v reakciji sta udeležena vsaj dva komplementarna monomera, od katerih je eden topen v hidrofilni, drugi pa v hidrofobni fazi pripravljene emulzije. Z metodo *in situ* polimerizacije pa kapsuliramo trdna ali tekoča jedra. Reakcija poteka na površini dispergiranih delcev ali kapljic, pri čemer sta monomer in katalizator prisotna v isti fazi. Rezultat je zelo čvrsta polimerna ovojnica mikrokapsul (2, 7). Zaradi možnih zaostankov monomerov in katalizatorjev se omenjene metode na področju farmacije redkeje uporabljajo.

3.2 Fizikalno-kemijske metode

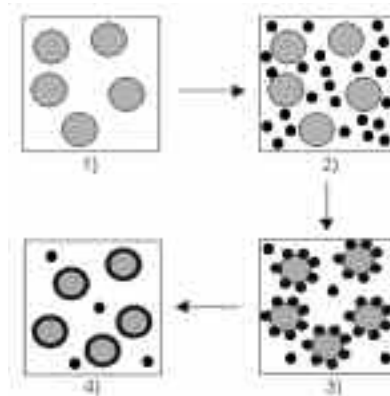
3.2.1. Koacervacija in ločitev faz

Koacervacija je proces spontane ločitve faz, ki se pojavi, kadar s spremembo temperature, pH ali z dodajanjem različnih snovi zmanjšamo topnost makromolekul v koloidni vodni raztopini. Pri tem lahko preide velika večina makromolekul v novo, s koloidom bogato fazo (tj. koacervat oz. faza z visoko koncentracijo polimera), ki je dispergirana v s koloidom revni fazi (tj. kontinuirana faza z nizko koncentracijo polimera). Stopnja koacervacije tako predstavlja vmesno stopnjo med koloidno raztopino in končno stopnjo - oborino.

Koacervati težijo k sprejemanju netopnih trdnih delcev in kapljic hidrofobnih tekočin in to njihovo lastnost so izkoristili pri izdelavi mikrokapsul z metodo koacervacije. Slednja obsega štiri faze (Slika 2): (1) *tvorba trifaznega sistema* (jedra mikrokapsul dispergiramo v raztopini polimera, ki bo nato tvoril steno mikrokapsul), (2) *indukcija koacervacije* (s spremembo temperature ali pH, dodatkom tekočine, ki sproži ločevanje faz, dodatkom soli ali inkompatibilnega polimera), (3) *tvorba ovojnice* z obdajanjem jeder s koacervatnimi kapljicami (v primeru ustrezne afinitete med jedri in koacervatom se polimer adsorbira na stični

površini med jedri in kontinuirano fazo) ter (4) *utrjevanje stene mikrokapsul* (z znižanjem temperature, spremembo pH, premreženjem ter drugimi primernimi postopki).

Pri metodi *enostavne koacervacije* je zmanjšanje topnosti polimera posledica odvzema topila molekulam polimera zaradi dodatka visoko koncentrirane raztopine soli (npr. Na_2SO_4), organskega (ne)topila (npr. etanol), inkompatibilnega polimera, ali zaradi znižanja temperature. (2, 4, 8, 9)



Slika 2: Shematska predstavitev procesa koacervacije. Dispergiranje jeder mikrokapsul v raztopini stenskega polimera (1), ločitev koacervata od raztopine (2), oblaganje jeder z mikrokapljicami koacervata (3) ter koalesciranje koacervatnih kapljic in tvorba kontinuirane ovojnice okoli jedrnih delcev (4); povzeto po: (10).

Figure 2: Schematic presentation of the coacervation process. Core material dispersion in solution of shell polymer(a), separation of coacervate from solution (b), coating of core material by microdroplets of coacervate(c) and coalescence of coacervate to form continuous shell around core particles (d); adapted from: (10).

Kada je zmanjšanje topnosti polimera posledica nevtralizacije nasprotnih nabojev dveh polimerov, pa govorimo o ti. *kompleksno koacervaciji*. Pri slednji se kot amfoterni oz. kationski polimer običajno uporablja želatina (lahko tudi albumin, kazein ipd.), kot anionski vodotopni polimer, ki po reakciji s polikationom tvori kompleksni koacervat, pa različni naravni (npr. arabski gumi, alginat, karagenani) in (pol)sintezni polimeri (npr. karboksimetil celuloza). Ovojnico tako izdelanih mikrokapsul utrdimo s kovalentim (glutaraldehyd, genipin, ipd.) ali nekovalentnim (tanini, šiškovalna kislina, pektin, arabski gumi) premreženjem želatine. Ta postopek je primeren predvsem za izdelavo kapsul s premerom 20-800 μm , ki vsebujejo 80-90 % (m/m) jedrne faze. Večinoma nastanejo kapsule s kontinuirano jedrno fazo in ovojnico, čeprav debelina slednje ni enakomerna. Njihova primernost za farmacevtsko in prehrabeno industrijo bi bila še boljša, če bi jih bilo mogoče izolirati brez uporabe kemijskih premreževal. (2, 4, 8, 9)

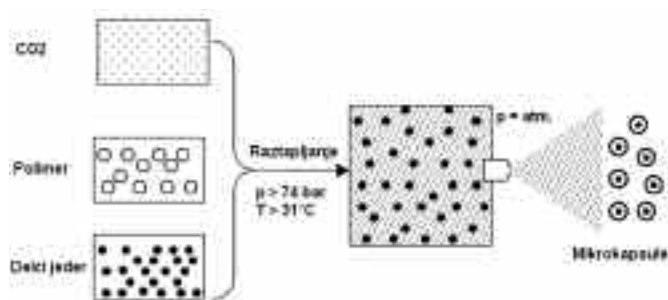
3.2.2 Tehnologije s superkritičnimi fluidi

To je relativno nova tehnologija, s katero lahko zmanjšamo uporabo organskih topil. Superkritični fluidi obstajajo nad kritično temperaturo in tlakom, kjer ne moremo razlikovati med tekočo in plinasto fazo snovi.

Njihove lastnosti so med lastnostmi tekočin in plinov; po gostoti so podobni tekočinam, po viskoznosti in stisljivosti plinom, difuzivnost in prenos mase pa sta večja kot pri tekočinah. V superkrično stanje lahko prevedemo mnoge snovi, kot so voda, propan, dušik in ogljikov dioksid. Slednji se zaradi ugodnih lastnosti uporablja najpogosteje, saj omogoča tudi izvedbo procesa pri dokaj milih pogojih (74bar, 31°C) in prenos proizvodnje na industrijski nivo. Izmed metod mikrokapsuliranja z uporabo superkričnih fluidov se najpogosteje uporabljata *metoda s hitrim razširjanjem superkričnih raztopin* in *metoda s superkričnim fluidom kot netopilom*.

Hitro razširjanje superkričnih raztopin (*»Rapid Expansion of Supercritical Solutions-RESS«*); pri tej metodi zdravilno učinkovino in ogrodni material raztopimo v superkričnem fluidu, ki ga vzdržujemo pod visokim tlakom. Tako pripravljeno raztopino nato razpršujemo skozi ozko šobo v komoro z atmosferskim tlakom. Nenaden padec tlaka povzroči odparevanje superkričnega fluida, ki se tako pretvori v bistveno slabše topilo, in obarjanje ogrodnega materiala. Le-ta se nato naloži okoli jeder učinkovine in tvori ovojico nastajajoče mikrokapsule (slika 3).

Pomanjkljivost te metode je zahteva, da morata biti tako učinkovina kot ogrodni material dobro topna v superkričnem fluidu, saj je v splošnem zelo malo primernih polimerov, ki so topni v superkričnem ogljikovem dioksidu. Topnost hidrofilnih polimerov, kot sta hidroksipropilmetil celuloza in želatina, lahko izboljšamo z dodatkom sotopil; ta povečajo topnost v superkričnem fluidu, pri atmosferskem tlaku pa se ogrodni material v njih ne raztaplja. (4, 9, 10)



Slika 3: Shematski prikaz mikrokapsuliranja z metodo s hitrim razširjanjem superkričnih raztopin (RESS); povzeto po: (4)

Figure 3: Schematic presentation of microencapsulation process by rapid expansion of supercritical solutions (RESS); adapted from: (4).

Metoda s superkričnim fluidom kot netopilom (*»Supercritical fluid Anti-Solvent-SAS«* ali *»Gas Anti-Solvent-GAS«* method); metoda je bila zasnovana na hipotezi, da je absorpcija plina v tekočino povezana z ekspanzijo le-te. V kolikor se volumen raztopine pod vplivom plina dovolj razširi, tekoča faza ni več dobro topilo za topljenec. Posledica je tvorba kristalizacijskih jeder in obarjanje topljenca. Pri SAS metodi zdravilno učinkovino in ogrodni polimer najprej raztopimo ali suspendiramo v organskem topilu. Tako pripravljeno disperzijo nato razpršujemo v superkrični fluid, ki ima vlogo netopila. Slednji povzroči ekspanzijo topila, ki vodi do obarjanja ogrodnega polimera in tvorbe mikrokapsul. Pri izbiri sestavin upoštevamo pravilo, da se morata organsko topilo in superkrični fluid (netopilo) dobro mešati in da mora biti ogrodni polimer v izbranem organskem topilu dobro topen, v zmesi le-tega s

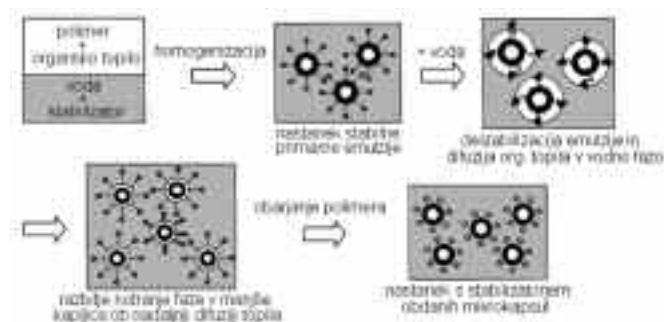
superkričnim fluidom (netopilo) pa netopen. Ker je mešanje vode s superkričnimi fluidi nezadostno, SAS metoda ni primerena za kapsuliranje vodotopnih učinkovin. (4, 9, 10)

3.2.3 Metode emulgiranja s sledečim odstranjevanjem topila oz. strjevanjem notranje faze

Metode iz te skupine temeljijo na pripravi enojnih ali dvojnih emulzij, odvisno od vodotopnosti snovi, ki jo želimo mikrokapsulirati, in ogrodnega polimera.

Pri mikrokapsuliranju hidrofobnih učinkovin v nevodotopen polimer najprej obe komponenti raztopimo v organskem topilu. Po dodatku primerne emulgatorja in vodnega medija z ustreznim postopkom izdelamo emulzijo tipa O/V. Kadar želimo v nevodotopen polimer vgraditi vodotopne učinkovine pa se poslužimo izdelave dvojnih emulzij tipa V/O/V. Po izdelavi tako enojnih kot dvojnih emulzij je dispergirane kapljice z raztopljenima polimerom in učinkovino (notranja faza emulzije) potrebno nato še pretvoriti v trdne delce. To lahko dosežemo z odparevanjem ali ekstrakcijo/difuzijo topila, v katerem je ogrodni polimer dobro topen. Glede na uporabljeni način odstranitve topila ločimo **metodo z odparevanjem topila ter metode z difuzijo topila** (slika 4); pri obeh se kot ogrodni polimer najpogosteje uporabljajo polimlečna kislina, kopolimeri polimlečne in poliglikolne kisline, polimetakrilati ipd. (11, 12, 13)

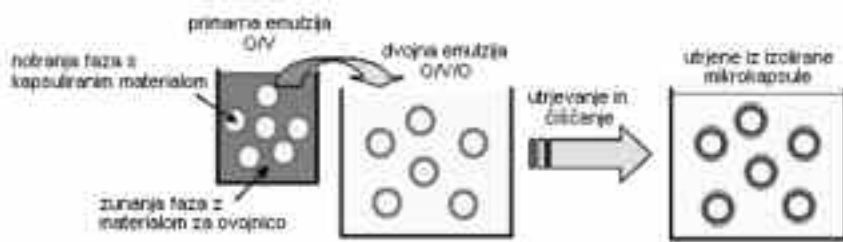
V primeru mikrokapsuliranja vodotopnih učinkovin v vodotopen polimer oz. polipeptid (želatina, alginat, pektin, albumin, hitosan, hialuronska kislina, ipd.) najprej obe komponenti raztopimo v vodni fazi, ki jo nato dispergiramo v lipofilni fazi (nastane V/O emulzija). V kolikor želimo v vodotopen polimer/polipeptid vgraditi hidrofobne učinkovine, pa izdelamo dvojno emulzijo tipa O/V/O (slika 5). Izdelavi primarne enojne ali dvojne emulzije sledi proces utrjevanja dispergiranih kapljic/mikrokapsul; hidrofilen polimer oz. polipeptid v ogrodju mikrokapsul lahko utrdimo z ustreznim postopkom premreževanja (**termično ali kemijsko premreženje, ionotropno geliranje, tvorba interpolimernih kompleksov**). (2, 9, 14)



Slika 4: Priprava mikrokapsul z emulzijsko-difuzijsko metodo, ki temelji na uporabi topil, ki se z vodo delno mešajo.

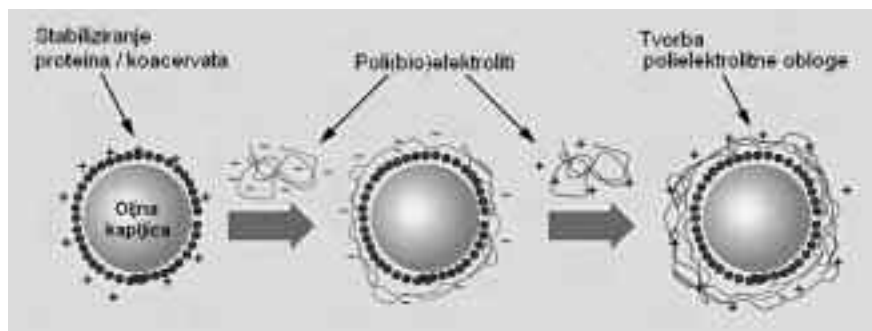
Figure 4: Preparation of microcapsules by emulsion-diffusion method based on partially water-miscible solvents.

S previdno izbiro sestave dveh nemešajočih se tekočin (npr. voda in lipid) lahko dosežemo, da bo njuna medfazna napetost zelo blizu nič. Pod takšnimi pogoji že ob rahlem stresanju nastane (mikro)emulzija oz. zelo



Slika 5: Shematski prikaz mikroenkapsuliranja hidrofobnih snovi v vodotopen polimer z dvojno emulzijsko metodo.

Figure 5: Schematic presentation of microencapsulation of hydrophobic substance into watersoluble polymer by double emulsion method.



Slika 6: Shematski prikaz mikroenkapsuliranja z metodo oblaganja plast-na-plast.

Figure 6: Schematic presentation of microencapsulation process via layer-by-layer coating.

fina disperzija z velikostjo kapljic notranje faze manjših od $1\mu\text{m}$ (**metoda mikroemulgiranja**). Poleg tega, da nastanejo že ob nizkem vnosu energije, so ti sistemi tudi zelo stabilni v primerjavi s klasičnimi emulzijami. Za utrjevanje nastalih mikrokapsul uporabljamo enake metode, kot je opisano zgoraj.(6)

Pri **mikrokapsuliranju z ohlajanjem dispergirane taline** lipidno fazo segrejemo nad temperaturo tališča lipida, v njej raztopimo oz. dispergiramo učinkovino in ji dodamo na enako temperaturo segreto vodno raztopino stabilizatorja. Zmes nato pri konstantni temperaturi ($\sim 5^{\circ}\text{C}$ nad tališčem lipida) homogeniziramo (npr. z rotor-stator homogenizatorjem). Dispergiranje je odvisno od dovedene energije, zato je potrebno optimizirati čas in hitrost mešanja. Z ohlajanjem nastale O/V emulzije taline lipida v vodni raztopini stabilizatorja omogočimo otrditev lipidnih kapljic in nastanek trdnih mikrokapsul. (15, 16)

Emulgiranje v mikroporoznih membranskih sistemih je novejša metoda, ki omogoča nadzorovano izdelavo emulzij ter trdnih delcev mikro- in nano-metrskih velikosti. Osnova procesa je potiskanje notranje faze skozi mikropore membrane v zunanjo fazo, pri čemer nastane (dvojna) emulzija z ozko porazdelitvijo velikosti kapljic. Uporabnost metode je široka, saj lahko emulgirane kapljice nadalje izpostavimo sekundarnim procesom kot so polimerizacija, odparevanje, liofilizacija, strjevanje itd. in tako izdelamo zelo različne trdne delce. (17)

3.2.4 Oblaganje plast-na-plast

Ena od metod izdelave mikrokapsul je tudi oblaganje plast-na-plast (angl. *layer-by-layer*), ki temelji na zaporedni adsorpciji nasprotno nabitih komponent na trdno površino, kar omogoča natančen nadzor nad sestavo in debelino obloge do nekaj nanometrov. Relat tega postopka je obloga, ki jo sestavlja več plasti polimernih molekul, stabiliziranih z močnimi elektrostatskimi vezmi. Najprimernejši so polielektroliti, ki se elektrostatsko vežejo na oblaganec (slika 6). Prvi sloj se veže neposredno na površino oblaganca, zato mora imeti naboj, nasproten naboju oblaganca. Pri oblagancu, ki ima manjšo sposobnost za tvorbo

elektrostatskih interakcij, pride po prvih nanosih do t. i. okrepljene površinske funkcionalnosti, saj se na površino oblaganca s šibkejšim nabojem veže plast polielektrolitov, ki imajo na voljo več skupin za vezavo naslednje plasti. (18)

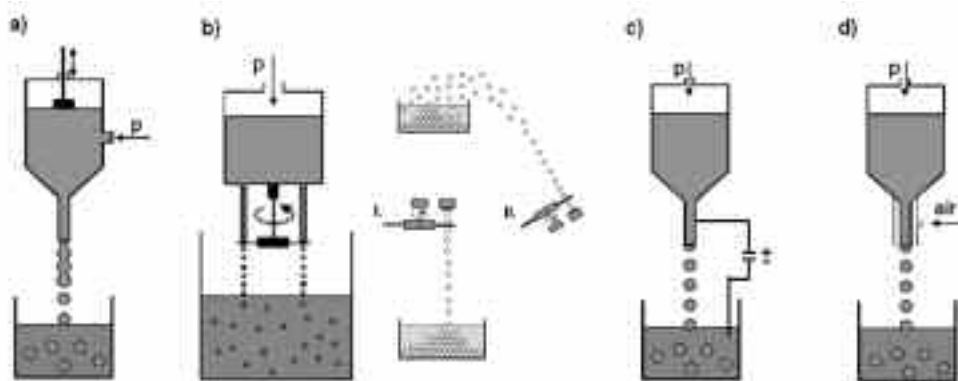
3.3 Fizikalno-mehanske metode

Pri mehanskih metodah kapsuliranja je nastanek mikrokapsul predvsem posledica mehanskega delovanja in ne toliko dobro definiranih fizikalnih ali kemijskih pojavov. Številne metode oblaganja in sušenja z razprševanjem se rutinsko uporabljajo v industriji. V laboratorijskem merilu pa se za izdelavo mikroser in mikrokapsul pogosto uporablja ekstruzija raztopin polimera skozi šobe.

3.3.1 Metode ekstruzije curka tekočine

Metode ekstruzije curka tekočine so osnovane na principu razbitja laminarnega curka tekočine v enako velike kapljice z uporabo različnih tehnik. Medtem ko pri enostavnih metodah ekstruzije črpamo raztopino ogrodnega polimera skozi enojno šobo, pa v primeru ti. ko-ekstruzije uporabljamo koncentrično šobo, pri čemer fazo z jedrnim materialom črpamo skozi notranjo, fazo z ogrodnim materialom pa skozi zunanjo šobo. Laminaren curek tekočine nato razbijemo v drobne kapljice (tj. neutrne mikrokapsule) z uporabo različnih tehnik. Ovojnico nastalih mikrokapsul nato utrdimo s termičnim/kemijskim premreženjem, ohlajanjem, odparevanjem topila ali drugimi primernimi postopki.

Pri **metodi z vibrirajočo membrano** se laminaren curek tekočine razbije v enakomerno velike kapljice pod pod vplivom nihanja membrane, ki se nahaja nad šobo enkapsulatorja. Nastale kapljice oz. mikrokapsule nato potujejo skozi električno polje; pri tem se njihova površina nabije, kar privede do odbojnih sil med mikrokapsulami, ki preprečujejo njihovo zlepljanje med padanjem v raztopino premreževala (slika 7a). S spreminjanjem procesnih spremenljivk (velikost šob, hitrost pretoka raztopin, amplituda in frekvenca nihanja membrane) in lastnosti jedrnega ter ogrodnega materiala lahko pripravimo mikrokapsule različnih



Slika 7: Shematska slika naprav za enkapsuliranje z metodo z vibrirajočo membrano (a), „jet cutter“ metodo; z normalnim postopkom-I in postopkom z mehkim pristankom kapsul-II (b), elektrostatsko ekstruzijo (c) in s ko-aksialnim tokom zraka (d).

Figure 7: Schematic presentation of devices for encapsulation by vibrating nozzle method (a), jet cutter-operated in the normal mode-I and in the soft-landing mode-II (b), electrostatic extrusion (c), and co-axial air flow (d).

velikosti. Velika prednost tega postopka je nastanek mikrokapsul z ozko porazdelitvijo velikosti (najpogosteje v območju od 100–5000 μm) in možnost izdelave v aseptičnih pogojih. Smo pa pri tej metodi omejeni z viskoznostjo tekočine, ki ne sme biti previsoka. Omenjena metoda se je izkazala kot primerna tudi za mikrokapsuliranje samo-mikroemulgirajočih sistemov v ogrodje iz Ca-alginata in Ca-pektinata. (19, 20, 21)

Uporabo visoko viskoznih tekočin nam omogoča »**jett cutter**« metoda, ki ima v primerjavi z metodo z vibrirajočo membrano tudi večjo kapaciteto proizvodnje. Pri tej metodi laminaren curek tekočine razbijemo s pomočjo vrtečega kolesja z rezalnimi žičkami, ki prekinjajo tok tekočine. Pri tem nastajajo mikrokapsule cilindrične oblike, ki se zaradi površinske napetosti oblikujejo v sferične mikrokapsule, ki jih nato utrdimo (slika 7b). Z »jett-cutter« metodo lahko mikrokapsuliranje izvajamo na dva načina in sicer po ti. *navadnem postopku* ter po ti. *postopku z mehkim pristankom*. Oba postopka se razlikujeta v krivulji leta nastalih mikrokapsul proti raztopini za utrjevanje; pri navadnem postopku mikrokapsule padajo navpično navzdol, pri postopku z mehkim pristankom pa jih usmerimo diagonalno navzgor, s čimer močno zmanjšamo njihovo hitrost ob padcu v raztopino za utrjevanje. Poleg krivulje leta na lastnosti mikrokapsul vplivajo tudi procesne spremenljivke, kot so hitrost vrtenja kolesja, število rezalnih žičk, hitrost pretoka tekočin skozi šobo in premer šob. (22)

Nastanek mikrokapsul je lahko tudi posledica razbitja curka tekočine pod vplivom delovanja elektrostatskih sil. **Elektrostatska ekstruzija** (slika 7c) je kot metoda mikrokapsuliranja primerna zlasti takrat, ko želimo izdelati zelo majhne mikrokapsule. Na velikost ter na naboj na površini slednjih lahko vplivamo z ustrežno izbiro procesnih parametrov (hitrost pretoka, velikost šobe, električna napetost, ipd.), lastnostmi raztopine ogrodnega polimera ter celotnega sistema. Nizka produktivnost je glavna pomanjkljivost te metode, ki ovira njeno uporabo v industriji; z izboljšanjem slednje se trenutno ukvarja več raziskovalnih skupin. (23, 24)

Podobno kot elektrostatska ekstruzija tudi **metoda s ko-aksialnim tokom zraka** temelji na tvorbi posameznih mikrokapsul na površini šobe. Raztopino ogrodnega materiala dovajamo skozi notranjo šobo, medtem

ko skozi zunanjo pod tlakom dovajamo zrak ali dušik. Na izhodu koncentrične šobe tok zraka prekinja tok tekočine, pri čemer se tvorijo mikrokapsule, ki jih je nato potrebno še učvrstiti (slika 7d). Tudi pri tej metodi je velikost nastalih mikrokapsul odvisna predvsem od hitrosti pretoka tekočine in velikosti šobe ter hitrosti pretoka zraka. V nasprotju z metodo z vibrirajočo membrano ter »jett-cutter« metodo elektrostatska ekstruzija ter metoda s ko-aksialnim tokom zraka nista primerni za proizvodnjo v večjem merilu. (22)

3.3.2 Metode z razprševanjem

Sušenje z razprševanjem (»spray drying«) je cenovno ugoden enostopenjski proces, ki omogoča mikrokapsuliranje trdnih in tekočih snovi. Jedrno fazo najprej dispergiramo v vodni ali nevodni raztopini ogrodnega materiala. Nastalo disperzijo nato skozi šobo razpršujemo v sušilno komoro s krožečim vročim zrakom (slika 8). Disperzijo lahko razpršujemo bodisi v smeri pretoka vročega zraka (ti. sotočno razprševanje, ki se uporablja zlasti za kapsuliranje termolabilnih spojin) bodisi proti toku zraka (ti. protitočno razprševanje, ki sušečim mikrokapsulam omogoča, da se dlje časa zadržijo v sušilni komori). Zaradi izhlapevanja topila se komponente ovojnice strjujejo na delcih jedra, posledica česar je nastanek bodisi večjedrnih mikrokapsul bodisi mikrosfer.

Sušenje z razprševanjem se uporablja predvsem za mikrokapsuliranje snovi v živilski industriji, farmaciji, kozmetiki in v agrokulturi. V nadaljevanju poglavja se bomo osredotočili predvsem na razprševanje vodnih raztopin, z uporabo katerih se izognemo tudi težavam povezanim z zaostanki topil v produktu. Zaradi hladilnega učinka izparevanja vode ter hitrega procesa sušenja je metoda pod določenimi pogoji primerna tudi za kapsuliranje termolabilnih snovi, saj je temperatura vzorca dokaj nizka (pod 100°C). Rezultati sušenja z razprševanjem so močno odvisni od lastnosti uporabljenih snovi, kot so vodotopnost, molekulska masa, kristaliničnost, temperature steklastega prehoda in sposobnost emulgiranja ter tvorbe filma. V literaturi kot primerne materiale za tvorbo ogrodja mikrokapsul navajajo naravne gumije (arabski gumi, natrijev alginat, karagenani), proteine (sojini, sirotkini, želatina), ogljikove hidrate (maltodekstrini, škrob in derivati celuloze) ter nekatere lipide (26). Na

lastnosti produkta, kot so velikost delcev, izkoristek vgradnje ter vsebnost zaostalih topil, lahko vplivamo tudi s spreminjanjem razmerja med jedrom in ovojnico (pogosto 1:4), z nadzorovanjem velikosti kapljic po razprševanju, s temperaturo vhodnega (150-220°C) in izhodnega (50-80 °C) zraka ter s časom zadrževanja mikrokapsuliranega materiala v komori (običajno 5-100 s). Velikost nastalih mikrokapsul je običajno med 10-400 µm z vsebnostjo kapsulirane snovi med 5-50%. Prednost te metode je predvsem v tem, da je to široko dostopna tehnologija, ki omogoča kontinuirano, enostavno, hitro in cenovno ugodno proizvodnjo mikrokapsul. Vendar se je potrebno zavedati, da je potrebno celoten postopek optimirati za vsako učinkovino posebej ter da je profil sproščanja iz tako izdelanih mikrokapsul težko nadzorovati. (9, 25, 26)

Razprševanje s strjevanjem («spray congealing», «spray cooling» in «spray chilling») lahko izvajamo v isti aparaturi kot sušenje z razprševanjem, s to razliko, da v komoro namesto vročega zraka dovajamo hladen oz. mrzel zrak. Jedro fazo dispergiramo v talini ogradnega materiala. Tako pripravljeno talino nato razpršujemo v hladno komoro, pri čemer se nastale kapljice strdijo, jedrni material pa ostane ujet v notranjosti mikrokapsul. Pri tej metodi mikrokapsuliranja se kot ogradni material uporabljajo dve skupini spojin; hidrofilni polioksigliceridi, nekateri poloksameri, polietilenglikoli z molskimi masami med 2000 in 20000 in estri polietilenglikolov ter hidrofobni voski, gliceridi in maščobne kisline. Primerni so materiali, ki so pri sobni temperaturi trdni, ob tem pa nimajo previsoke temperature tališča (običajno med 45 in 75 °C) in viskoznosti v talini. Za izdelavo mikrokapsul z metodo razprševanja s strjevanjem ne potrebujemo topila, kar je bistvena prednost te metode. Slednja je tako primerna zlasti za mikrokapsuliranje učinkovin, ki so bodisi termolabilne bodisi občutljive na hidrolizo ter v primerih, ko se želimo izogniti uporabi organskih topil. Izdelamo lahko tako trdne kot mehke neporozne mikrokapsule z velikostjo med 20 in 2000 µm. (10, 26)

Mikrokapsuliranje na rotirajočem disku prav tako uvrščamo med metode priprave mikrokapsul s pomočjo razprševanja. Pri tej metodi visokotlačno šobo nadomestimo z rotirajočim diskom (slika 8b). Trdna jedra, ki jih želimo mikrokapsulirati, suspendiramo v talini ali raztopini materiala za oblaganje. Suspenzijo nato dovajamo na rotirajoči disk, kjer poteka oblaganje jeder. Zaradi delovanja centrifugalne sile se obložena jedra in presežen material za oblaganje pomikajo proti robu diska in se v končni fazi od njega tudi ločijo. Sledi faza utrjevanja mikrokapsul, običajno s procesom ohlajanja. Ta tehnologija je hitra, enostavna ter

cenovno ugodna. Optimalne pogoje kapsuliranja zagotovimo z izbiro sferično oblikovanih jeder, velikih med 100 in 150 µm, ter obloge, ki jo je mogoče utrditi s hitrim ohlajanjem. (4, 26)

3.3.3 Mikrokapsuliranje z iztiskanjem talin

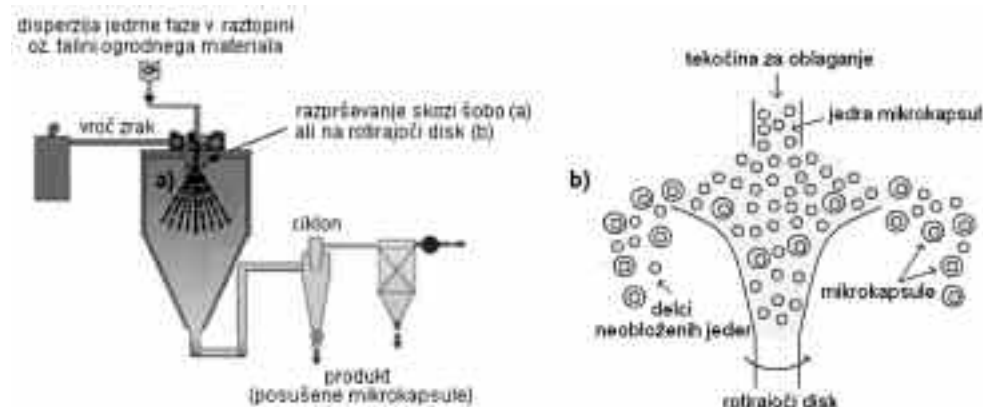
Bistvena ideja v ozadju mikrokapsuliranja z iztiskanjem oz. ekstruzijo talin je tvorba taline, v kateri je učinkovina dispergirana ali raztopljena. Med pomikanjem začetna zmesi ogradnega materiala in učinkovine skozi napravo za iztiskanje (ekstrudor) poteka mešanje, stiskanje ter taljenje zmesi in nazadnje iztiskanje taline skozi šobo. Po ohlaiditvi se ta masa ponovno strdi, pri čemer ostane učinkovina ujeta v notranjost nastalih delcev. Za iztiskanje se najpogosteje uporabljajo različni polimeri, predvsem polietilenglikoli (PEG) in polivinilpirolidoni (PVP), mono-, di- in trigliceridi ter derivati celuloze (HPMC, HPC).

Delce izdelane z iztiskanjem talin uvrščamo v zgornji velikostni razred mikrokapsul, med katere po širši definiciji mikrokapsul uvrščamo tudi pelete. Za izdelavo slednjih se pogosto uporablja metoda iztiskanja s krogličanjem, ki je služila tudi kot osnova za razvoj postopka mikrokapsuliranja z iztiskanjem talin. Tehnologije s talinami so na področju farmacije sicer že dobro uveljavljene in so že bile podrobneje predstavljene v Farmaceutskem vestniku (27).

3.3.4 Oblaganje z razprševanjem

Pri oblaganju z razprševanjem razpršujemo oblogo v obliki koloidne raztopine ali suspenzije (lahko tudi taline) na trdna jedra z učinkovino, ki rotirajo v komori za oblaganje. Trdna jedra so lahko tudi nevtralna (npr. sladkorne pelete) in jih oblagamo z učinkovino v obliki raztopine, suspenzije ali prahu («layering»). Naprave za oblaganje delcev razdelimo na bobne za oblaganje («pan coaters») in na naprave, ki temeljijo na tehnologiji z vrtnčenjem («fluid bed coating»).

Mikrokapsuliranje z razprševanjem («Fluid bed coating»); zračni tok vzdržuje delce jedra v zvrtnčenem stanju, ki je podobno gibanju tekočin. Skozi šobo (eno ali dvo-kanalno) razpršujemo raztopino (ali talino) substance za oblogo, ki obda jedra (optimalna velikost je med 50 in 500 µm). Mikrokapsule s kompaktno ovojnico nastanejo pod vplivom bodisi toplega zraka, ki odpari topilo za ogradni polimer, bodisi hladnega zraka, ki povzroči strjevanje taline v primeru oblaganja s talinami. Odvisno od komore razpršujemo raztopino/talino za oblaganje od zgoraj



Slika 8: Shematski prikaz mikrokapsuliranja z metodo sušenja z razprševanjem; osnovno disperzijo lahko v komoro razpršujemo skozi visokotlačno šobo (a) ali na ti rotirajoči disk (b).

Figure 8: Schematic presentation of microencapsulation by spray technologies; feed dispersion is atomized into a chamber with high pressure nozzle (a) or rotating disk (b).

(»top spray«), spodaj (»bottom spray«-Wursterjeva komora) ali od strani (»tangential spray«-rotorska komora). (28, 29)

Mikrokapsuliranje v bobnih (»Pan coating«) je eden najstarejših industrijskih procesov izdelave majhnih, obloženih delcev ali tablet. Metoda je primerna za oblaganje večjih delcev. Trdna jedra, ki jih želimo obdati z ovojnico oz. mikrokapsulirati, damo v vrteči se boben, nakar nanje dovajamo raztopino polimerov za oblaganje. Ovojnico tako izdelanih mikrokapsul utrdimo s postopkom sušenja s toplim zrakom. Pri tem nastanejo mikrokapsule oz. pelete, ki so večje od 600 µm in jih uvrščamo v zgornji velikostni razred mikrokapsul. (8, 28)

6 Sklep

Z razvojem tehnologij mikrokapsuliranja in novih izdelkov na osnovi mikrokapsul se intenzivno ukvarja veliko število raziskovalnih skupin. Posledično lahko v strokovni literaturi zasledimo naraščanje števila znanstvenih publikacij s tega področja (30). Prav tako hitro narašča tudi število podeljenih patentov (30), kar priča o intenzivnem razvoju tega področja tako na znanstvenem kot tudi industrijskem nivoju.

Kot je razvidno iz prispevka, obstaja mnogo različnih metod mikrokapsuliranja, vendar le-te niso univerzalno uporabne za vgradnjo različnih učinkovin oz. jedernih faz. Pri razvoju novega mikronosilca za določeno učinkovino je zato pomembno, da dobro poznamo fizikalno-kemijske lastnosti učinkovine oz. jedrne faze (vodotopnost, viskoznost, termična stabilnost) ter nato na osnovi le-teh izberemo ustrezno metodo izdelave mikrokapsul in primerno ogrodno snov. Izbira ustrezne metode je v veliki meri odvisna tudi od fizikalnega stanja učinkovine oz. jedrne faze ter želene velikosti in morfoloških lastnosti mikrokapsul. Z izbiro metode izdelave in ogrodnega materiala so povezani tudi učinkovitost vgradnje jedrne faze, mehanizem in profil sproščanja vgrajene učinkovine ter kapaciteta in stroški proizvodnje mikrokapsul.

Izdelava mikrokapsul je zahteven tehnološki proces, ki se že vse od konca petdesetih let prejšnjega stoletja neprestano izpopolnjuje ter prilagaja vedno širšemu področju uporabe. Rezultati dolgoletnega dela so vidni vse okoli nas, mikrokapsuliranje pa je postalo tipičen primer hitro razvijajoče se tehnologije z visokim deležem znanja.

7 Literatura

- Hemsley AR, Griffiths PC. Architecture in the microcosm: Biocolloids, self-assembly and pattern formation. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser.* 2000; 358, 547-564.
- Park K, Yeo Y. Microencapsulation technology. In: Swarbric A. (Ed.). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3rd Ed. Vol 4. Informa healthcare. New York 2007: 2315-2327.
- Benita S. *Microencapsulation methods and industrial applications* 2nd ed. Taylor & Francis Inc, New York, 2006.
- Ghosh SW. Functional coatings in microencapsulation: a generale perspective. In: Ghosh S.W. (Ed.) *Funcional coatings*, Wiley-VCH Verlag, 2006.
- Benita S. *Microencapsulation : methods and industrial applications*. Marcel Dekker, Inc, New York, 1996.
- Poncelet D. Microencapsulation: fundamentals, methods and applications. In: J.P. Blitz and V.M. Gun'ko (Eds.), *Surface chemistry in biomedical and environmental science*, Springer, Netherlands 2006: 23-34.
- Dubey R, Shami TC, Bhasker Rao KU. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal* 2009; 59(1): 82-95.
- Bogataj M, Kristl A, Mrhar A, Kozjek F. Postopki priprave in kontrole mikrokapsul. *Farm Vestn* 1988; 39(4): 239-252.
- Gouin S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci Tech* 2004; 15: 330-347.
- Jyothi NVN. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency: a review. *The Internet Journal of Nanotechnology* 2009; 3(1).
- Freitas S, Merkle HP, Gander B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *J Cont Rel* 2005; 102: 313-332.
- Li M, Rouaud O, Poncelet D. Microencapsulation by solvent-evaporation: state of the art for process engineering approaches. *Int J Pharm* 2008; 363: 26-39.
- Obeidat WM. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using the emulsion solvent removal methods. *Recent Patentes on Drug Delivery & Formulation* 2009; 3: 178-192.
- Pavli M, Vrečer F, Baumgartner S. Interpolimerni komplekski. *Farm Vestn* 2008; 59(3): 121-127.
- Gombač K, Šentjurc M, Ahlin Grabnar P et al. Oblikovanje trdnih lipidnih nanodelcev in proučevanje interakcij z modelno membrano. *Farm Vestn*. 1999; 50(3): 417-424.
- Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles-production, characterization and applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 47: 165-196.
- Zvonar A, Ahlin Grabnar P, Kristl J. Emulgiranje v mikroporoznih membranskih sistemih. *Farm Vestn* 2006; 57(3): 183-188.
- Dolenc A, Kristl J. Razvoj polielektrolitne nanoobloge na mikrodelcih učinkovine. *Farm Vestn* 2008, 59(5): 273-277.
- Pluess-Wenzinger R, Widmer F, Heinzen C, Brandenberger H. Method and device for capsulating microbial, plant and animal cells or biological and chemical substances. EP1062032. Inotech AG. 2000.
- Homar M, Šuligoj D, Gašperlin M. Preparation of microcapsules with self microemulsifying core by a vibrating nozzle method. *J Microencapsulation* 2007; 24: 72-81.
- Zvonar A, Berginc K, Kristl A, Gašperlin M. Microencapsulation of self-microemulsifying system: Improving solubility and permeability of furosemide. *Int J Pharm* 2010; 1-2: 151-158.
- Prüsse U, Bilancetti L, Bučko M. et al. Comparison of different technologies for alginate beads production. *Chemical Papers* 2008; 62(4): 364-374.
- Manojlovic V, Djonlagic J, Obradovic B et al. Immobilization of cells by electrostatic droplet generation: a model system for potential application in medicine. *Int J Nanomedicine* 2006; 1(2): 163-171.
- Jaworek A. Electrostatic micro- and nanoencapsulation and electroemulsification: a brief review. *J Microencapsulation* 2008; 25(7): 443-468.
- Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International* 2007; 40: 1107-1121.
- Zuidam NJ, Shimon E. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. V: Zuidam N.J., Nedovic V.A. (Ur.): *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. Springer, 2009, pp: 3-29.
- Homar M, Gašperlin M, Kerč J. Tehnologije s talinami/Hot melt technologies. *Farm Vestn* 2003; 54: 697-703.
- Burgess DJ, Hickey AJ. Microsphere technology and applications. In *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3rd Ed. Vol 4. Informa healthcare. New York 2007: 2315-2327.
- Luštrik M, Dreu R, Srčič S. Primerjava in razvoj naprav za oblaganje delcev. *Farm Vest* 2010; 61(3): 155-161.
- Boh B. Developpements et applications industrielles des microcapsules. In: Vandamme T.F. (Ed.). *Microencapsulation: des sciences aux technologies*. Paris, Lavoisier, 2007, pp.9-22.