

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Charakterizace laktózy metodou diferenciální skanovací kalorimetrie

Mgr. Markéta Stoklasová
Školitel: Doc. RNDr. Milan Řehula, CSc.
Hradec Králové, 2006

Děkuji Doc. Milanu Řehulovi, CSc. a paní Lence Svobodové za odborné vedení, pomoc při práci a poskytnutí studijních materiálů a literatury.

OBSAH:

1. Úvod	4
2. Teoretická část	5
2.1. Laktóza	5
2.1.1. Charakterizace laktózy	5
2.1.1.1. Vlastnosti laktózy	6
2.1.1.2. Výroba laktózy	6
2.1.1.3. Nežádoucí účinky laktózy	7
2.1.1.4. Inkompatibility laktózy	7
2.1.1.5. Stabilita a uchovávání laktózy	8
2.1.1.6. Použití laktózy	8
2.1.1.7. Druhy laktózy	8
2.1.2. Kalorimetrické hodnocení laktóz	10
2.2. Diferenciální skanovací kalorimetrie	12
2.2.1. Charakterizace metody	12
2.2.2. DSC termogramy	13
2.2.3. Faktory ovlivňující DSC termogramy	15
2.2.3.1. Vliv vzorku	15
2.2.3.2. Vliv rychlosti ohřevu a množství vzorku	15
2.3. Úkol práce	17
3. Experimentální část	18
3.1. Použité suroviny	18
3.2. Použité přístroje	19
3.3. Postup práce	23
3.3.1. Příprava vzorků	23
3.3.2. Vlastní měření	24
4. Tabulky a obrázky	27
4.1. Vysvětlivky k tabulkám a obrázkům	27
4.2. Tabulky	28
4.3. Obrázky	34
5. Diskuse	50
6. Závěr	53
7. Literatura	54

1. ÚVOD

Termoanalytickými metodami zkoumáme fyzikální a chemické vlastnosti látek a jejich změny v závislosti na čase a teplotě podle určitého teplotního programu. Z hlediska hodnoceného kritéria fyzikálních vlastností látek je dělíme na metody termické analýzy a kalorimetrické metody. Metody termické analýzy sledují změny objemu, hmotnosti, délky, deformace vzorku při zatížení, dále změny elektrických, optických, magnetických a akustických vlastností či změny uvolňování radioaktivního plynu. U kalorimetrických metod se hodnotí teplotní rozdíl, množství tepla nebo tepelný tok provázející hodnocený proces. Podle stanoveného teplotního programu dělíme termoanalytické metody na dynamické, kdy se sledují změny vlastností látek při stoupající či klesající teplotě a statické, při kterých je vzorek vystaven konstantní teplotě.

Ve farmaceutické technologii se z termoanalytických metod uplatňují více metody kalorimetrické, především roztoková a diferenciální skanovací kalorimetrie. Roztoková kalorimetrie je využívána k hodnocení procesů, které probíhají v kapalném prostředí a jsou tepelně zabarvené. Diferenciální skanovací kalorimetrie se používá k charakterizaci samotných léčivých a pomocných látek a výsledných lékových forem. Umožňuje kontrolu kvality a čistoty léčivých a pomocných látek, jejich identifikaci, kvantifikaci, studuje jejich stabilitu, interakce, kompatibilitu, polymorfismus i fázové přechody.

Cílem této rigorózní práce bylo porovnání kalorimetrických charakteristik tří druhů laktózy analytické čistoty pomocí metody diferenciální skanovací kalorimetrie.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. LAKTÓZA ^{1,2)}

2.1.1. Charakterizace laktózy ^{3,4)}

Latinský název: Lactosum
Lactosum monohydricum

Synonymum: Lactosum anhydricum
Monohydrát laktosy

Chemický název, CAS: O-β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-α-D-glukopyranosa anhydrát či
O-β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-β-D-glukopyranosa anhydrát,
[63-42-3]
O-β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-α-D-glukopyranosa monohydrát,
[5989-81-1]

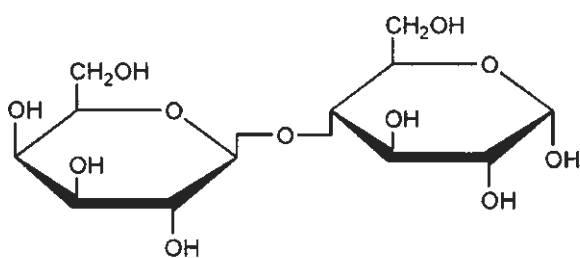
Empirický vzorec: C₁₂H₂₂O₁₁

Molekulová hmotnost: 342.30 (anhydrát)

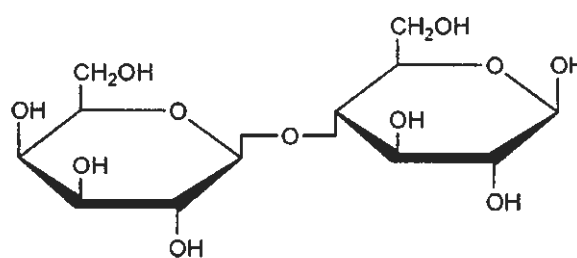
C₁₂H₂₂O₁₁.H₂O

360.31 (monohydrát)

Strukturní vzorec:



α-lactose



β-lactose

2.1.1.1. Vlastnosti laktózy

Laktóza je bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, který je snadno, ale pomalu rozpustný ve vodě a prakticky nerozpustný v lihu 96 %.^{3,4)} Je bez zápachu a má slabě nasládlou chuť. Stupeň sladkosti činí u α -laktózy přibližně 15 % sladkosti sacharózy, kdežto β -laktóza je sladší než α -forma.

Teplota tání: 201 – 202°C u monohydrátu α -laktózy
223°C u anhydrátu α -laktózy
252,2°C u anhydrátu β -laktózy

Sypný úhel: 31 - 47° podle velikosti částic

Zdánlivá hustota: 1,540 g/cm³ u monohydrátu α -laktózy
1,589 g/cm³ u anhydrátu β -laktózy

Sypná hustota: 0,34 – 0,80 g/cm³

Setřasná hustota: 0,41 – 0,95 g/cm³

Skutečná hustota: 1,552 g/cm³

Hygroskopicitata: monohydrát laktózy je stabilní na vzduchu a není ovlivněn vlhkostí při pokojové teplotě. Avšak amorfni forma v závislosti na charakteru sušení může být ovlivněna vlhkostí a konvertována na monohydrát..

Obsah vlhkosti: anhydrát laktózy obsahuje do 1 % vody a monohydrát laktózy přibližně 4,5 – 5,5 % krystalické vody.

2.1.1.2. Výroba laktózy⁵⁾

Laktóza je přírodní disacharid tvořený galaktózou a glukózou, který je obsažen v mléce většiny savců. Pro průmyslové účely se laktóza získává ze syrovátky kravského mléka po odstranění mléčného tuku a kaseinu. Kravské mléko obsahuje 4,4 – 5,2 % laktózy, což je asi 38 % sušiny.

Surový cukr představuje monohydrát α -laktózy, který je získáván ze syrovátky zahuštěním, částečným odpařením a krystalizací. Pro výrobu farmaceuticky používaných druhů laktózy je surový cukr následně přečištěn rekrystalizací. V závislosti na teplotě krystalizace se získávají odlišné typy laktózy. Alfa-laktóza je vyráběna krystalizací z přesyceného roztoku pod teplotou 93,5°C, kdežto β -laktóza krystalizuje z roztoku nad touto teplotou.

Komerčně dostupná β -laktóza obsahuje obvykle 70 % β -formy a 30 % α -formy. Jiné druhy obsahující větší množství β -formy jsou rovněž k dispozici. Alfa-laktóza se používá jako monohydrát, ale existují i bezvodé formy, které mohou být hygroskopické. Pro přípravu těchto nestabilních hygroskopických forem je nutné použít speciální metody sušení. Avšak takto zpracovaná laktóza není prakticky používána a ani není běžně dostupná.

Monohydrát α -laktózy je též připravován speciálními krystalizačními metodami, čímž se zvyšuje jeho lisovatelnost oproti druhům připravených běžnými metodami. Amorfni a skelná forma laktózy je v laktóze přítomna tehdy, je-li buď sušena rozprašováním suspenze nebo je-li lyofilizována. Tento nekystalický podíl rovněž způsobuje zlepšení lisovatelnosti.

2.1.1.3. Nežádoucí účinky laktózy

Nežádoucím účinkem laktózy je tzv. laktózová intolerance, která se vyskytuje u osob s deficitem střevního enzymu laktázy. Následkem toho laktóza není trávena., a to vede k abdominálním křečím, průjmům, distenzi a flatulenci. Tyto symptomy jsou způsobeny osmotickým efektem neabsorbované laktózy, která zvětšuje množství vody a sodíku ve střevě. Neabsorbovaná laktóza je pak v tlustém střevě fermentována střevní flórou, která produkuje plyny, jenž způsobují abdominální distenzi a diskomfort.

U novorozenců je enzymu laktázy dostatek, ale toto množství velmi rychle klesá. Malabsorpce laktózy se tedy může objevit ve velmi raném věku 4 – 8 let a jinak výrazně u jednotlivých etnických skupin.

U osob tolerujících laktózu se v tenkém střevě pomocí enzymu laktázy hydrolyzuje laktóza na glukózu a galaktózu, které jsou potom absorbovány. V případě intravenózní aplikace je laktóza vyloučena v nezměněné formě.

Test laktózové intolerance je založen na měření hladiny glukózy v krvi a množství značeného vodíku ve vydechovaném vzduchu. Vzhledem k tomu, že základem testu je příjem 50g dávky laktózy, je jeho užitečnost diskutabilní. Přibližně u 10 – 20 % osob netolerujících laktózu byly ve dvou studiích prokázány symptomy intolerance již po příjmu 3 – 5g laktózy. V jedné z těchto studií 75 % osob trpělo symptomy po příjmu 12g laktózy. Ve druhé studii se u osmi ze třinácti osob objevil průjem po aplikaci 20g laktózy a u devíti osob ze třinácti po příjmu 25g laktózy.

Nižší dávky laktózy způsobují méně nežádoucích účinků a když je přijímána s ostatní potravou, je lépe tolerována. Důvodem je existence podstatné části populace s laktózovou malabsorpcí, která může trávit normální množství laktózy, např. v mléce, bez rozvoje významných nežádoucích účinků.

Ačkoliv množství přijaté laktózy jako pomocné látky v perorálních lékových formách je menší než při konzumaci příslušné potravy, byly po podání farmaceutických přípravků obsahujících laktózu hlášeny případy léky navozeného průjmu z důvodu laktózové intolerance.

2.1.1.4. Inkompability laktózy

Mezi laktózou a sloučeninami s primární aminoskupinou se projevuje Maillardův typ kondenzační reakce v podobě hnědavého zbarvení produktu. Tato reakce se častěji vyskytuje u amorfni forem než u krystalické laktózy. Sprejově sušený materiál, který obsahuje kolem 10 % amorfni laktózy, je tedy náchylný k barevné změně. Tato reakce je katalyzována bázemi, proto použití alkalických mazadel proces urychluje. U laktózy se může vyvinout žlutohnědé zbarvení i v nepřítomnosti aminů, především u sprejově sušeného materiálu, kde je zřejmě příčinou tvorba 5-hydroxymethyl-2-furfuralu.

Laktóza je inkompabilní s aminokyselinami, aminofylinem a amfetaminem.

2.1.1.5. Stabilita a uchovávání laktózy

Během skladování se může u laktózy objevit hnědé zbarvení. Tato reakce je urychlena zahřátím a vlhkostí. Čistota různých laktóz může kolísat a stupeň zbarvení se stává důležitým, jde-li o výrobu bílých tablet. Barevná stabilita je rovněž odlišná u různých druhů laktóz. Relativní vzdušná vlhkost vyšší než 80 % může zapříčinit výskyt plísně. Z nasycených roztoků β -laktózy dlouhodobým stáním precipitují krystaly α -laktózy.

Laktóza by měla být skladována v dobře uzavřených nádobách na chladném a suchém místě.

2.1.1.6. Použití laktózy

Laktóza se obecně používá jako plnivo nebo diluent u tablet, želatinových tobolek a omezeně u lyofilizovaných přípravků a kojenecké výživy.

Různé druhy laktózy jsou k dispozici s odlišnými fyzikálními vlastnostmi jako je např. velikostní distribuce částic a sypnost. To umožňuje výběr nejvhodnějšího materiálu pro konkrétní použití. Obvykle jemnější druhy se používají u přípravy tablet pomocí vlhké granulace nebo při nutnosti mletí během výroby, neboť menší částice umožňují lepší smísení s jinými složkami receptury a efektivnější využití pojiva. Dále se laktóza uplatňuje ve funkci nosiče či diluentu u inhalačních přípravků a u lyofilizovaných lékových forem, kde je přidávána do roztoků sušených mrazovou sublimací.

Všeobecně vzato, volba vhodného druhu laktózy závisí na typu lékové formy, která má být vyrobena. Přímě lisovatelné druhy umožňují výrobu tablet obsahujících malé množství léčivé látky bez předchozí granulace. Tento druh se oproti krystalické a práškové laktóze vyznačuje lepší sypností i lisovatelností a je tvořen sprejově sušenými laktózami, které obsahují speciálně připravený monohydrát α -laktózy s malým podílem amorfni formy. Amorfni laktóza zlepšuje lisovatelnost laktózy. Jiné speciálně vyrobené druhy laktózy pro přímě lisování neobsahují amorfni formu, ale mohou obsahovat skelné nebo slinuté oblasti, jež také zlepšují lisovatelnost.

Přímě lisovatelné druhy se mohou kombinovat s mikrokrytalickou celulórou nebo škrobem, což obvykle vyžaduje přítomnost mazadla, např. 0,5 % stearanu hořečnatého. Použití přímě lisovatelných druhů laktózy dodává tabletám vyšší pevnost než v případě použití standardní laktózy. Koncentrace laktózy obvykle užívané v těchto recepturách se pohybuje od 65 – 85 %. Může být použito i nižší množství sprejově sušené laktózy, ale jen když je nahrazeno pregelatinizovaným škrobem.

2.1.1.7. Druhy laktózy

Laktóza existuje ve dvou isomerních formách, alfa a beta, a může být buď krystalická nebo amorfni. Krystalická α -laktóza se vyskytuje v podobě monohydrátu a anhydrátu, kdežto krystalická β -laktóza pouze v bezvodé formě. Čistá amorfni laktóza se komerčně nevyužívá a je obecně přítomna v různých množstvích v upravených formách laktózy.

Monohydrát α -laktózy může být zpracován pomocí dehydratace na bezvodou formu α -laktózy nebo sušením rozprašením na sprejově sušenou formu nebo granulací na aglomerovanou formu. Všechny tyto typy mají odlišné vlastnosti.

Monohdrát α -laktózy

Monohdrát α -laktózy obsahuje jednu molekulu vody, což odpovídá 5 % krystalické vody. Toto plnivo se obvykle používá v práškové formě pro výrobu tablet cestou vlhké granulace. Z důvodu dobré sypanosti mohou být pro přímé lisování použity hrubé, pravidelné a odsítované krystalické frakce monohdrátu α -laktózy. Ve srovnání s ostatními plnivy – pojivy má poměrně slabé pojivové vlastnosti. V praxi se monohdrát α -laktózy velmi často používá v kombinaci s mikrokrytalickou celulózu, což zkracuje dobu rozpadu a zvyšuje pevnost tablet.

Anhydrát α -laktózy

Pojivová schopnost monohdrátu α -laktózy se zvyšuje dehydratací krystalů termickou nebo chemickou cestou. V průběhu dehydratace dochází k tvorbě agregátů bezvodé α -laktózy z jednotlivých krystalů monohdrátu α -laktózy. Anhydrát α -laktózy se velmi zřídka používá samostatně při přímém lisování z důvodu nevyhovující rozpadavosti tablet, proto je běžná jeho kombinace s Avicelm

Anhydrát β -laktózy

Anhydrát β -laktózy je tvořen aglomeráty jemných krystalů, které vznikají sušením rozprášeného roztoku monohdrátu α -laktózy a následným síťováním. Komerční produkty obsahují asi 80 % anhydrátu β -laktózy a zbytek je anhydrát α -laktózy. Obsah vody je menší než 0,5 %. Anhydrát β -laktózy je určen pro přímé lisování a není hygroskopický, takže je ideální pomocnou látkou pro léčiva citlivá na vlhkost.

Sprejově sušená laktóza

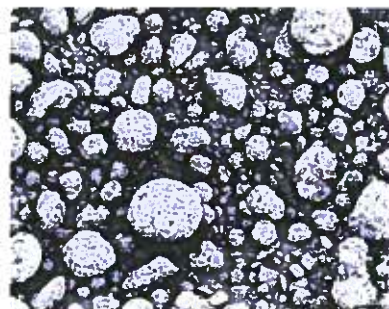
Sprejově sušený monohdrát α -laktózy se vyrábí pod označením Super-Tab a je určen speciálně pro přímé lisování. V tabletách se většinou používá v 15 % koncentraci. Komerčně dostupné produkty sprejově sušené laktózy obsahují asi 15 – 20 % amorfní laktózy a 80 – 85% monohdrátu α -laktózy. Super-Tab má malou citlivost na účinek mazadel.

Aglomerovaná laktóza

Granulací monohdrátu α -laktózy se zlepšují jeho pojivové vlastnosti. Tablettosa, vyráběná firmou Meggle, je téměř zcela tvořena agregáty krystalů monohdrátu α -laktózy a neobsahuje žádnou amorfní laktózu. Její dobrá sypanost je poněkud negativně ovlivněna rozsahem velikostní distribuce částic a vysokým podílem jemných částíček.



Laktóza monohydrát



Sprejově sušená laktóza

2.1.2. Kalorimetrické hodnocení laktóz

Roztoky laktózy a sacharózy sušené rozprášením poskytly amorfní pevné látky, které se lišily od jejich krystalických protějšků v DSC charakteristikách a v chování při příjmu vody. Pro měření byl použit přístroj DSC Mettler TC 3000 a rychlosti ohřevu 5, 10 a 25°C/min. Příjem vody amorfní laktózou snižoval hodnotu T_g , která se pohybovala kolem teploty 104°C. Hodnoty T_g byly také ovlivněny rychlostí zahřívání během měření. U monohydrátu laktózy pak byly patrné píky při teplotě 150°C – dehydratace, 173°C – krystalický stav a 220 až 230°C – krystalizace α - a β -formy.⁶⁾

Pomocí infračervené spektroskopie a DSC byly u vzorků lyofilizované laktózy a sacharózy určeny v rozmezí teploty 20 – 300°C a obsahu vody 0 – 6,3 % hodnoty T_g a krystalizace. K hodnocení byl použit přístroj DSC 7 Perkin Elmer a rychlost ohřevu 3°C/min. Se zvyšujícím se obsahem vody klesala hodnota T_g od 93,2 – 97,3°C k 26,8 – 33,8°C i hodnota krystalizace od 154,0 – 162,6°C k 72,3 – 78,3°C.⁷⁾

Metodou DSC byl zkoumán vliv přírodní koncentrace na fyzikální formy laktózy sušené rozprášením. V rozmezí teploty 30 – 250°C a s rychlostí ohřevu 20°C/min byl použit přístroj DSC 7 Perkin Elmer. Různost přírodní koncentrace během sušení rozprášením vedla k produktům s odlišným podílem amorfní a krystalické formy, např. přírodní koncentrace 10g/100ml vedla ke 100 % amorfní laktóze. Beta-laktóza nebyla detekována, buď protože nebyla přítomna nebo byla přítomna v nedetekovatelných množstvích. Teplota tání α - laktózy byla 216°C a hodnota T_g kolem 120°C.⁸⁾

K určení hodnot T_g a rychlosti krystalizace amorfní laktózy byl při konstantním obsahu vody použit přístroj DSC Mettler TA 4000 v rozmezí teploty od -20°C do 110°C v závislosti na umístění T_g a T_p a rychlost ohřevu byla 5°C/min. Krystalizace zvyšovala množství vody ve zbylé amorfní oblasti, což snižovalo hodnotu T_g a urychlovalo krystalizaci.⁹⁾

Pět různých druhů laktózy – „anhydrous“, „medium“, „regular“, „crystals“ a „foremost“ - byly smíchány s mikronizovaným salbutamol sulfátem (67,5 : 1) a charakterizovány různými metodami. K určení krystalické formy byl použit přístroj DSC Mettler TA 4000 v rozmezí teploty 25 – 250°C a s rychlostí ohřevu 10°C/min. „Anhydrous“ a „medium“ vykazovaly nejefektivnější doručení salbutamol sulfátu oproti ostatním druhům. „Medium“, „regular“ a „crystals“ měly termogram stejný s α -laktózou monohydrátem – při 150°C dehydratace a kolem 200°C tání α -laktózy. „Foremost“ měl nepatrně vyšší teplotu dehydratace a „anhydrous“ malou endotermu při 120°C a teplotu tání při 240°C.¹⁰⁾

V této práci byla zkoumána vhodnost infračervené spektroskopie a DSC ke sledování změn amorfni a krystalické formy laktózy při různých podmínkách skladování. K hodnocení byl použit přístroj DSC 7 Perkin Elmer, rychlost ohřevu 10°C/min a teplotní rozsah 40 – 240°C. Na termogramu sprejově sušené laktózy byl patrný exotermní pík při 117°C – krystalizace, endotermní při 138°C – dehydratace a při 215°C a kolem 220°C – tání α - a β -laktózy. Skladováním při relativní vlhkosti 58 % po 44 hodin došlo ke snížení teploty dehydratace na 128°C i teploty krystalizace. ¹¹⁾

Přístrojem DSC IB Perkin Elmer bylo určeno teplo potřebné k uvolnění a odpaření vody z krystalické α -laktózy monohydrátu a z amorfni laktózy: 12,3+/-0,7 a 10,8+/-0,5 kcal/mol. Před hodnocením v teplotním rozmezí 0 – 260°C a s rychlostí ohřevu 10°C/min byly vzorky laktózy vystaveny 70 % relativní vlhkosti při 23°C s prodlužujícím se časovým intervalem. Čím déle byly vzorky vystaveny působení vlhkosti, tím více se termogram podobal čistému monohydrátu α -laktózy: při 144°C – dehydratace, při 223°C – tání α -laktózy a při 232°C – tání β -laktózy. ¹²⁾

Pro výpočet množství krystalické vody ve vzorcích byl použit přístroj DSC 20 Mettler a rychlost ohřevu 10°C/min. Hodnoceny byly vzorky anhydrátu a monohydrátu α -laktózy a vzorky sušené a krystalické β -laktózy, které byly buď neupravené nebo uchovávané po určitou dobu při různé relativní vlhkosti. Pík dehydratace byl kolem 132 – 140°C, pík tání α -laktózy kolem 220°C a β -laktózy kolem 235°C. ¹³⁾

V této práci byly pomocí přístroje DSC Du Pont Thermal Analyzer 990 s rychlostí ohřevu 10°C/min také hodnoceny různě upravené vzorky monohydrátu α -laktózy: píky při 143, 164, 175 a 212°C, vzorky bezvodé α -laktózy: píky při 211 a 224°C a vzorky β -laktózy: pík při 237°C. S prodlužováním doby mletí nebo lisování docházelo ke snižování teploty tání. ¹⁴⁾

K určení hodnot Tg sprejově sušené laktózy skladované při 0, 11, 22 nebo 33% relativní vlhkosti byl použit přístroj DSC Mettler TA 3000 v rozmezí teploty 25 – 250°C a rychlostí ohřevu 10°C/min. Se zvyšujícím se obsahem vlhkosti klesala hodnota Tg od 104,0°C k 41,5°C. ¹⁵⁾

Pomocí DSC byl zkoumán skelný přechod u amorfni laktózy a laktózy lyofilizované s trehalózou v poměru 80:20, 70:30 a 60:40. V rozmezí teplot od 40°C pod předpokládanou hodnotou Tg po 150 – 200°C a s rychlostí ohřevu 10°C/min byl použit přístroj DSC Mettler TA 4000. Přítomnost trehalózy neovlivnila hodnoty Tg, ale opozdila krystalizaci laktózy. ¹⁶⁾ Ke stejným výsledkům se dospělo i v této studii použitím analogického postupu při hodnocení Tg u amorfni laktózy a laktózy lyofilizované s trehalózou pouze v poměru 80:20. ¹⁷⁾

Použitím přístroje DSC 30 Mettler TA 4000 a rychlosti ohřevu 10°C/min byly porovnány hodnoty Tg laktózy hydrolyzovaného mléčného prášku (HMP) s Tg hodnotami ostatních zkoumaných mléčných prášků (MP). Vzorky byly skladovány při 11% relativní vlhkosti. Hodnoty Tg u HMP byly výrazně menší (36°C) než u ostatních zkoumaných MP (kolem 62°C). ¹⁸⁾

Metoda DSC byla použita též ke zkoumání interakcí léčivo – pomocná látka a následně jejich stability. ^{19,20,21)} Laktóza může být hodnocena i metodou izotermální DSC k určení její kinetiky krystalizace. ^{22,23)} Ke stanovení malých množství amorfni laktózy ve vzorku je možné použít techniku izotermální mikrokolorimetrie ^{13,24)}, hyper-DSC ²⁵⁾ nebo modulated-DSC ^{26,27)}.

2.2. DIFERENCIÁLNÍ SKANOVACÍ KALORIMETRIE

2.2.1. Charakteristika metody

Diferenciální skanovací kalorimetrie existuje ve dvou základních provedeních. Jedná se o DSC s tepelným tokem a DSC s výkonovou kompenzací. V prvním případě je principem metody měření teplotního rozdílu mezi vzorkem a srovnávací látkou. U kalorimetrické metody DSC s výkonovou kompenzací je teplota vzorku udržována izotermní s teplotou srovnávací látky. Množství tepla potřebné k udržení izotermních podmínek je pak zapisováno v závislosti na čase nebo teplotě. Měří se tedy elektrický příkon potřebný k udržení izotermních podmínek.^{28,29)}

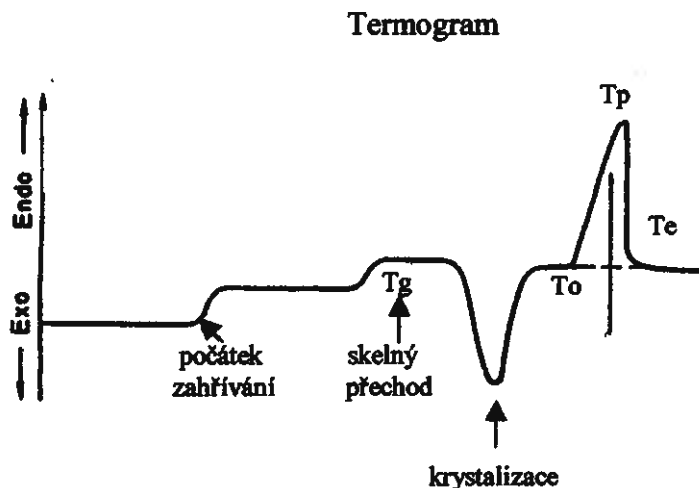
Základními principy DSC přístrojů jsou dva termostaty, které jsou lineárně vyhřívány. Jeden z nich obsahuje misku s analyzovaným vzorkem, druhý misku se srovnávací látkou. Pokud nedojde k žádné změně ve struktuře či chování vzorku při zahřívání, miska se vzorkem i srovnávací látkou má během zahřívání stejnou teplotu. Avšak proběhne-li u vzorku určitá exotermní či endotermní změna, např. vzorek začne tát, objeví se rozdíl teplot mezi oběma miskami a přístrojem dodávaná vyrovnávací energie je využita vzorkem tak, aby byla na obou miskách udržena konstantní teplota.

Každé DSC zařízení poskytuje shodné informace, a to tepelný tok jako funkci teploty a času. Tvar píku, citlivost a rozlišení pak závisí na základních principech měření a specifikaci zařízení. K měření se používají vzorky o velmi malých (miligramových) hmotnostech a umísťují se do kapslí nejčastěji vyrobených z hliníku. Pro sledování teplotního průběhu mohou být přímo v kapslích zabudované senzory. Pro kalibraci za vyšších teplot se běžně užívá indium, kyselina benzoová nebo naftalen, na nižší teploty pak voda nebo cyklohexan. Použití konkrétních látek při kalibraci je určeno normou podle níž DSC měření probíhá. Často jsou u nás používány normy německé, francouzské nebo mezinárodní. Pro DSC měření jsou to normy DIN 51 007, NFT 51-507 a ISO 11357-3.

Metoda DSC je v oblasti farmacie velmi využívána, především s rozvojem vysoce automatizovaných přístrojů, které umožňují měření reakčních tepel, tepel fázových přechodů či měření tepelných toků a jejich změn při charakteristických teplotách. Mezi výhody DSC patří použití nejen výše zmíněného malého množství vzorku, ale i široký teplotní interval, pohybující se od záporných hodnot až k vysokým teplotám, mnohdy až 1200 – 1500°C a dostatečná přesnost měření. DSC umožňuje charakterizovat výchozí suroviny, léčivé a pomocné látky i výsledné lékové formy. U léčivých a pomocných látek se provádí kontrola kvality a čistoty, identifikace a kvantifikace látek nebo směsí, studuje se kompatibilita, stabilita, skelný přechod, hodnotí se přechody mezi polymorfními a amorfními formami atd. Použití DSC se v dnešní době začíná uplatňovat i při výzkumu lékových forem s cílenou distribucí.³⁰⁻³⁵⁾

2.2.2. DSC termogramy

Výstupem DSC měření jsou kalorimetrické křivky, neboli termogramy. U polymorfního a pseudopolymorfního stavu se vyskytují tři typy a u amorfního typ jeden. Obrázek zachycuje typický DSC termogram.



Amorfní stav

Tuhé látky bez krystalické struktury, s méně pravidelným uspořádáním, se nazývají látky amorfní. Vyznačují se neuspořádaným stavem. Amorfní stav se považuje za podchlazenou kapalinu, v případě lékových směsí se může jednat o tuhé roztoky. Je charakterizován teplotou skelného přechodu (T_g), pod touto teplotou jsou amorfní látky ve sklovité podobě. Amorfní stav se může vyskytovat samostatně, ale zároveň může být součástí krystalických stavů. Lze jej získat lyofilizací nebo sušením. Látka, která se vyskytuje v tomto stavu, se vyznačuje vysokou reaktivitou a způsobuje problémy se stabilitou. Obecně amorfní stav má sklon k přechodu do krystalického stavu v přítomnosti vlhkosti. Tento děj je exotermní. Nicméně některé látky jsou schopny i přechodu opačného, z krystalického do amorfního stavu. Ve sklovitém stavu mohou amorfní látky podstoupit skelný přechod následovaný krystalizací, která se na DSC křivce projeví jako exotermní pík., který je následován endotermním píkem, znázorňujícím tání vzniklých krystalů. V některých případech nemusí ke krystalizaci vůbec dojít.

Polymorfní stav

Polymorfie je schopnost některých látek vyskytovat se v různých krystalických stavech. U polymorfních forem se setkáváme se dvěma pojmy – enantiotropií a monotropií. Enantiotropní formy jsou schopny přecházet z jedné formy do druhé oběma směry, zatímco přechod u monotropních forem probíhá pouze jednosměrně. V případě monotropie je vždy stářejší ta forma, která má vyšší teplotu tání. Co se týče enantiotropie, je termodynamicky stářejší forma s nižší teplotou tání při teplotách pod hodnotou pokojové teploty, při teplotách vyšších jsou stářejší formy s vyššími teplotami tání. Bod přechodu u enantiotropních forem se může lišit vlivem použití různých rozpouštědel.

U polymorfního stavu můžeme DSC křivky rozdělit na tři základní typy:

1) Typ 1 – Před bodem tání výše tající formy se vyskytuje přechod jedné polymorfní formy ve druhou. Tento přechod je exotermní u monotropních a endotermní u enantiotropních forem. Při srovnání s výsledky z termogravimetrie (TG) nebyly zjištěny ztráty hmotnosti. Tento přechod může být v blízkosti hlavního přechodu jako je to např. u penicilaminu, zatímco tolbutamid má tento přechod daleko před hlavním přechodem.

2) Typ 2 – U některých látek se vyskytují dva body tání. Po tání níže tající formy rostou z taveniny krystaly s vyšší teplotou tání. Tento růst vyvolává exotermní pík na DSC křivce, poté následuje endotermní pík výše tající formy. S takovou křivkou se můžeme setkat u monotropních a enantiotropních forem. Vzorkem může být čistá látka i směs. K předcházení špatné interpretace těchto křivek je vhodné porovnávat výsledky s TG hodnocením daného vzorku. TG potvrzuje silný rozklad během prvního tání, vznikající degradační produkt potom rekrystalizuje a taje při vyšší teplotě. Mohou také vznikat izomery, ty však odhalí až následná analýza získaného produktu, která dovolí přesnou interpretaci těchto křivek.

3) Typ 3 – U tohoto typu má každá krystalová forma svůj pík tání a nevyskytuje se žádná přeměna mezi modifikacemi.

U typu 2 a 3 nelze dělat žádné závěry týkající se stability při pokojové teplotě z jednoho DSC snímání, v těchto případech je důležité provést další studie.

Pseudopolymorfní stav

Krystalické formy, na jejichž struktuře se podílejí cizorodé složky, označujeme jako pseudopolymorfní formy. Pokud je cizorodou složkou molekula vody, označujeme takové formy jako hydráty, jestliže jde o molekuly jiného rozpouštědla, jedná se o solváty.

Jako v případě polymorfních látek se u pseudopolymorfních nalézají také tři typy křivek:

1) Typ 1 – Desolvatace nebo dehydratace se v pevném stavu projeví endotermním píkem. Pozice a energie tohoto píku závisí na fázovém diagramu látky, rozpouštědla a stabilitě pevné složky. DSC a TG jsou užitečné zejména ve studiu hydrátů při dehydrataci při nízkých teplotách.

2) Typ 2 – K desolvataci nebo dehydrataci dochází během tavení nebo až po tavení solvátu. V takových případech první taje solvát a rozpouštědlo je odstraňováno z tekuté fáze. Pozorovaný exotermní pík je opět způsoben krystalizací volného rozpouštědla a následuje jej endotermní pík tání vzniklých krystalů. V některých případech se může tání solvátu a desolvatace pevné fáze překrývat.

3) Typ 3 – U solvátů, které mají stejné složení, může existovat několik polymorfních forem. Popsáno to bylo např. u oxazepamu, nitrofurantoinu, succinylsulfathiazolu. Polymorfismus solvatovaných forem je častý a některé přechody jsou enantiotropní. Po srovnání bezvodé formy s křivkou získanou z proměření hydratované formy byl objeven navíc jeden pík. Ten znázorňoval dehydrataci pevné fáze, kterou následovaly ekvivalentní přechody mezi jednotlivými polymorfními formami, které byly shodné s bezvodým vzorkem. Rozdíl byl nalezen u vzorku připraveného krystalizací z vody, který měl stejný pík pro dehydrataci, ale byla odhalena nová polymorfní forma. Při studování hydrátů by se mělo počítat s několika stupni dehydratace a výsledky by měly být porovnávány s termogravimetrickým hodnocením, které nám pomůže v přesnějším odhalení dehydratačních kroků.

2.2.3.. Faktory ovlivňující DSC termogramy

Výstupy DSC měření významně ovlivňují experimentální faktory jako rychlost ohřevu, množství vzorku a také vlastnosti vzorku.

2.2.3.1. Vliv vzorku

Velikost částec, přítomnost nečistot, tvar krystalků a polymorfni jádra jsou hlavními faktory, které mohou ovlivňovat kinetiku přechodů.

Amorfní stav

Skelný přechod amorfni forem je velmi ovlivněn nečistotami, které hrají roli ve změkčování. Amorfní formy jsou silně hygroskopické, přijímají vlhkost, která snižuje teplotu skelného přechodu a tím i teplotu krystalizace. Skelný přechod je silně závislý na množství vody, proto je obecně doporučováno hodnoty skelných přechodů nejprve hodnotit pomocí DSC a po odstranění rozpouštědla amorfni bezvodý vzorek opět proměřit a porovnat výsledné křivky.

Polymorfni stav

Nečistoty mají vliv i na polymorfni formy. Za účelem potvrzení této domněnky byl připraven vzorek analyzované látky s nečistotou a proměřen na DSC. Při porovnání s křivkou čisté látky byla odhalena nová metastabilní forma, která se u čistého vzorku nevyskytovala. Nečistoty snižují teploty tání a mění tvar píku.

Pseudopolymorfni stav

Je významným faktorem u tohoto stavu částic, které ovlivňují začátek desolvatace nebo dehydratace.

2.2.3.2. Vliv rychlosti ohřevu a množství vzorku

Přímý vliv na DSC termogramy má rychlost ohřevu a množství vzorku.

Amorfní stav

Signál skelného přechodu je úměrný rychlosti ohřevu, proto je lepší vyšší rychlost. Obecně je vhodné provést několik cyklů za účelem odstranění vlhkosti a termální historie. Naopak pro krystalizaci a tavení jsou lepší pomalé rychlosti k umožnění kvantitativního přechodu mezi jednotlivými formami.

Polymorfní stav

Z obecného hlediska má rychlost ohřevu silný vliv na kinetiku a rozlišení dvou píků. Velké rychlosti znemožňují krystalizaci výše tajících forem z taveniny a je zaznamenán pouze pík pro níže tající formy. Při střední rychlosti ohřevu je pík tavení níže tající formy následován píkem tavení výše tající formy. Při pomalých rychlostech ohřevu je znázorněn i exotermní pík zachycující krystalizaci výše tající formy. Dalším významným faktorem je množství vzorku. Menší vzorky mají lepší rozklad a urychlují přechod. Nevýhodou pomalých rychlostí je, že se některé vzorky mohou rozkládat při teplotách, které ještě nedosáhly teploty tání vzorku. Takto může vzniknout produkt, který pak může rušit vlastní hodnocení. S tím se setkáváme např. při měření pod atmosférou vzduchu. U současných přístrojů se tomuto předchází použitím atmosféry dusíku. Dalším problémem je možnost neobjevení se přechodu mezi jednotlivými polymorfními formami, jestliže se tento přechod vyznačuje nízkou entalpií. V těchto případech snížení rychlosti ohřevu vede k totální přeměně na výše tající formu bez odhalení na křivce. K tomuto se vztahuje Burgerovo pravidlo pro entalpii tavení. Pokud má výše tající forma nižší entalpii tavení, jsou obě formy enantiotropní, a jestliže má entalpii vyšší, jsou monotropní.

Pseudopolymorfní stav

U tohoto stavu má vliv i typ kapslí. V hermeticky uzavřených kapslích zůstává odpařované rozpouštědlo, které nemůže unikát. Jestliže nedojde pod tlakem k otevření kapsle, na křivkách je pozorován pík tavení solvátu. Pokud se v kapsli udělá nepatrný otvor na víčku, rozpouštědlo může unikát a DSC křivka bude závislá na rychlosti ohřevu a proudění plynu. Přítomnost rozpouštědla kolem krystalu v atmosféře kapsle může indikovat vznik metastabilních forem. Toto je příčinou rozdílů mezi křivkami získanými z měření vzorků v kapsli hermeticky uzavřené a v kapsli s otvorem nebo otevřené. Úprava rychlosti ohřevu, velikosti vzorků a použití derivovaných křivek může odhalit překrývající se kroky desolvatace a dehydratace.³⁶⁾

2.3. ÚKOL PRÁCE

V rámci kalorimetrického hodnocení pomocných látek na katedře farmaceutické technologie byl úkol této práce rozčleněn na tyto dílčí problémy:

- 1) Výběr vzorků laktózy, výběr parametrů laktózy a parametrů kalorimetrického stanovení
- 2) Kalorimetrické hodnocení vzorku β -laktose
- 3) Kalorimetrické hodnocení vzorku D-Lactose
- 4) Kalorimetrické hodnocení vzorku α -laktose-Supelco
- 5) Komplexní hodnocení testovaných vzorků laktózy.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. POUŽITÉ SUROVINY

Všechny testované vzorky použité v této práci jsou analytické čistoty:

β-laktose ...	β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4) β -D-glucose Milk sugar $C_{12}H_{22}O_{11}$ M_r 342.3 [5965-66-2] min. 99 % as total lactose L 3750 firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany ³⁸⁾
D-Lactose monohydrate ...	4-O- β -D-galactopyranosyl-D-glucose, β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucose Milk sugar $C_{12}H_{22}O_{11}\cdot H_2O$ M_r 360.31 [64044-51-5] 61339 BioChemika Ultra, ≥ 99.5 % (HPLC) firma Fluka Chemie GmbH, Switzerland
α-laktose-Supelco ...	4-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-glucose, β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucose Milk sugar $C_{12}H_{22}O_{11}\cdot H_2O$ M_r 360.31 [5989-81-1] 47287-U ampule of 500 mg firma Supelco, USA ³⁷⁾

3.2. POUŽITÉ PŘÍSTROJE ^{39,40)}

DSC 200 PC (Netzsch-Geratebau GmbH, Selb, Germany)

Jedná se o diferenciální skanovací kalorimetr s tepelným tokem, kde principem je měření teplotního rozdílu mezi vzorkem a srovnávací látkou. Vzorek a srovnávací látka jsou vystaveny určitému kontrolovanému teplotnímu programu a v závislosti na teplotě je pak DSC přístrojem zaznamenáván rozdíl energie dodané do obou materiálů. Přístroj umožňuje použití v tepelném rozsahu od -150°C až do $+600^{\circ}\text{C}$. Kalorimetrická citlivost je $4 - 4,5 \mu\text{V/mW}$ (pro Indium). Ke kalibraci se používá Indium s typickým píkem při teplotě tání $156,65^{\circ}\text{C}$.

Jednotlivé součásti přístroje DSC 200 PC:

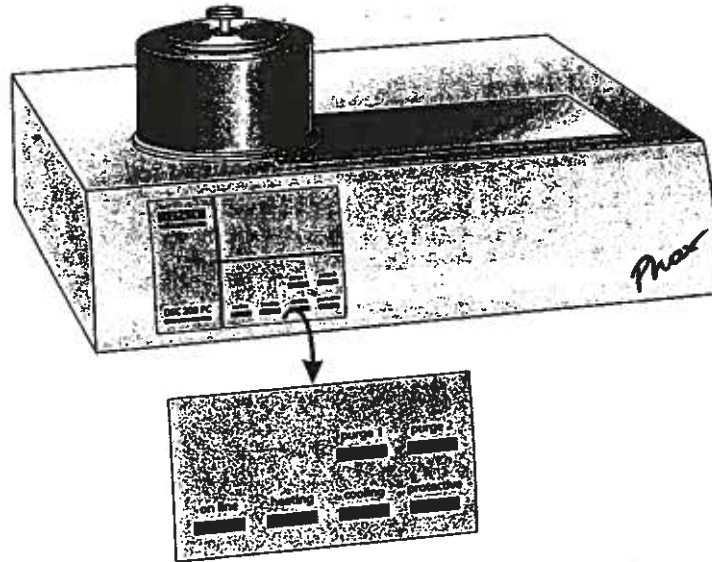
- 1) Dewarova nádoba na tekutý dusík
- 2) Měřicí jednotka – DSC 200 PC (6.240.6-129H), jejíž součástí je:
 - pec, kterou tvoří stříbrný blok s topným tělesem s dvojitými stěnami
 - termočlánek na měření teploty zabudovaný ve stěně pece
 - komora se senzorem tepelného toku, která se zavírá dvěma stříbrnými víčky a vrchním víkem a do které se vkládají vzorky
 - chlazení tekutým dusíkem, do komory je dále veden plynný dusík, kde má čistící efekt, a do stěny vyhřívací pece, kde má efekt ochranný
- 3) Zařízení na kontrolu průtoku plynů (6.240.6-40.0)
- 4) LN_2 chladič (6.351.13) s manuálním ovládáním přívodu plynu
- 5) DSC 20 PC „Phox“ software s PC.

Měřicí jednotka

DSC 200 PC
Components

NETZSCH

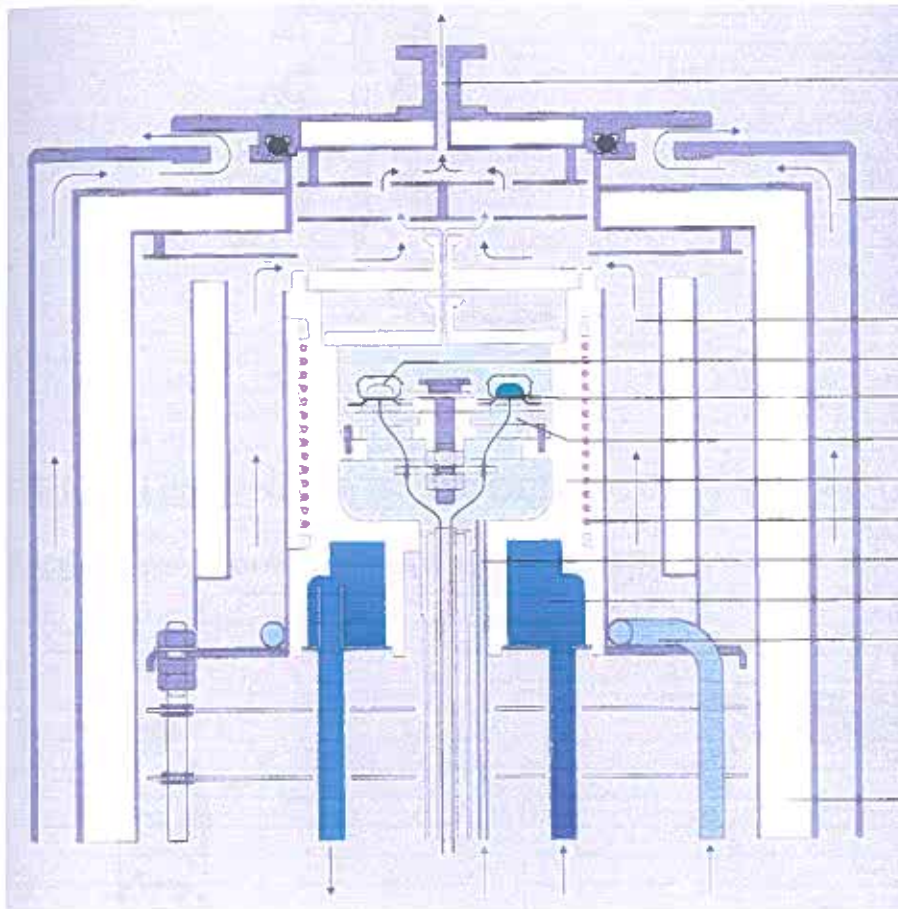
Front panel of the measuring unit



label	function		
on line	control LED:	power supply	"on/off"
heating	control LED:	furnace heating	"on/off"
cooling	control LED:	cooling	"on/off"
protective	control LED:	protective gas purging	"on/off"
purge 1	control LED:	purge gas 1 (sample chamber)	"on/off"
purge 2	control LED:	purge gas 2 (sample chamber)	"on/off"

Back of the measuring unit

Pec



výstup plynu

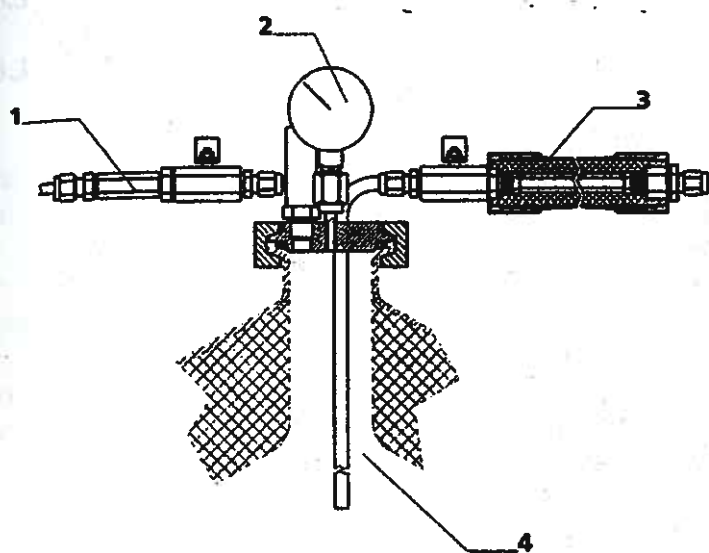
chladící vzduch

chránící plyn
referenční vzorek
vzorek

senzor
blok pece
zahřívací element

čistící plyn
tekutý dusík
chlazení

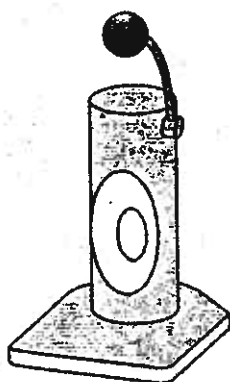
LN₂ chladič



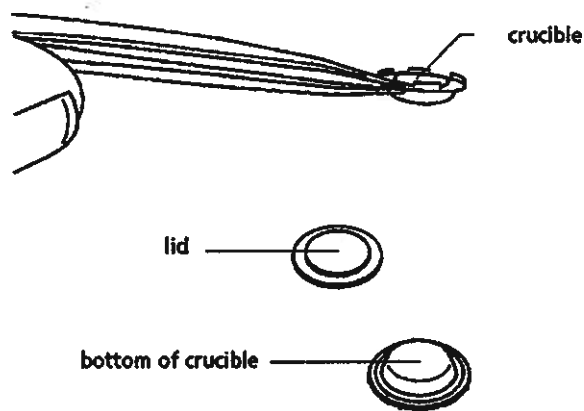
1. přívod plynného dusíku
2. tlakoměr
3. výstup dusíku
4. Dewarova nádoba

Hliníkové kelímky Netzsch 100 DSC (6.239.2-64.501), T_{max} 600°C, objem 25 μl

Ruční lis pro víčkování kelímků Netzsch (6.239.3-80.1)



Ruční lis



Kelímek

Bomba s plynným dusíkem (Linde Technoplyn) (o čistotě 4,6), který jde do měřicího zařízení a zároveň do Dewarovy nádoby s tekutým dusíkem

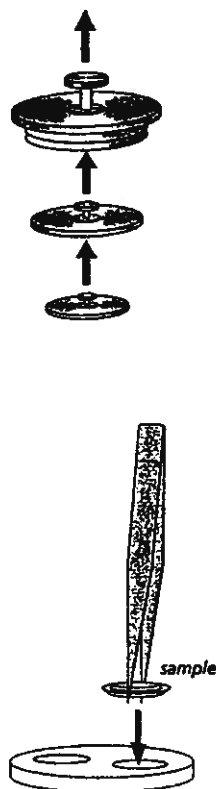
Digitální analytické váhy CAHN 26, CANH Instruments, vyr.č. 39562, USA.

3.3. POSTUP PRÁCE

3.3.1. Příprava vzorku

Malé množství vzorku (2 – 10 mg) jsme umístili na dno hliníkového kelímku zváženého na analytických vahách a zavíčkovali pomocí ručního lisu. Před měřením jsme kelímky i víčka třikrát opláchli v acetonu a vysušili v sušárně při 110°C. Víčko je tvarováno tak, že může být umístěno na kelímek konvexní stranou nahoru nebo dolů podle množství vzorku a může tak redukovat mrtvý objem. ⁴⁰⁾ Kelímek jsme znovu zvážili, protože pro měření potřebujeme znát jak hmotnost vzorku tak i prázdného kelímku. Pro správnost měření je nutný dobrý kontakt senzoru s kelímkem, proto dno kelímku musí zůstat rovné. Po odstranění krytu komory a dvou krytů vnitřních jsme vzorek pinzetou umístili vpravo přesně na střed vymezené plochy senzoru tepelného toku.

Umístění vzorku do komory



Látku nelze aplikovat přímo do komory, protože by mohlo dojít ke znečištění tepelného senzoru. Odpor proudu tepla je určen kelímkem a ne relativně malým množstvím vzorku, proto lze použít jako referenční vzorek prázdný hliníkový kelímek se stejnými vlastnostmi jako má měřený kelímek. Referenční vzorek jsme umístili vlevo na vymezené místo tepelného senzoru. Po uzavření komory vnitřními a vnějším krytem byl vzorek připraven k měření.

3.3.2. Vlastní měření

Před zahájením měření byla pro odstranění případných nečistot měřicí komora zahřata na 500°C v dusíkové atmosféře. Poté byla provedena korekce přístroje s referenčním vzorkem a prázdným kelímkem pro určitý teplotní program, který byl použit i pro vlastní měření vzorků. Měření se provádí v dusíkové atmosféře, průtok čistícího plynného dusíku byl 20 ml/min a ochranného plynného dusíku 40 ml/min.

Ve speciálním programu na zaznamenávání měření DSC 200 PC „Phox“ jsme pro zahájení měření zadali tyto potřebné údaje:

- měření s korekcí/bez korekce
- hmotnost vzorku a prázdného kelímku
- hmotnost referenčního vzorku
- název
- teplotní program

Teplotní program se skládá z teploty počátečního stavu, cílové teploty pro zahřívání nebo chlazení, zahřívací/chladicí rychlosti a teploty konečného stavu.. Na začátku a konci chlazení je nutné ručně spustit a ukončit přívod kapalného dusíku z Dewarovy nádoby.

Přístroj podle teplotního programu mění podmínky v komoře a změny, ke kterým dochází ve vzorku, zaznamenává do křivky (x = čas v min, y = teplota ve °C, tok energie ve W). Sledované tepelné změny se promítnou na křivce nejčastěji ve formě píku, který charakterizujeme teplotami a plochou. Skelný přechod je zaznamenán výškovým skokem křivky. Po ukončení měření byla uložená data (křivky i teplotní program) hodnocena ve speciálním programu Netzsch Proteus Anylysis a Netzsch Peak Separation.

Pro každý druh zkoumaného vzorku laktózy byl použit speciálně upravený teplotní program při rychlosti zahřívání 10°C/min:

<u>Teplotní program č.1</u> <u>pro β-laktose</u>	Start	20°C	
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	160°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	160°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	224°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	224°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	260°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	260°C	3 min
	Chlazení	20°C	rychlost 40°C/min
	Stop	20°C	

Teplotní program č.2 pro D-Lactose monohydrate	Start	20°C	
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	170°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	170°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	190°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	190°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	260°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	260°C	3 min
	Chlazení	20°C	rychlost 40°C/min
	Stop	20°C	

Teplotní program č.3 pro α-laktose- Supelco	Start	20°C	
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	165°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	165°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	190°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	190°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	226°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	226°C	3 min
	Chlazení	-20°C	rychlost 40°C/min
	Izoterma	-20°C	3 min
	Zahřívání	260°C	rychlost 10°C/min
	Izoterma	260°C	3 min
	Chlazení	20°C	rychlost 40°C/min
Stop	20°C		

Tyto teplotní programy umožňují sledovat teploty tání a skelné přechody jednotlivých vzorků. V termogramu laktózy je zřetelný endotermní pík dehydratace při teplotě kolem

149°C (pík 1), v oblasti mezi 170 – 180°C se pak vyskytuje endo-exotermní pík, který znázorňuje přeuspořádání krystalové mřížky dehydratovaného monohydrátu α -laktózy na krystalovou mřížku anhydrátu α -laktózy („transformace pevného stavu“), poté následuje endotermní dvojpík tání laktózy odpovídající anhydrátu α -laktózy při teplotě kolem 218°C (pík 2) a anhydrátu β -laktózy při teplotě kolem 237°C (pík 3). Skelný přechod je patrný až při druhém zahřívání při teplotě kolem 118°C. ⁴⁰⁾ V programu Netzsch Proteus Analysis jsme u píků 1 stanovili hodnoty T_p (Peak – teplota maxima píku) a ΔH (Area – entalpie), u skelných přechodů jsme považovali za hodnotu T_g parametr T_{mid} a dále jsme uváděli hodnotu ΔC_p (změna tepelné kapacity). Hodnoty T_p a ΔH jsme pro píky 2 a 3 stanovili v programu Netzsch Peak Separation.

4. TABULKY A OBRÁZKY

4.1. VYSVĚTLIVKY K TABULKÁM A OBRÁZKŮM

- Pík 1 ... pík dehydratace
- Pík 2 ... pík tání alfa-laktózy
- Pík 3 ... pík tání beta-laktózy
- ΔC_p ... změna tepelné kapacity (J/g.K)
- ΔH ... entalpie (J/g)
- T_g ... teplota skelného přechodu odpovídající hodnotě T_{mid} na termogramu (°C)
- T_p ... teplota maxima píku (°C)

Cykly teplotního ohřevu použité v tabulkách č.1 - 4:

- 260... první cyklus ohřevu do 260°C
- 160-260... první cyklus ohřevu do 160°C, druhý cyklus ohřevu do 260°C
- 160-224-260... první cyklus ohřevu do 160°C, druhý cyklus ohřevu do 224°C, třetí cyklus ohřevu do 260°C

4.2. TABULKY

Tabulka č.1 : Kalorimetrická charakteristika vzorku β -laktose při teplotním programu č.1

Teplota ohřevu [°C]	Pík 1		Pík2		Pík3	
	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]
260	132,60	8,45	220,63	2,09	237,31	219,92
160 – 260	132,60	8,68	220,47	2,03	237,05	215,29
224 – 260	133,20	8,65	220,75	1,31	230,02	152,81
160 – 224 - 260	131,80	8,42	220,70	0,79	229,65	182,19

Tabulka č.2 : Kalorimetrická charakteristika vzorku D-laktose při teplotním programu č.2

Teplota ohřevu [°C]	Pík 1		Pík2		Pík3	
	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]
260	152,90	172,00	215,08	213,83		
170 – 260	-	-	-	-	-	-
190 – 260	154,10	172,00	217,12	162,38	236,32	54,56
170 – 190 - 260	153,70	177,20	217,41	203,34		

Tabulka č.3 : Kalorimetrická charakteristika vzorku α -laktose – Supelco při teplotním programu č.3

Teplota ohřevu [°C]	Pík 1		Pík 2		Pík 3	
	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]
260	148,70	156,10	221,85	125,20	240,26	111,45
165 – 260	148,10	154,10	221,20	135,63	240,05	108,04
226 – 260	149,30	163,50	221,84	-	239,06	-
165 – 190 – 226 - 260	151,00	155,20	221,14	-	239,02	-

Tabulka č.4 : Hodnoty skelného přechodu pro jednotlivé druhy laktóz

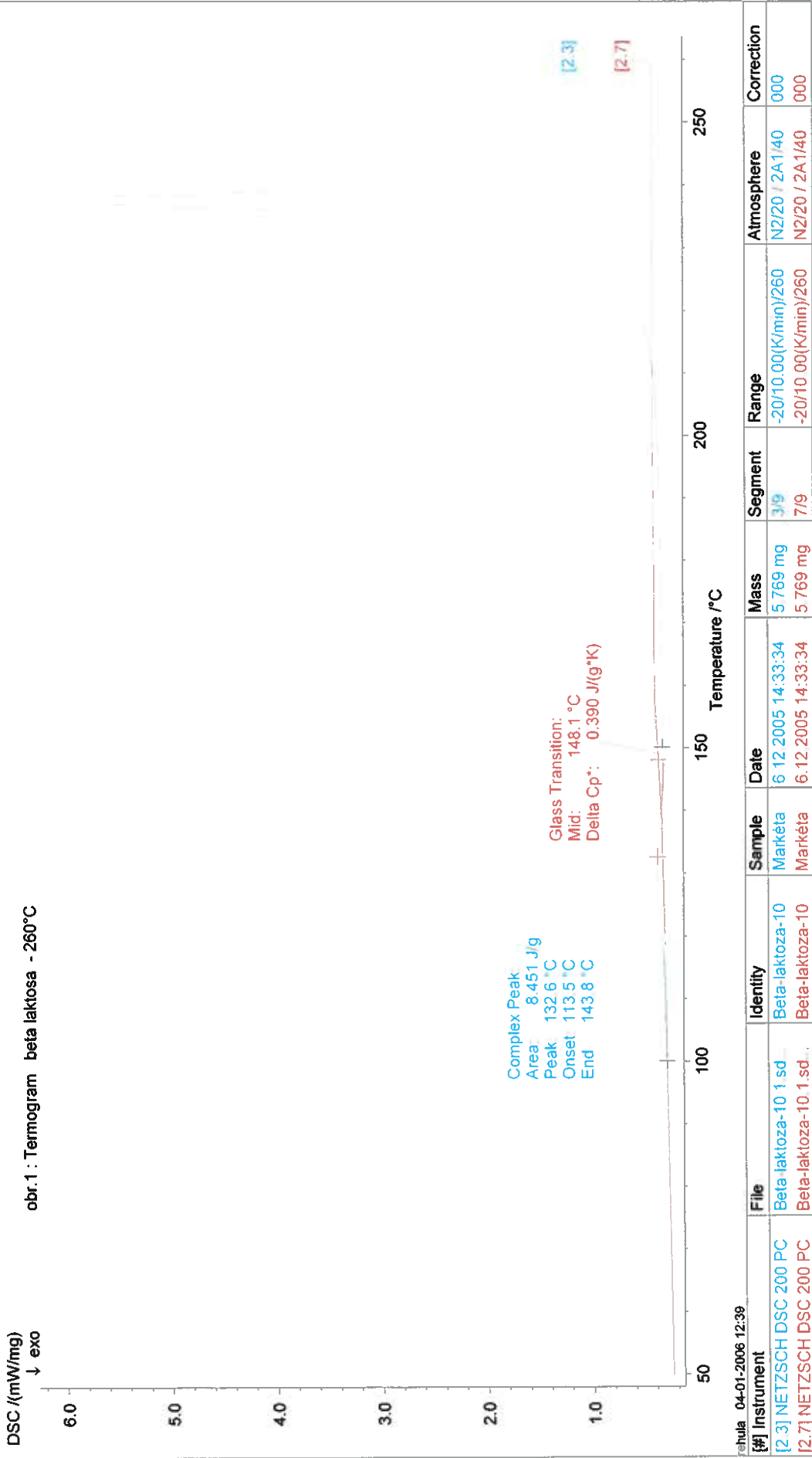
Druhy laktóz	Teploty ohřevu [°C]	Tg (při ohřevu)		Tg (při chlazení)	
		Tmid [°C]	ΔCp [J/gK]	Tmid [°C]	ΔCp [J/gK]
β-laktose	260 - 260	148,10	0,39	180,40	0,06
	224 - 260	120,70	0,24		
	160 – 224 - 260	121,40	0,23		
D-lactose	260 - 260	140,90	0,41	166,80	0,24
	260 - 260	150,90	0,32	178,90	0,09
α-laktose-Supelco	226 – 260	127,30	0,48		
	165 – 190 – 226 - 260	129,50	0,51		

Tabulka č.5 : Porovnání kalorimetrických charakteristik jednotlivých druhů testovaných laktóz při teplotním režimu 260 °C (hodnoty Tg při ohřevu jsou z druhého cyklu)

Druhy laktóz	Pík 1		Pík 2		Pík 3		Tg (při ohřevu)		Tg (při chlazení)	
	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tp [°C]	ΔH [J/g]	Tmid [°C]	ΔCp [J/gK]	Tmid [°C]	ΔCp [J/gK]
β-laktose	132,60	8,45	220,63	2,09	237,31	219,92	148,10	0,39	180,40	0,06
D-lactose	152,90	172,00	215,08	213,83	-	-	140,90	0,41	166,80	0,24
α-laktose-Supelco	148,70	156,10	221,90	125,20	240,26	111,45	150,90	0,32	178,90	0,09

4.3. OBRÁZKY

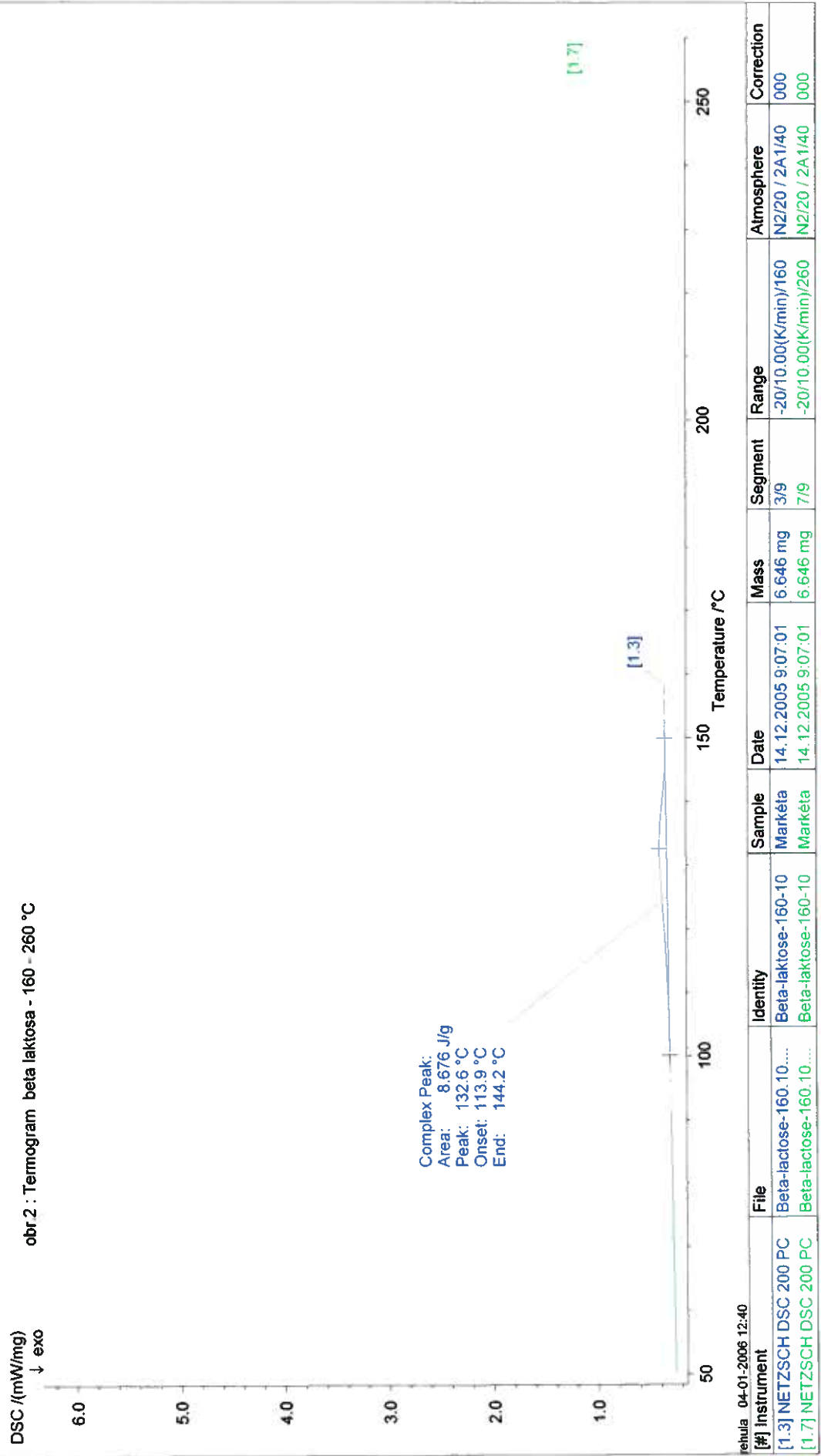
obr.1 : Termogram beta laktosa - 260°C



režula 04-01-2006 12:39

File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[2.3] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-laktoza-10	Markéta	6.12.2005 14:33:34	5.769 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000
[2.7] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-laktoza-10	Markéta	6.12.2005 14:33:34	5.769 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

obr 2 : Termogram beta laktosa - 160 - 260 °C

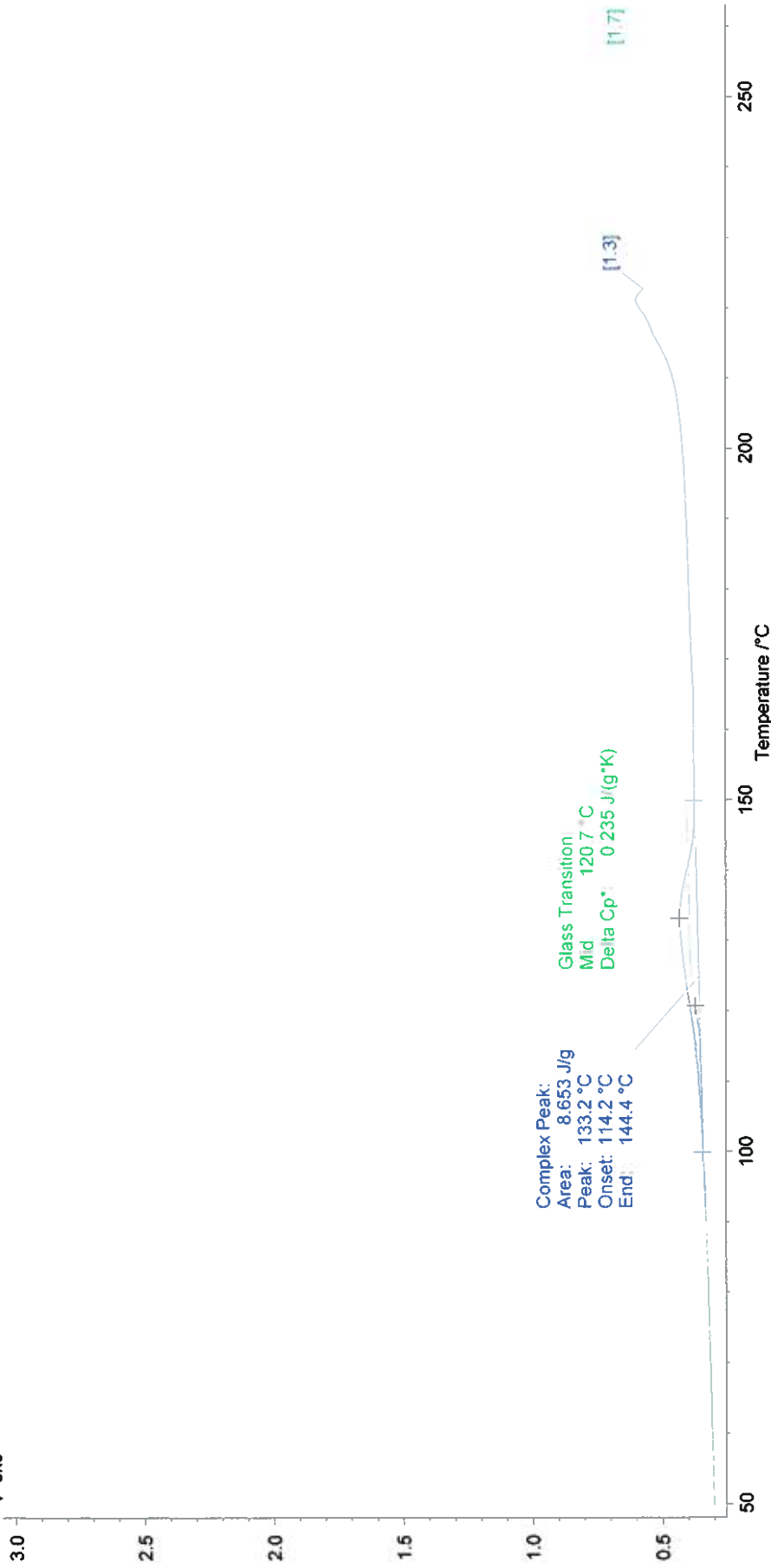


rehula 04-01-2006 12:40

[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-lactose-160.10...	Beta-laktose-160-10	Markéta	14.12.2005 9:07:01	6.646 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/160	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-lactose-160.10...	Beta-laktose-160-10	Markéta	14.12.2005 9:07:01	6.646 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

obr.3 : Termogram beta laktosa - 224 - 260 °C

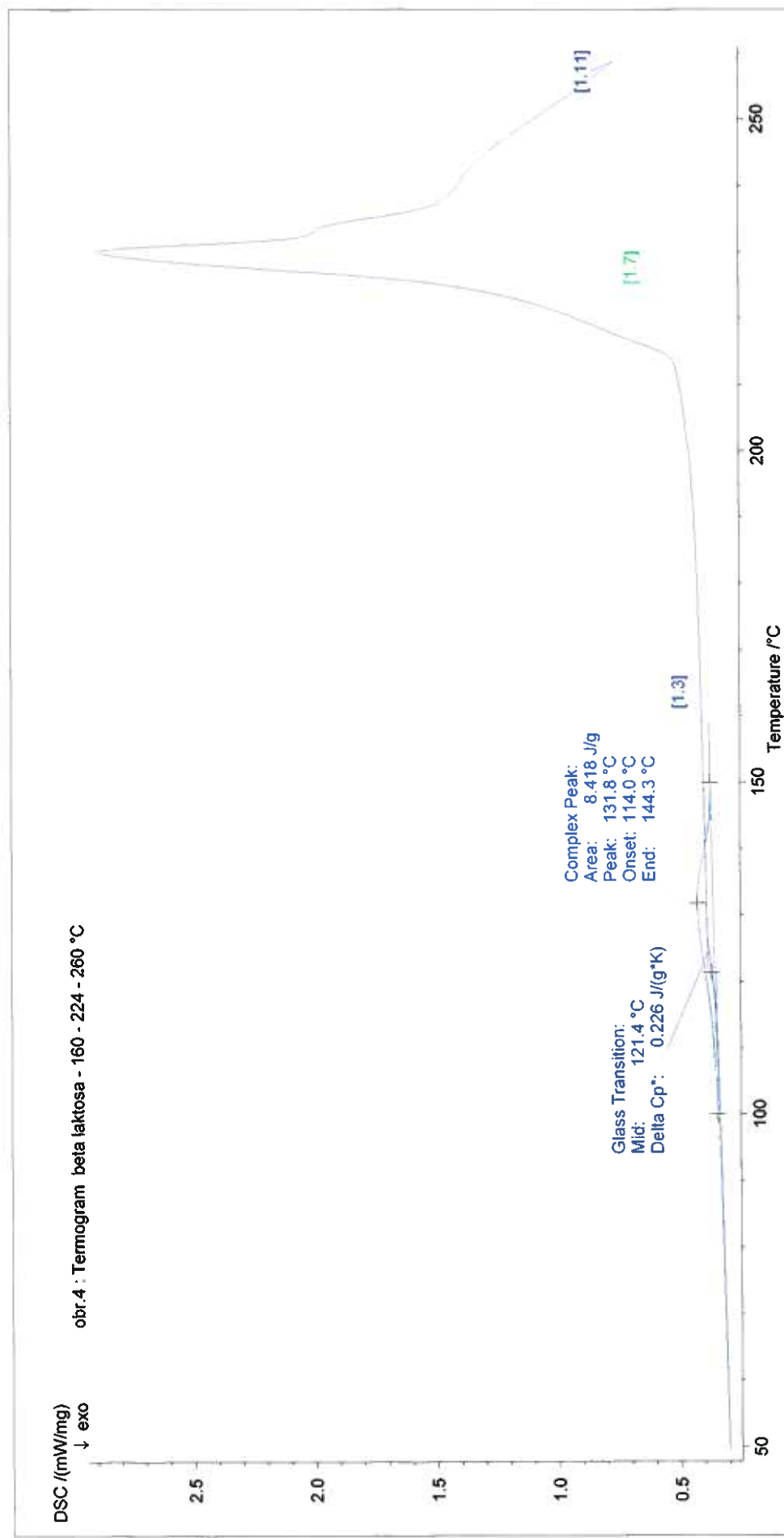
DSC ((mW/mg)
↓ exo



rehula_04-01-2008 12:30

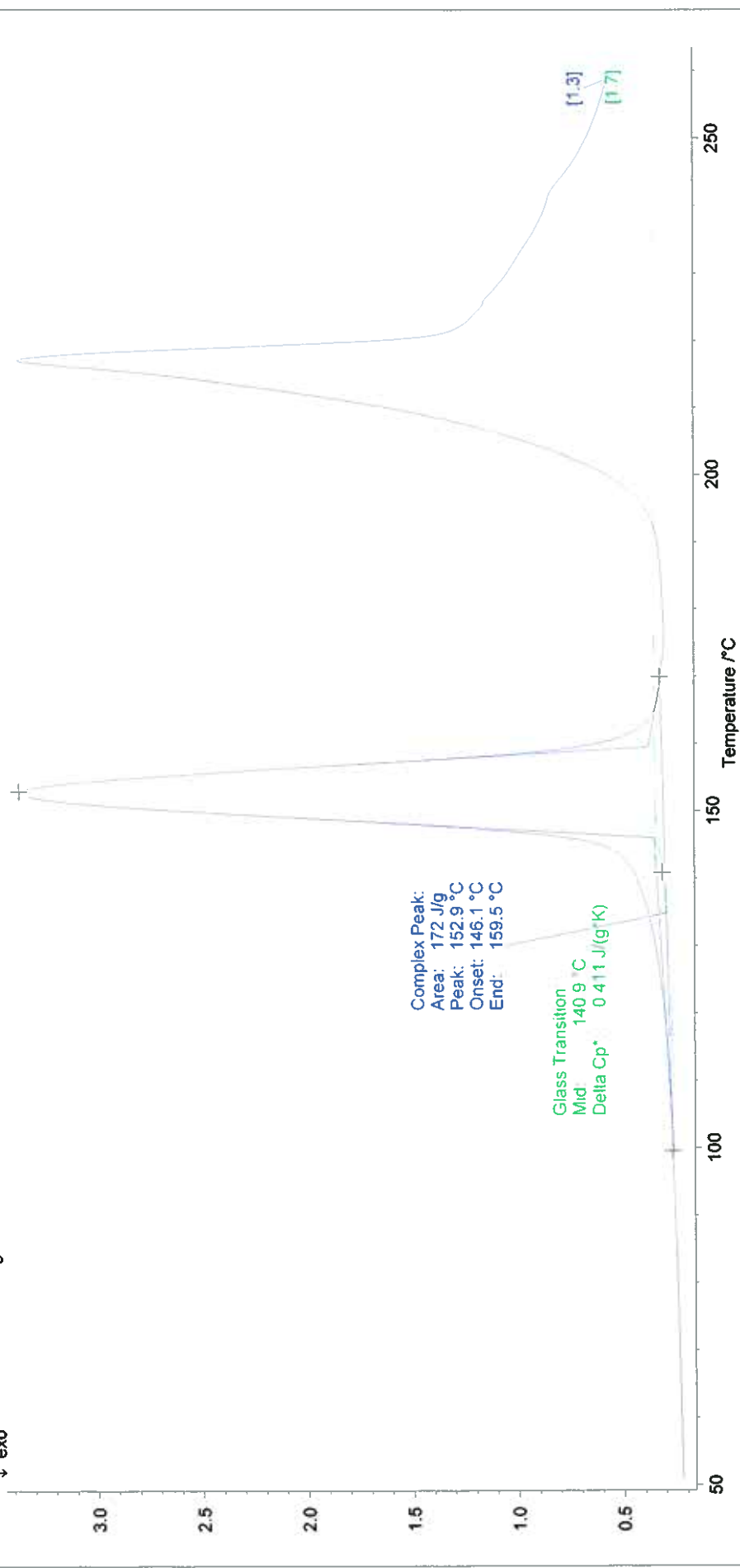
[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-lactose-224.10....	Beta-laktose-224.10	Markéta	14.12.2005 11:10:22	7.789 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/224	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-lactose 224.10....	Beta-laktose-224.10	Markéta	14.12.2005 11:10:22	7.789 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

obr. 4 : Termogram beta laktosa - 160 - 224 - 260 °C



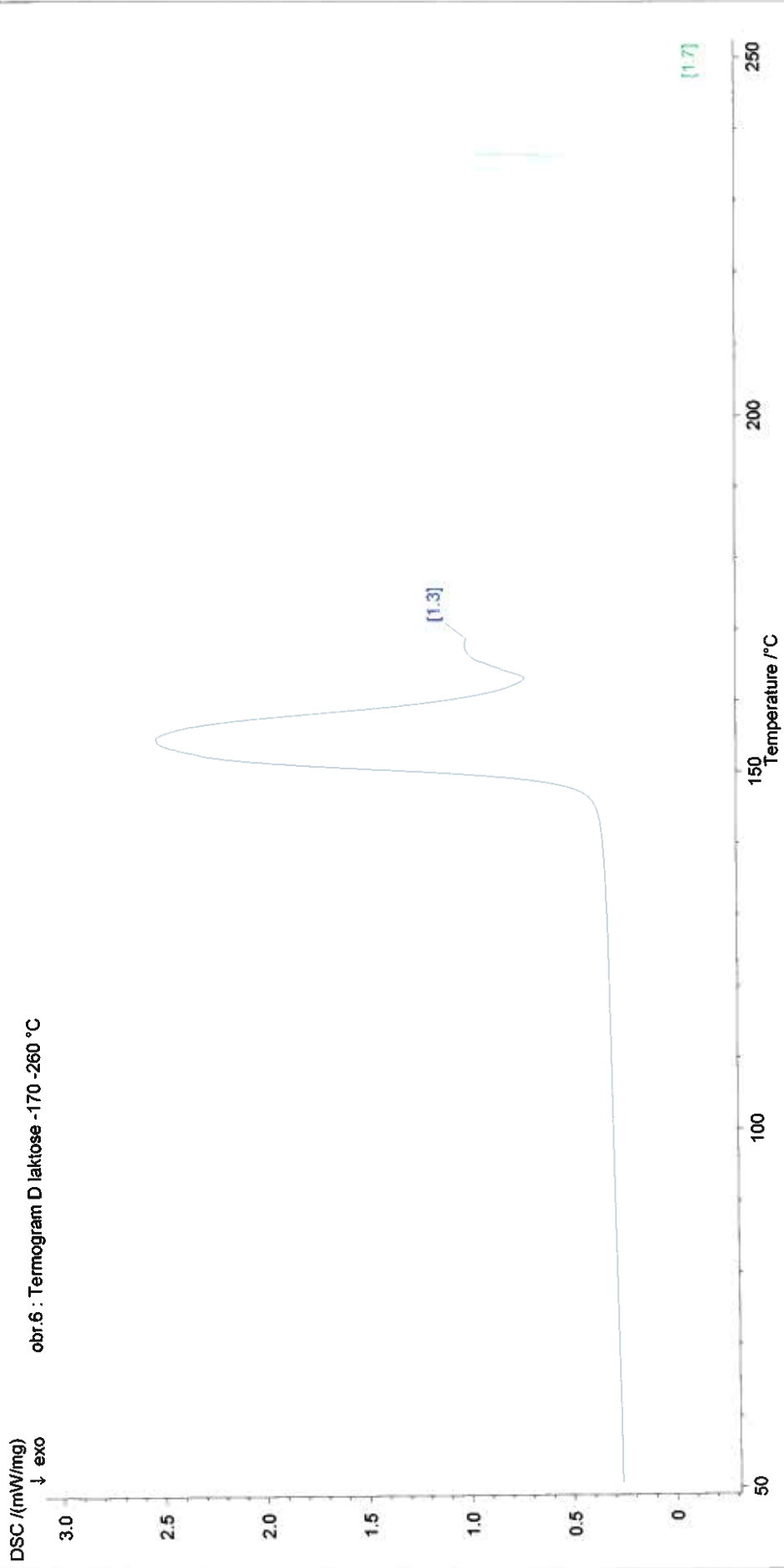
[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-laktosa-C.10.2....	Beta-laktose-C.10.2	Markéta	14.12.2005 13:14:57	6.896 mg	3/13	-20/10.00(K/min)/160	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-laktosa-C.10.2....	Beta-laktose-C.10.2	Markéta	14.12.2005 13:14:57	6.896 mg	7/13	-20/10.00(K/min)/224	N2/20 / 2A1/40	000
[1.11] NETZSCH DSC 200 PC	Beta-laktosa-C.10.2....	Beta-laktose-C.10.2	Markéta	14.12.2005 13:14:57	6.896 mg	11/13	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

DSC (mW/mg)
 ↓ exo
 obr.5 : Termogram D laktose - 260 °C



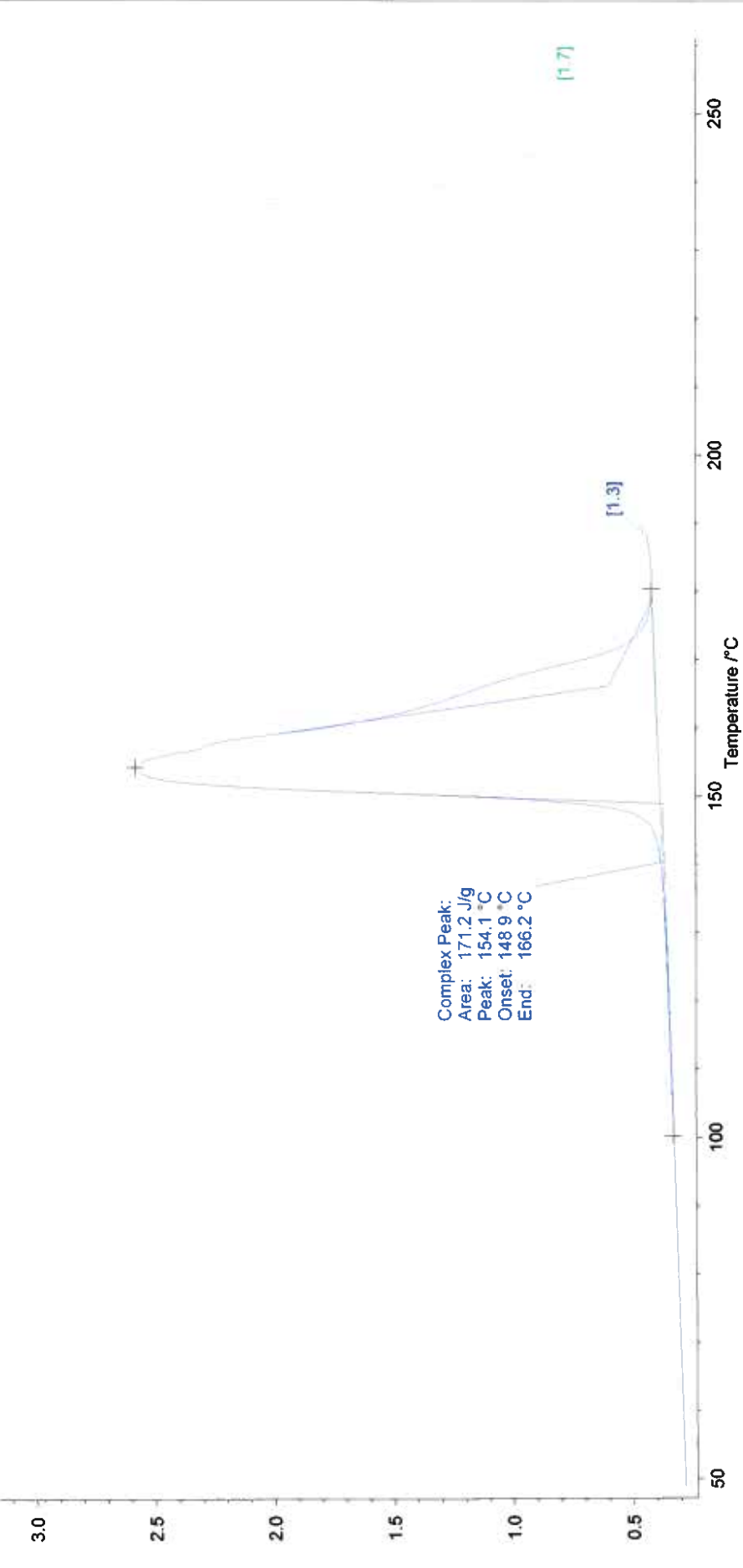
ehula 04-01-2006 13:00		Sample		Date		Mass		Segment		Range		Atmosphere		Correction	
[#]	Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction					
[1.3]	NETZSCH DSC 200 PC	D-laktosa-10.2 sd1	D-laktosa-10.2	Markéta	8.12.2005 8:03:51	7.533 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000					
[1.7]	NETZSCH DSC 200 PC	D-laktosa: 10.2 sd1	D-laktosa-10.2	Markéta	8.12.2005 8.03.51	7.533 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000					

obr.6 : Termogram D laktose -170 -260 °C



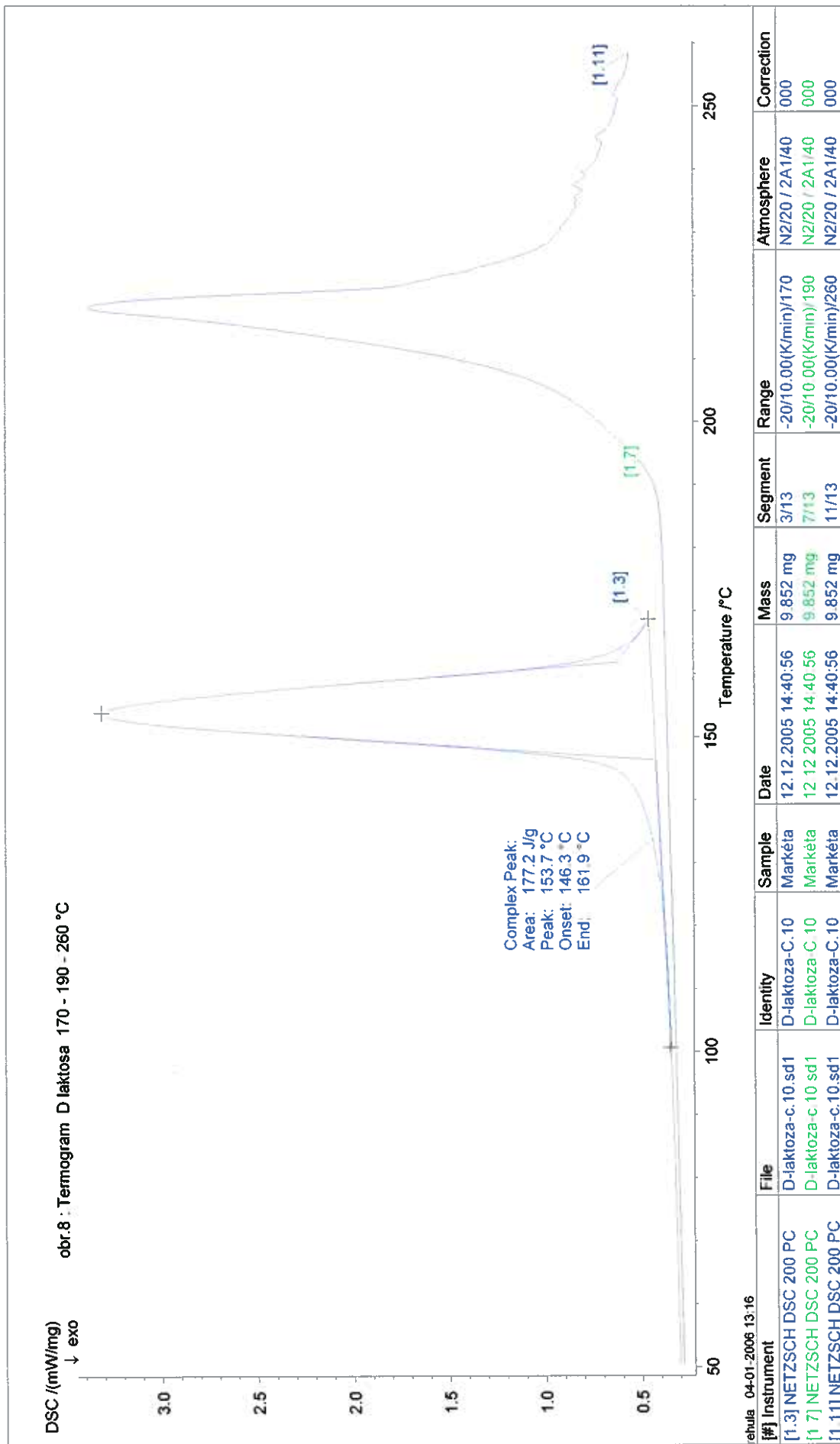
#1 Instrument		Date		Sample		Mass		Segment		Range		Atmosphere		Correction	
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	D-lactose-170.10.sd1	13.12.2005	20:05:00	Markéta	Markéta	3/9	8.333 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/170	N2/20 / 2A1/40	000				
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	D-lactose-170.10.sd1	13.12.2005	20:05:00	Markéta	Markéta	7/9	8.333 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000				

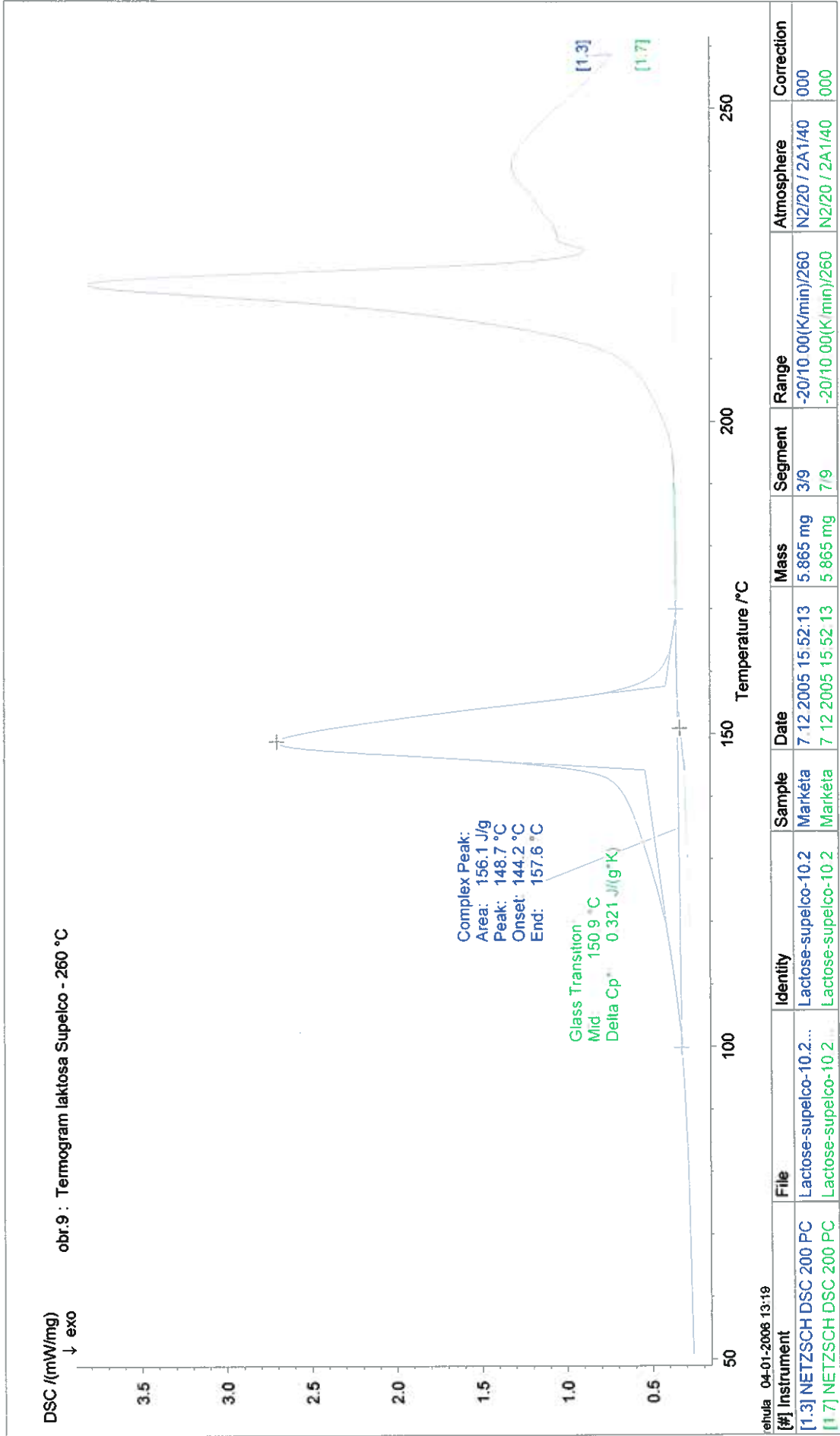
DSC (mW/mg) obr.7 : Termogram D laktose - 190 - 260 °C
 ↓ exc



Complex Peak:
 Area: 171.2 J/g
 Peak: 154.1 °C
 Onset: 148.9 °C
 End: 166.2 °C

[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	D-laktose-190.10.sd1	D-lactose-190.10	Markéta	12.12.2005 16:29:39	7.810 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/190	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	D-laktose-190.10.sd1	D-lactose-190.10	Markéta	12.12.2005 16:29:39	7.810 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

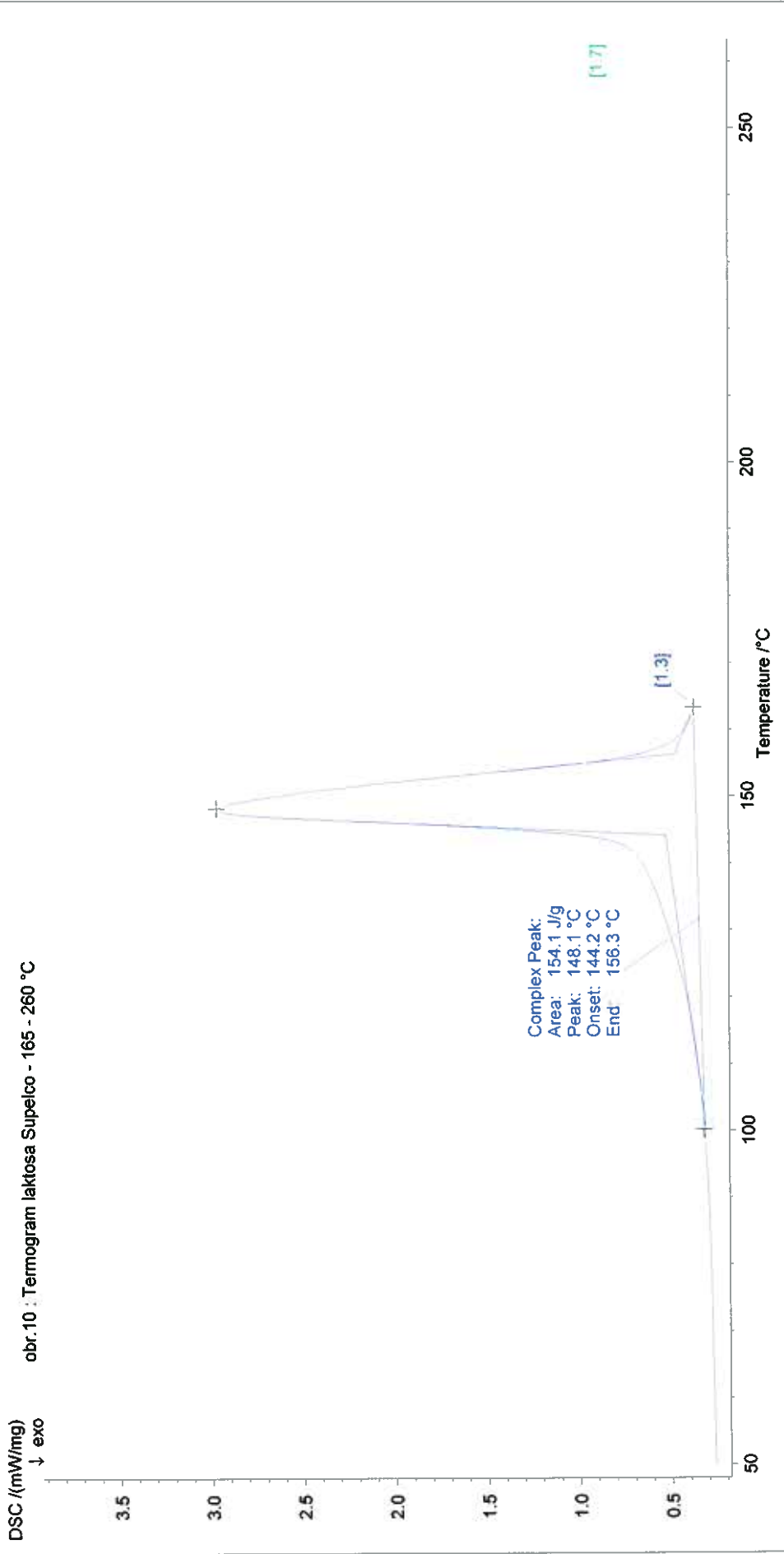




ehula 04-01-2008 13:19

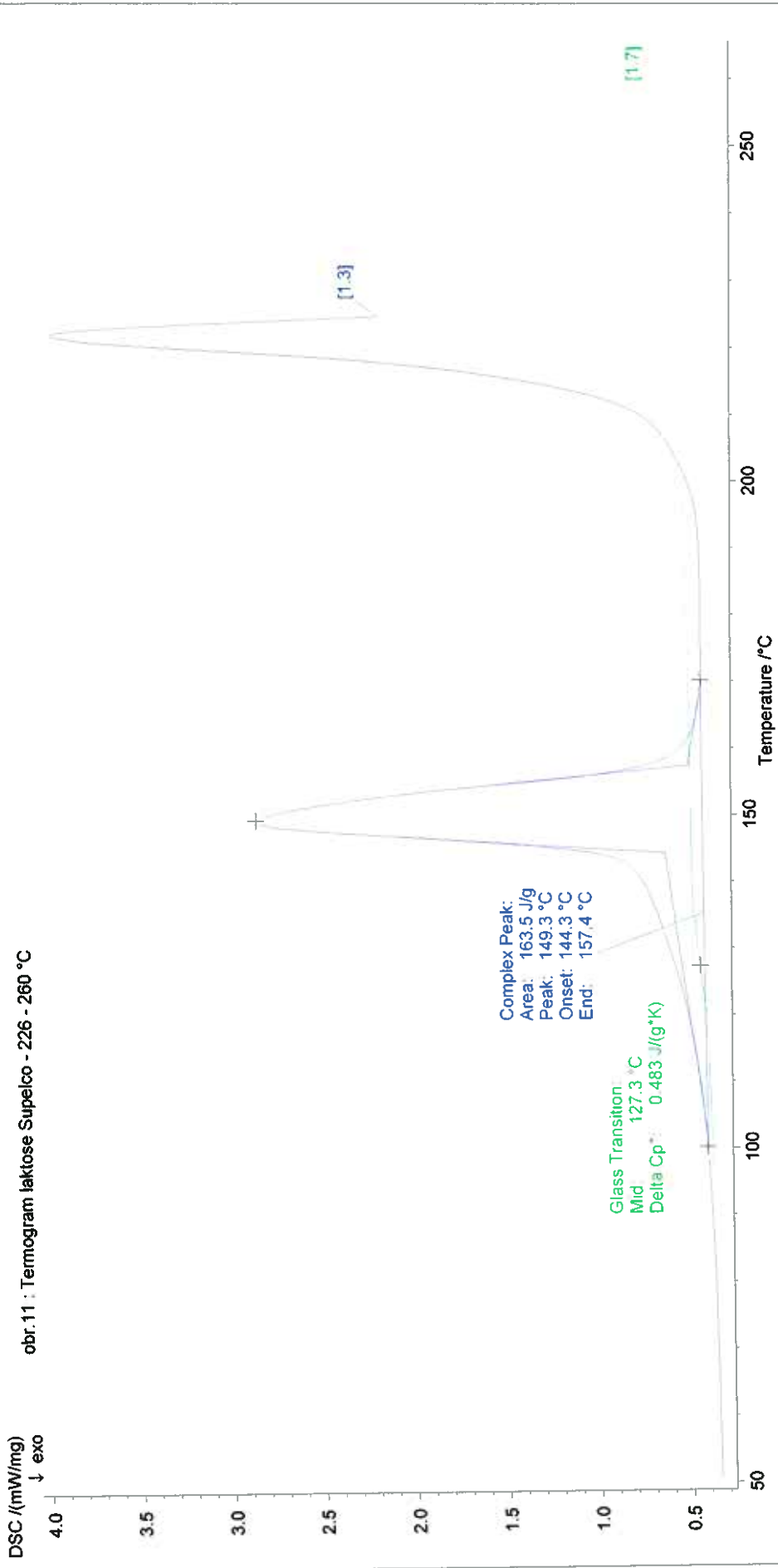
File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-10.2...	Markéta	7 12 2005 15 52:13	5.865 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-10.2...	Markéta	7 12 2005 15 52:13	5.865 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

obr.10 : Termogram laktosa Supelco - 165 - 260 °C



[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-165...	Lactose-supelco-165.10	Markéta	8.12.2005 18:42:13	6.276 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/165	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-165...	Lactose-supelco-165.10	Markéta	8.12.2005 18:42:13	6.276 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

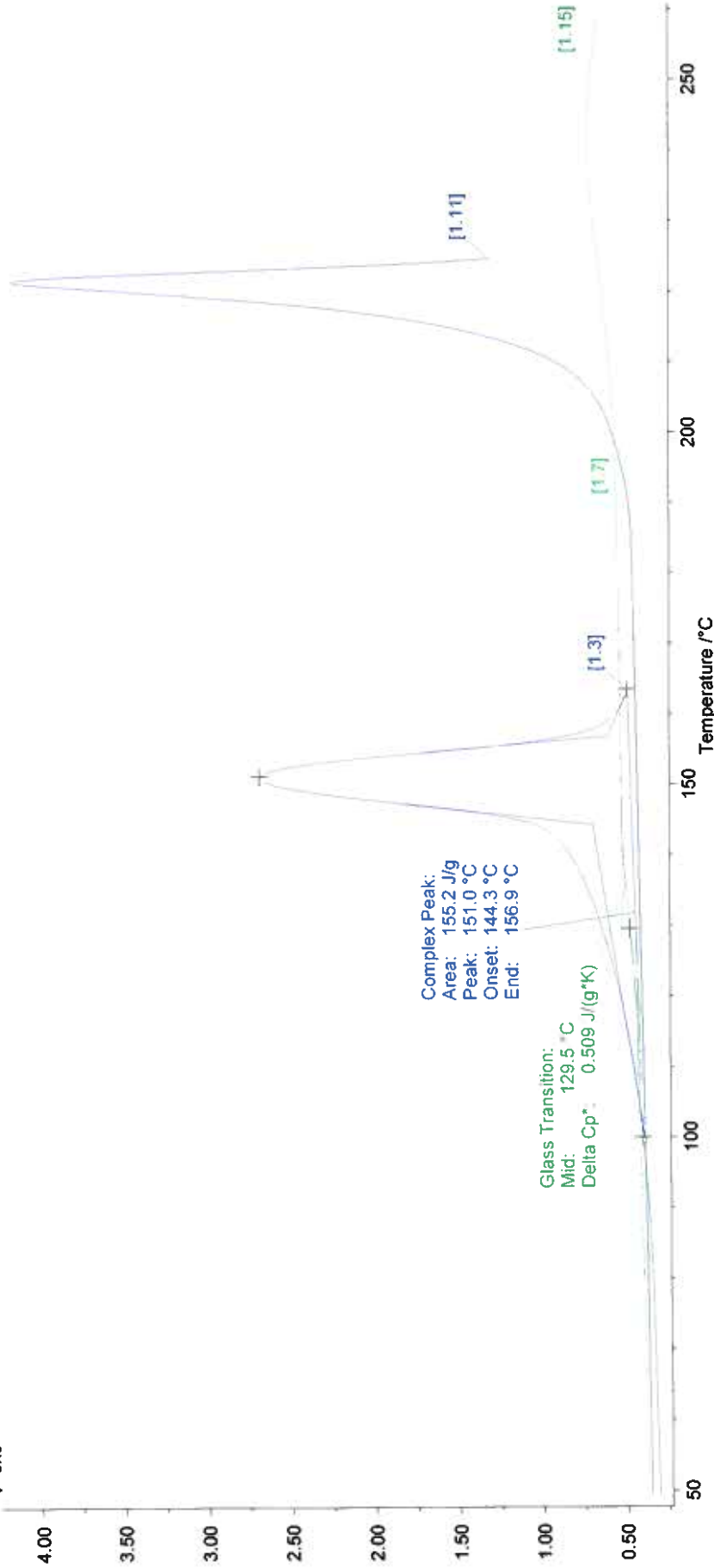
obr. 11 : Termogram laktose Supelco - 226 - 260 °C



ehula 04-01-2006 13:25		[#] Instrument		File		Identity		Sample		Date		Mass		Segment		Range		Atmosphere		Correction	
[1.3]	NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-226...	Lactose-supelco-226...	Lactosa-supelco-226.10	Markéta	9.12.2005 13:54:20	5.553 mg	3/9	-20/10.00(K/min)/226	N2/20 / 2A1/40	000										
[1.7]	NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-226...	Lactose-supelco-226...	Lactosa-supelco-226.10	Markéta	9.12.2005 13:54:20	5.553 mg	7/9	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000										

DSC (mW/mg)
 ↓ exo

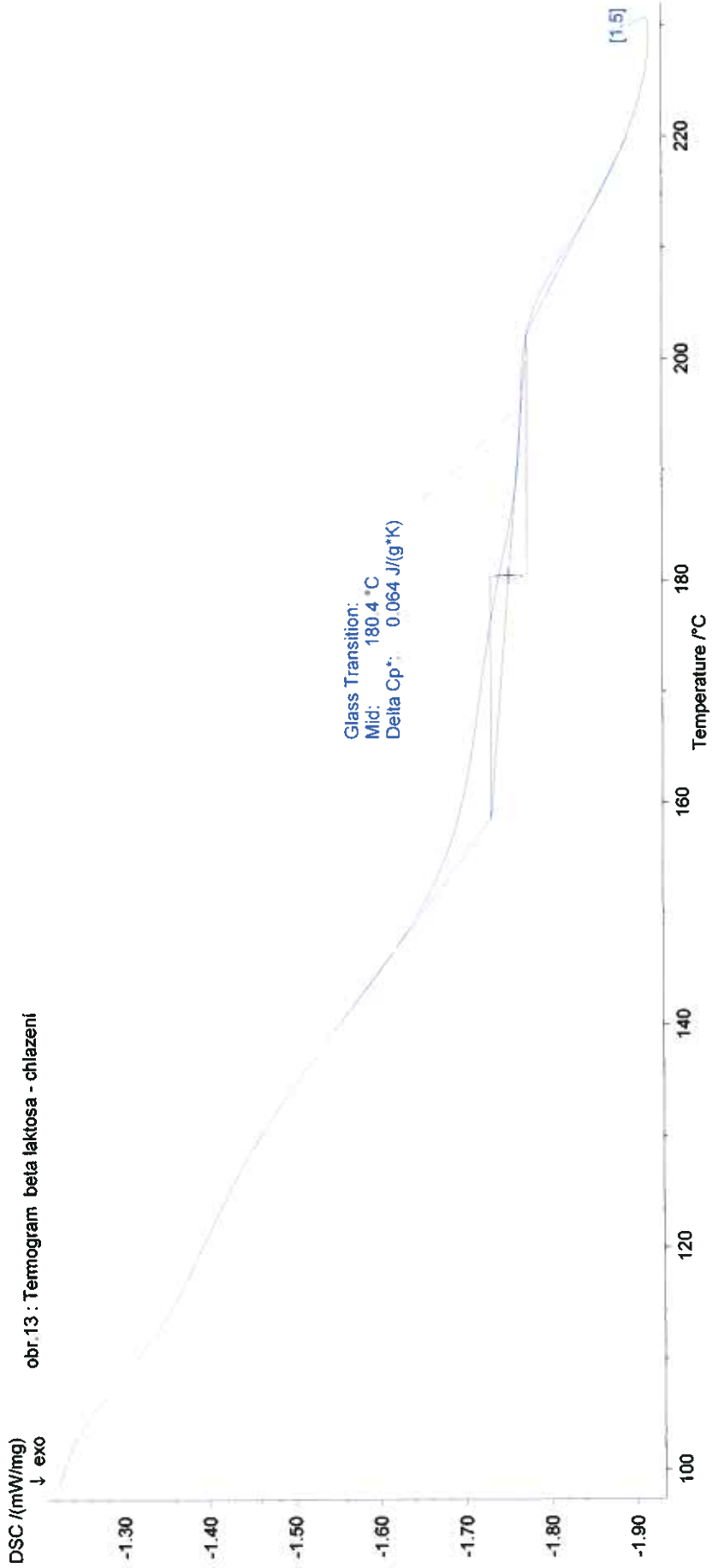
obr.12 : Termogram laktosa Supelco - 165 - 190 - 226 - 260 °C



rehula 04-01-2006 13:28

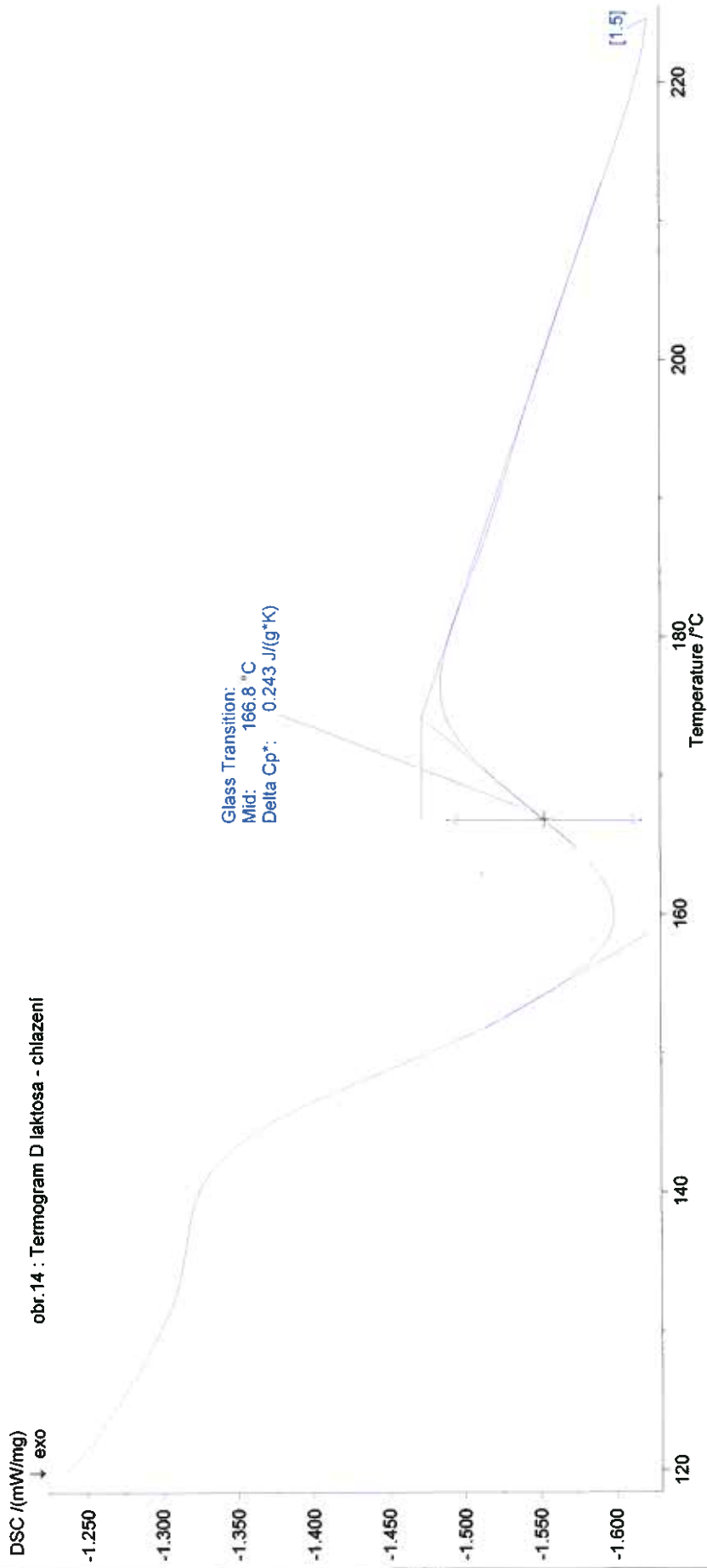
[#] Instrument	File	Identity	Sample	Date	Mass	Segment	Range	Atmosphere	Correction
[1.3] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-C.10...	Lactose-supelco-C.10	Markéta	13.12.2005 8:11:21	3.567 mg	3/17	-20/10.00(K/min)/165	N2/20 / 2A1/40	000
[1.7] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-C.10...	Lactose-supelco-C.10	Markéta	13.12.2005 8:11:21	3.567 mg	7/17	-20/10.00(K/min)/190	N2/20 / 2A1/40	000
[1.11] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-C.10...	Lactose-supelco-C.10	Markéta	13.12.2005 8:11:21	3.567 mg	11/17	-20/10.00(K/min)/226	N2/20 / 2A1/40	000
[1.15] NETZSCH DSC 200 PC	Lactose-supelco-C.10...	Lactose-supelco-C.10	Markéta	13.12.2005 8:11:21	3.567 mg	15/17	-20/10.00(K/min)/260	N2/20 / 2A1/40	000

obr. 13 : Termogram beta laktosa - chlazení



Instrument: NETZSCH DSC 200 PC File: Beta-laktoza-10.1.sd... Project: čistá laktoza Identity: Beta-laktoza-10 Date/Time: 6.12.2005 14:33:34 Laboratory: KFT FaF Operator: Øehula		Sample: Markéta, 5.769 mg Reference: prázdny, 0.000 mg Material: / cal_NT_6_10_03.td1 Corr./Temp.Cal: cal_sens_NT_6_10_03.ed1 Sens.File: 260/40.00(K/min)/-20 Range: Standard DSC 200 PC / E		Mode/Type of Meas.: Segments: Crucible: Pan AL, open Atmosphere: N2/20 / 2A1/40 Corr/M.Range: 800/5000 µV Remark:	
--	--	---	--	--	--

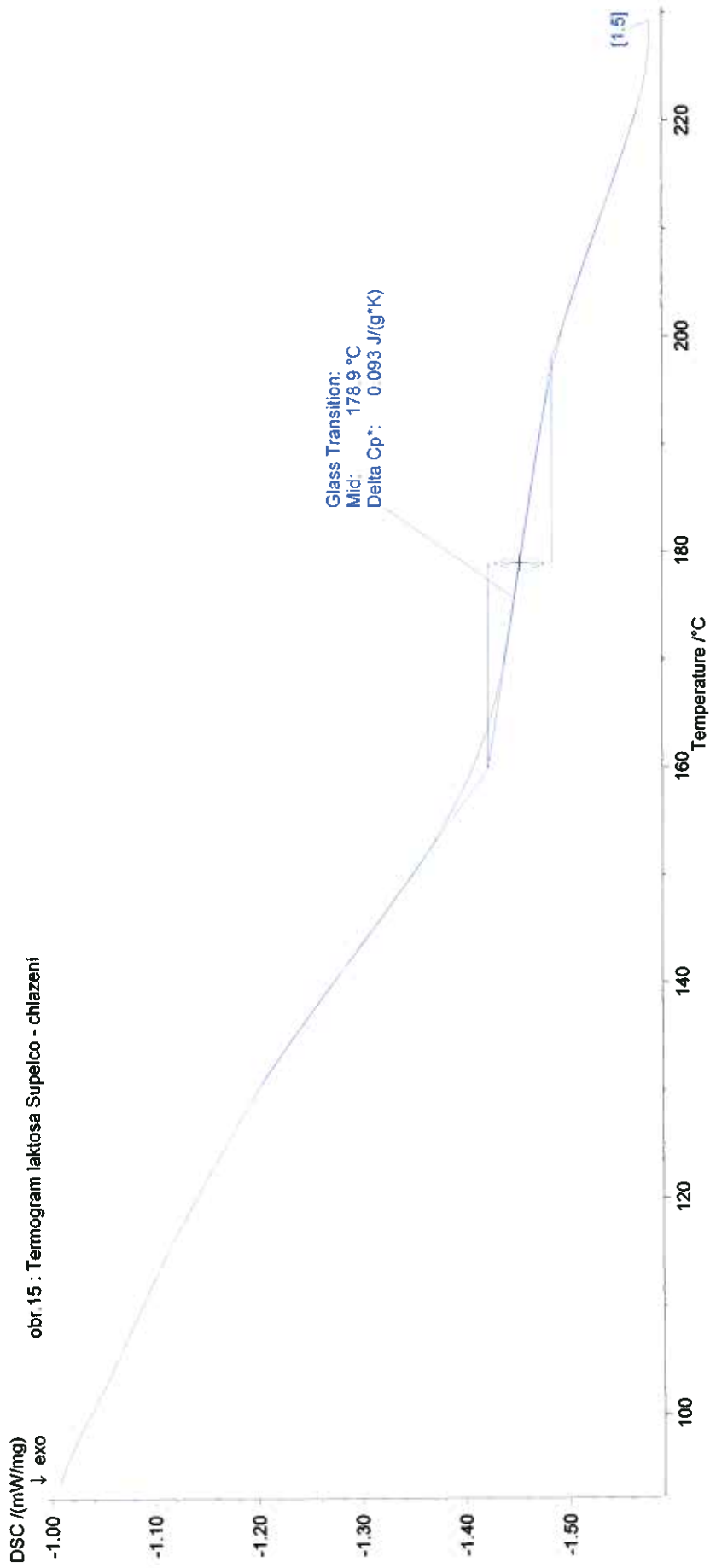
obr.14 : Termogram D laktosa - chlazení



lehula 04-01-2006 13:34

Instrument:	NETZSCH DSC 200 PC	Sample:	Markéta, 7.533 mg	Mode/Type of Meas.:	DSC / Sample
File:	D-laktoza-10.2.sd1	Reference:	prázdný, 0.000 mg	Segments:	5/9
Project:	čistá laktoza	Material:	/ cal_NT_6_10_03.td1	Crucible:	Pan AL, open
Identify:	D-laktoza-10.2	Corr./Temp.Cal:	cal_sens_NT_6_10_03.ed1	Atmosphere:	N2/20 / 2A1/40
Date/Time:	8.12.2005 8:03:51	Sens.File:	260/40.00(K/min)/-20	Corr/M.Range:	800/5000 µV
Laboratory:	KFT FaF	Range:	Standard DSC 200 PC / E	Remark:	
Operator:	Øehula	Sample Car./TC:			

obr. 15 : Termogram laktosa Supelco - chlazení



Øehula 04-01-2006 13:36

Instrument:	NETZSCH DSC 200 PC	Mode/Type of Meas.:	DSC / Sample
File:	Lactose-supelco-10.2...	Segments:	5/9
Project:	èistá laktóza	Crucible:	Pan AL, open
Identify:	Lactose-supelco-10.2	Atmosphere:	N2/20 / 2A1/40
Date/Time:	7.12.2005 15:52:13	Corr/M.Range:	800/5000 µV
Laboratory:	KFT FaF	Remark:	
Operator:	Øehula		
Sample:	Markéta, 5.865 mg		
Reference:	prázdný, 0.000 mg		
Material:	/ cal_NT_6_10_03.td1		
Corr./Temp.Cal:	cal_sens_NT_6_10_03.ed1		
Sens.File:	260/40.00(K/min)/-20		
Range:	Standard DSC 200 PC / E		

5. DISKUSE

5.1. VÝBĚR VZORKŮ LAKTÓZY, VÝBĚR PARAMETRŮ LAKTÓZY A PARAMETRŮ KALORIMETRICKÉHO STANOVENÍ

Doposud se na katedře farmaceutické technologie zpracovávaly laktózy farmaceutické nebo potravinářské kvality. Pro přesné určení teplot a tepel tání jednotlivých podílů laktózy bylo potřebné vybrat standartní vzorky analytické kvality. Pro tento účel byla vybrána β -laktóza bezvodá a dva vzorky α -laktózy monohydrátu. Podle dosavadních zkušeností probíhala stanovení v rozsahu teplot od -20°C do $+260^{\circ}\text{C}$. Teplota nad 260°C již nebyla použitelná, neboť při této teplotě dochází k rozkladu laktózy. U tří testovaných vzorků bylo vedle celkového zhodnocení vzorku zjišťováno, jaký vliv na píky laktózy, respektive T_g laktózy má odstranění krystalické vody nebo odstranění α -laktózy ze vzorku.

5.2. KALORIMETRICKÉ HODNOCENÍ VZORKU β -LAKTOSE

Při hodnocení β -laktózy byl použit speciální teplotní program při rychlosti zahřívání $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách číslo 1, 4 a 5 a na obrázcích číslo 1, 2, 3 a 4.

Teoreticky měl být na termogramu β -laktózy pouze jeden ostrý pík β -laktózy. Na námi zjištěném termogramu jsme naměřili celkem tři píky.

První pík, mající teplotu tání $132,6^{\circ}\text{C}$ a teplo tání $8,45 \text{ J/g}$ souvisí s druhým píkem, který má teplotu tání $220,6^{\circ}\text{C}$ a teplo tání $2,1 \text{ J/g}$. Druhý pík představuje znečištění α -laktózou a první pík krystalicky vázanou vodu. β -laktózu představuje třetí pík, který má teplotu tání $237,3^{\circ}\text{C}$ a teplo tání $219,9 \text{ J/g}$. Po odstranění vody se parametry třetího píku neměnily. Po odstranění α -laktózy došlo k mírnému snížení teploty tání a většímu snížení tepla tání β -laktózy. Tato snížení byla způsobena odstraněním nejen α -laktózy, ale i části β -laktózy. V případě odstraňování vody i α -laktózy u jednoho vzorku, jsme došli ke stejným výsledkům jako při současném odstranění vody a α -laktózy.

Parametr skelného přechodu T_g byl zjišťován jednak při prvních chlazeních a dále při prvních ohřevech vzorku. Při druhých ohřevech vzorku se parametr T_g pohyboval v rozmezí teplot $121 - 148^{\circ}\text{C}$. Teplota skelného přechodu se snižovala se stupněm tepelné zátěže vzorku. T_g zjištěná ze sestupné větve cyklu měla hodnotu $180,4^{\circ}\text{C}$.

5.3. KALORIMETRICKÉ HODNOCENÍ VZORKU D-LACTOSE

Při hodnocení D-laktózy byl použit speciální teplotní program při rychlosti zahřívání $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulkách číslo 2, 4 a 5 a na obrázcích číslo 5 až 8.

Z výsledků vyplývá, že daný vzorek obsahuje α -laktózu-monohydrát s malým množstvím bezvodé β -laktózy. První pík, který má teplotu tání $152,9^{\circ}\text{C}$ a teplo tání 172 J/g charakterizuje krystalicky vázanou vodu. Druhý pík má teplotu tání $215,1^{\circ}\text{C}$ a teplo tání $213,8 \text{ J/g}$. Tento pík představuje α -laktózu. V daném případě tento pík splýval s malým píkem β -laktózy. β -laktózu se podařilo oddělit a stanovit pouze u vzorku, u kterého se odstranila voda a který byl v prvním cyklu zahřátý na 190°C . Vzorek zahřátý v prvním cyklu na 170°C (viz obrázek

číslo 6) nebyl hodnocen v důsledku nestandardního průběhu křivek.

Hodnota skelného přechodu T_g na vzestupné větvi cyklu byla $140,9^\circ\text{C}$ a na sestupné větvi cyklu $166,8^\circ\text{C}$.

5.3. KALORIMETRICKÉ HODNOCENÍ VZORKU α -LACTOSE-SUPELCO

Při hodnocení α -laktose-Supelco byl použit speciální teplotní program při rychlosti zahřívání $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Získané výsledky uvádí tabulky číslo 3, 4 a 5 a obrázky číslo 9, 10, 11 a 12.

Na termogramu jsou tři významné píky. První pík, vyjadřující krystalicky vázanou vodu má teplotu tání $148,7^\circ\text{C}$ a teplo tání $156,1 \text{ J/g}$. Druhý pík představující α -laktózu, má teplotu tání $221,8^\circ\text{C}$ a teplo tání $125,2 \text{ J/g}$. Třetí pík charakterizuje β -laktózu. Má teplotu tání $240,3^\circ\text{C}$ a teplo tání $111,4 \text{ J/g}$. U některých tepel tání byly zjištěny nižší hodnoty, než jsou skutečné, neboť klesající křivka píku nedosáhla základní linie. Na termogramech s odstraněnou krystalicky vázanou vodou nebo α -laktózou nedošlo ke změnám teplot, respektive tepel tání.

Skelný přechod na vzestupné větvi cyklu měl hodnotu $150,9^\circ\text{C}$ a na sestupné větvi cyklu $178,9^\circ\text{C}$.

5.4. KOMPLEXNÍ CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH VZORKŮ LAKTÓZY

Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce číslo 5.

Z výsledků vyplývá, že vzorek β -laktose obsahuje β -laktózu-anhydrát a zanedbatelné množství α -laktózy-monohydrátu.

Vzorek D-laktose obsahuje především α -laktózu-monohydrát a menší množství β -laktózy-anhydrátu.

Třetí vzorek, α -laktose-Supelco, má obdobné složení jako D-lactose, ale má podstatně větší podíl β -laktózy-anhydrátu.

První pík charakterizuje vodu, má nejvyšší hodnoty teploty tání a tepla tání u D-lactose, o něco nižší u α -laktose-Supelco a podstatně nižší u β -laktose. Hodnoty teploty a tepla tání tedy závisí na množství krystalicky vázané vody a záznamu a vyhodnocení píku.

Druhý pík charakterizuje α -laktózu, pohyboval se v rozmezí teplot $215 - 221^\circ\text{C}$. Nižší hodnota teploty tání u D-lactose (215°C), je pravděpodobně způsobena vyšším obsahem krystalicky vázané vody.

Třetí pík charakterizuje β -laktózu. U vzorku β -laktose byla teplota tání o 3°C nižší než u vzorku α -laktose-Supelco. Teoreticky by se dal předpokládat opačný výsledek.

Hodnoty skelného přechodu na vzestupné větvi cyklu termogramu se pohybovaly v rozmezí od $140 - 150^\circ\text{C}$ a na sestupné větvi cyklu termogramu od $167 - 180^\circ\text{C}$.

Na získané výsledky má podstatný vliv izomerní forma laktózy. Nachází se ve dvou izomerických formách - alfa a beta. V tuhém stavu se laktóza nachází v α -formě, β -formě a amorfní formě. Alfa-forma může být bezvodá (anhydrát) nebo monohydrát. Beta-forma se nachází pouze ve formě anhydrátu. Při kalorimetrickém hodnocení má β -forma nejvyšší teplotu tání: $252,5^\circ\text{C}$. Anhydrát α -laktózy má teplotu tání nižší: 223°C a monohydrát α -laktózy má teplotu tání 201°C (znečištění vodou).¹⁾ Zároveň je u této modifikace na termogramu pík krystalicky vázané vody, s teplotou tání kolem 140°C .

V případě existence amorfní formy je možno při druhém ohřevu zjistit skelný přechod.

Pokud se tyto tři formy laktózy vystaví působení vlhkosti, dochází k těmto změnám:

Beta-laktóza-anhydrát vystavena působení vlhkosti řádově desítky dnů přechází na α -laktózu-monohdrát. Alfa-laktóza-anhydrát přechází za těchto podmínek na α -laktózu-monohdrát. K tomuto procesu dochází i po rozpuštění daných modifikací ve vodě. Rovněž existuje možnost přechodu α - formy na β -formu.

6. ZÁVĚR

Z výsledků této práce vyplývají tyto závěry:

- 1) Vzorek β -lactose obsahuje β -laktózu-anhydrát a malé množství α -laktózy-monohdrátu. Odstraněním krystalicky vázané vody se nemění parametry píku β -laktózy, odstraněním píku krystalicky vázané vody a α -laktózy došlo k mírnému snížení teploty tání a k vyššímu snížení tepla tání, způsobenému odstraněním i části β -laktózy.
- 2) Na termogramu β -lactose byla na vzestupné větvi cyklu termogramu zjištěna hodnota T_g v rozmezí 121 – 148°C. Na sestupné větvi cyklu termogramu byla zjištěna hodnota T_g 180°C.
- 3) Vzorek D-laktose obsahuje α -laktózu-monohdrát a malé množství β -laktózy-anhydrátu. Skelný přechod zjištěný ze vzestupné větve cyklu termogramu měl hodnotu 140,9°C, hodnota T_g ze sestupné větve cyklu termogramu byla 166,8°C.
- 4) Vzorek α -laktose-Supelco obsahuje α -laktózu-monohdrát a dále větší podíl β -laktózy-anhydrátu. Hodnota skelného přechodu zjištěná ze vzestupné větve cyklu termogramu byla 150,9°C a hodnota T_g ze sestupné větve cyklu termogramu 178,9°C.
- 5) Vzorek β -lactose obsahuje β -laktózu-anhydrát a zanedbatelné množství α -laktózy-monohdrátu. Vzorek D-laktose obsahuje především α -laktózu-monohdrát a malé množství β -laktózy-anhydrátu. Alfa-laktose-Supelco má obdobné složení jako D-laktose, ale má podstatně větší podíl β -laktózy-anhydrátu.

7. LITERATURA

1. Kibbe, A. H.: Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3 rd ed. Washington, American Pharmaceutical Association, 2000, s. 276-278
2. Alderborn, G., Nystrom, Ch.: Pharmaceutical Powder Compaction Technology, vol. 71, New York, Marcel Dekker, 1996, s. 459
3. Český lékopis 2005, 2. díl Praha, Grada Publishing a.s., 2005, s. 1842
4. Český lékopis 2005, 2. díl Praha, Grada Publishing a.s., 2005, s. 1844
5. Schmidt, M.: PTA heute, 1, č. 4, 1987, s. 155
6. Elamin, A. A., Sebhatu, T., Ahlneck, C.: Int. J. Pharm., 119, 1995, s. 25
7. Ottenhof, M.-A., MacNaughtan, W., Farhat, I. A.: Carbohydr. Res., 338, 2003, s. 2195
8. Chidaraenzi, O. C., et al.: Int. J. Pharm., 159, 1997, s. 67
9. Roos, Y., Karel, M.: J. Food Sci., 57, 1992, s. 775
10. Larhrib, H., et al.: Int. J. Pharm., 191, 1999, s. 1
11. Buckton, G., et al.: Int. J. Pharm., 168, 1998, s. 231
12. Berlin, E., et al.: Term. Acta, 2, 1971, s. 143
13. Angberg, M.: Term. Acta, 248, 1995, s. 161
14. Lerk, C.F., Buma, T. J., Andreae, A. C. Neth. Milk Dairy J., 34, 1980, s. 69
15. Sebhatu, T., Ahlneck, C., Alderborn, G.: Int. J. Pharm., 146, 1997, s. 101
16. Mazzobre, M. F., et al.: Food Res. Int., 34, 2001, s. 903
17. Mazzobre, M. F., Aguilera, J. M., Buera, M. P.: Carbohydr. Res., 338, 2003, s. 541
18. Fernandez, E., Schebor, C., Chirife, J.: Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 36, 2003, s. 547
19. Jain, R., et al.: Eur. J. Pharm. Biopharm., 46, 1998, s. 177
20. Balestrieri, F., et al.: Therm. Acta, 285, 1996, s. 337
21. Mura, P., et al.: Int. J. Pharm., 119, 1995, s. 71
22. Kedward, C. J., MacNaughtan, W., Mitchell, J. R.: Carbohydr. Res., 329, 2000, s. 423
23. Kedward, C. J., MacNaughtan, W., Mitchell, J. R.: J. Food Sci., 65, 2000, s. 324
24. Darcy, P., Buckton, G.: Term. Acta, 316, 1998, s. 29
25. Saunders, M., et al.: Int. J. Pharm., 274, 2004, s. 35
26. Hill, V. L., Craig, D. Q. M., Feely, L. C.: Int. J. Pharm., 161, 1998, s. 95
27. Larhrib, H., et al.: Int. J. Pharm., 257, 2003, s. 283
28. Brown, M. E.: Handbook of thermal analysis a calorimetry, Vol. I. Amsterdam, Elsevier science B. V., 1998, s. 691
29. Lázníčková, A., Dóubal, S., Gasparovič, J., Dittrich, M.: Fyzikální chemie pro posluchače farmacie II. Díl, Praha, vydavatelství Karolinum, 1997, s. 126
30. Blažek, A.: Termická analýza, Praha SNTL – nakladatelství technické literatury, 1974, s. 294
31. Hohne, G., Hemminger, W., Flammersheim, H. J.: Differential Scanning Calorimetry, Heidelberg, Springer – Verlag, 1996, s. 222
32. Marsh, N. K., O'Hare, P. A. G.: Solution Calorimetry, 1. ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1994, s. 331
33. Velich, V., Šolc, Z.: Chemicko-inženýrská termodynamika Pardubice, Ediční středisko VŠCHT, 1985, s. 95
34. Swarbrick, J., Boylan, J. C.: Encyclopedia of pharmaceutical technology, vol. 15. New York, Marcel Dekker, Inc., 1997, s. 413
35. Giron, D.: Application of thermal analysis in the pharmaceutical industry, J. Phar. Biomed. Anal., 4, 1986, s. 755
36. Anon, A.: Use of thermal methods for the characterization of pharmaceuticals, Phar. J., 245, 1990, s. 183

37. Sigma-Aldrich, Laboratory Chemicals and Analytical Reagents, 2005/2006, s. 1081
38. Sigma, Biochemikálie a reagentie pro výzkum „Life Science“, 2004/2005, s. 1155
39. Instrument manual Netzsch, Selb, Netzsch-GerateBau GmbH
40. Marti, E., et al.: Thermoanalytical Characterization of Pharmaceuticals, Selb, Netzsch-GerateBau GmbH 2000, s. 100.