

## La ricerca della formulazione ottimale per le miscele

Mark J. Anderson e Patrick J. Whitcomb Stat-Ease, Inc.  
2021 East Hennepin Ave, Suite 480, Minneapolis, MN 55413  
Telefono: 612/378-9449, fax: 612/378-2152

Traduzione a cura di D'Ambrosio Maria Pia – <http://www.SixSigmaIn.It>

La tecnica del DOE fornisce un mezzo efficiente per ottimizzare i processi <sup>1</sup>, ma non si dovrebbe limitare l'uso di questi metodi esclusivamente ai processi in cui sono coinvolti solo fattori. Le applicazioni del DOE nelle formulazioni possono portare a risultati interessanti.

Una semplice ma efficace strategia di sperimentazione coinvolge:

1. l'ottimizzazione della formulazione attraverso il mixture design,
2. l'ottimizzazione del processo con il factorial design ed i metodi relativi al response surface.

Questo articolo mostra come applicare i metodi del DOE alle formulazioni.

### Perché i modelli fattoriali non funzionano bene per le miscele ?

I ricercatori si indirizzano tipicamente verso i progetti fattoriali a due livelli, come loro primo tentativo del DOE (Design of Experiments).

Questi progetti consistono in tutte le combinazioni di ogni fattore ai suoi livelli alto e basso. Con tantissimi fattori, soltanto una frazione delle prove sperimentali ha bisogno di essere completata per ottenere le stime degli effetti principali e delle interazioni semplici.

Tuttavia, quando la variabile dipendente misurata o risposta dipende dalle proporzioni degli ingredienti, come nelle formulazioni chimiche o alimentari, i progetti fattoriali possono non avere senso. Per esempio, riferiamoci ad esperimenti relativi alla miscela di succo di limone (tabella 1).

**Table 1: Misleading Factorial Design for Lemonade**

Run	Lemons	Water (cups)	Ratio Lemons/Water	Taste
1	1	1	1.0	Good
2	2	1	2.0	Sour
3	1	2	0.5	Weak
4	2	2	1.0	Good

Nella prova 1 (entrambi i fattori regolati al livello alto) e nella prova 4 (entrambi i fattori regolati al livello basso) la variabile dipendente misurata, il gusto, risulta la stessa.

Avrebbe più senso considerare il gusto in funzione della proporzione dei limoni con acqua e non della quantità.

Il Mixture Design tiene in considerazione la dipendenza della variabile dipendente o risposta sulla proporzionalità degli ingredienti.

Se si conducono esperimenti sulle formulazioni dove importano soltanto le proporzioni, non la quantità, i factorial designs non funzioneranno: si deve utilizzare un mixture design.

Di seguito sarà illustrato come sviluppare e condurre un Mixture Design.

### Come applicare un mixture design

Per illustrare come applicare un mixture design, viene presentato uno studio relativamente semplice che coinvolge tre tipi di tensioattivi<sup>2</sup> (tabella 2).

**Table 2. Mixture Components Studied in Surfactant Experiment**

Component	Description
A ( $X_1$ )	Poloxamer 188 NF
B ( $X_2$ )	Polyoxyethylene 40 monostearate NF
C ( $X_3$ )	Polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester NF

I ricercatori hanno misurato gli effetti di questi tre componenti della miscela su una dispersione acquosa di nanosfere polimeriche.

Lo studio è relativo alle proprietà filmogene di una preparazione farmaceutica.

La tabella 3 mostra il progetto sperimentale, definito come un simplex lattice<sup>3</sup> aumentato, di secondo grado.

**Table 3. Design Matrix and Data for Surfactant Study**

Blend # <sup>a</sup>	A	B	C	Blend Type	Particle Size <sup>b</sup> (nm)	Glass Transition <sup>b</sup> (°C)
1	1.000	0.000	0.000	Pure A	250.1	18.9
2	0.000	1.000	0.000	Pure B	274.1	15.2
3	0.000	0.000	1.000	Pure C	533.5	35.0
4	0.500	0.500	0.000	Binary AB	255.2	16.1
5	0.500	0.000	0.500	Binary AC	267.3	18.9
6	0.000	0.500	0.500	Binary BC	294.3	31.2
7	0.333	0.333	0.333	Centroid	250.5	19.3
8	0.666	0.167	0.167	Check	232.5	18.2
9	0.167	0.666	0.167	Check	251.0	17.7
10	0.167	0.167	0.666	Check	276.0 <sup>c</sup>	30.1
11	0.333	0.333	0.333	Centroid <sup>d</sup>	255.0	19.0

<sup>a</sup>(Actual run order randomized)

<sup>b</sup>(Product is a controlled-release polymeric drug<sup>3</sup> called poly(DL-lactide))

<sup>c</sup>(Statistical outlier.)

<sup>d</sup>(Replicate run.)

La scala va da zero ad uno, in base alle proporzioni relative dei tre ingredienti. Gli sperimentatori hanno mantenuto il totale degli agenti tensioattivi e di tutti gli altri componenti a livelli fissi. Il progetto include una replica di una miscela definita come centroid blend, in altre parole con composizione uguale per i tre componenti. Ciò fornisce soltanto una singola misura statistica dell'errore puro (un " grado di libertà " per la valutazione).

Viene suggerito inoltre di replicare le prove sperimentali inerenti ai componenti puri per ottenere una utile valutazione dell'errore puro.

La figura 1 mostra la posizione dei punti nello spazio della miscela. (si ignorino per il momento i profili tracciati).

In questa disposizione triangolare, gli apici rappresentano le miscele relative ai componenti puri. Le miscele binarie, che forniscono le valutazioni degli effetti di secondo grado, si presentano nei punti mediani dei lati sul triangolo. I punti all'interno, che i ricercatori hanno aggiunto per aumentare il progetto, rappresentano le miscele dei tre componenti. Il punto detto centroide contiene una uguale quantità di tutti e tre gli ingredienti. I punti all'interno del triangolo, fra il centroide ed ogni apice, rappresentano le miscele definite axial check.

Queste miscele a tre componenti contengono  $2/3$  di un componente e  $1/6$  ciascuno degli altri due componenti. Le proporzioni individuali vanno da zero ad uno dalla base all'apice in ciascuno dei tre assi.

Si possono introdurre vincoli sui diversi componenti. Ciò introduce complicazioni che vanno oltre lo scopo di questo articolo. (vedere Cornell per i calcoli matematici conseguenti.)

Softwares applicativi specifici possono preparare progetti ottimali entro regioni confinate della miscela <sup>4</sup>.

## **Generazione del modello matematico**

L'obiettivo di questo studio è quello di minimizzare la dimensione delle particelle per una dispersione migliore e contemporaneamente di minimizzare la temperatura di transizione vetrosa per migliorare la formazione della pellicola.

Le due risposte dimensione e temperatura (variabili dipendenti misurate) sono state interpretate attraverso una regressione con il metodo dei minimi quadrati applicata ai modelli canonici di una miscela. Questi polinomi tengono in considerazione il vincolo generale che la somma di tutti i componenti della miscela deve essere uguale ad uno. Questi modelli matematici possono essere riconosciuti dalla mancanza dell'intercetta.

In una miscela senza costrizioni, i coefficienti di primo ordine indicano il valore della risposta misurata relativa ai componenti puri. Se un modello lineare si rivela sufficiente, ci si può limitare ad usare questi termini per determinare l'efficacia relativa di ogni componente.

Tuttavia, in genere devono essere impiegati termini di ordine più alto e l'analisi diventa più complicata. I termini di secondo grado rivelano le interazioni (come AB).

Per le risposte dove un valore grande indica il meglio, coefficienti di interazione positivi indicano sinergismo. Coefficienti di interazione negativi indicano antagonismo.

Per le risposte, dove il valore basso indica il meglio, (come le due variabili dipendenti in questo esempio), è vero l'inverso: i coefficienti positivi delle interazioni indicano antagonismo ed i coefficienti negativi indicano sinergismo.

Inoltre in questo caso, lo sperimentatore ha condotto prove sperimentali per permettere la valutazione di un termine di terzo ordine, ABC.

Questo termine, denominato "**special cubic**" rivela qualunque interazione a tre componenti. Quando si lavora con le formulazioni chimiche, si deve essere preparati alle interazioni complesse di questo grado. Il progetto va quindi scelto di conseguenza.

La tabella 4 mostra i modelli matematici interpretati della miscela relativi alla dimensione delle particelle e alla temperatura di transizione vetrosa. I coefficienti del modello sono stati calcolati con un software applicativo che supporta correttamente i progetti delle miscele.

**Table 4 - Mathematical Predictive Models for Surfactant Study**

**Particle Size (nanometers):**

$$Y_1 = 252 A + 276 B + 519 C - 517 AC - 456 BC$$

(Overall F=30 with  $p < 0.001 \Rightarrow >99.9\%$  confidence)

**Glass Transition:**

$$Y_2 = 18.5 A + 13.9 B + 36.1 C - 35.2 AC + 19.6 BC$$

(Overall F=30 with  $p < 0.001 \Rightarrow >99.9\%$  confidence)

Il caso in esame ha rivelato che la miscela 10 ha una inattesa bassa dimensione delle particelle. Le statistiche indicano tale valore come un outlier (valore estraneo) altamente significativo. Tuttavia, poiché l'articolo originale di questo studio non rivela una causa speciale per questa deviazione insolita, si decide di mantenere l'outlier ritenuto sospetto.

Se si scopre un valore erratico (outlier) ritenuto sospetto, è più sicuro cercare una causa speciale, come una avaria in una apparecchiatura, o un errore nella preparazione della miscela. Spesso la causa di un valore erratico (outlier) può essere semplicemente un errore nell'inserimento dei dati. Se non si riesce a trovare la causa, si deve essere molto prudenti nel produrre il modello della risposta senza il punto discutibile (outlier). Si possono analizzare le risposte con e senza il punto discutibile (outlier). Se ciò non produce un impatto completamente diverso sulla analisi risultante, è consigliabile mantenere il punto.

Ciò è quello che è stato osservato nel caso in esame, nella risposta relativa alla dimensione delle particelle. La temperatura vetrosa non presenta alcun segno di outlier. Ciò rende meno probabile la presenza di qualche cosa di insolito nei riguardi della miscela 10 e quindi convalida il mantenimento del dato.

### **Ottimizzazione multipla di risposta**

Dato un modello statisticamente significativo, i modelli della miscela diventano la base per successivi response surfaces. I grafici forniscono importanti chiarimenti relativi alla formulazione. Le figure 1 e 3 mostrano i diagrammi di profilo (contour plots) per le due risposte provenienti dalle miscele dei tensioattivi, visionate singolarmente.

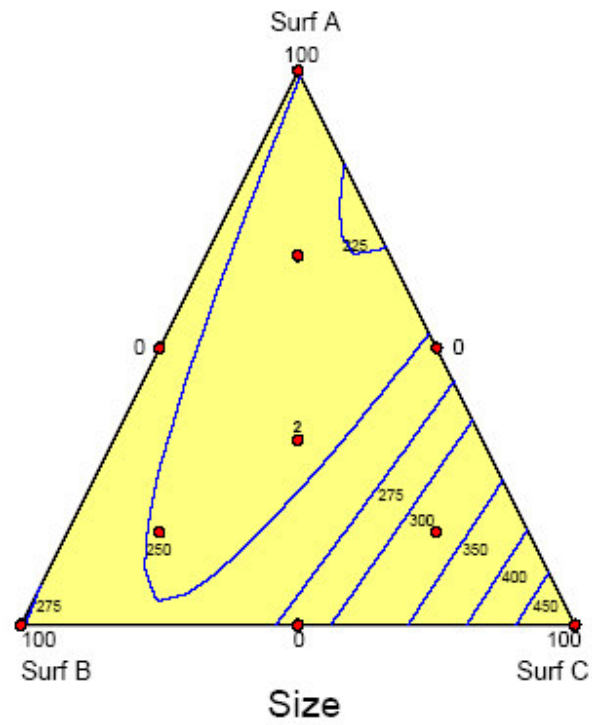


Figure 1. Contour Plot of Particle Size\*  
 \*(from Augmented Simplex Lattice Mixture Design)

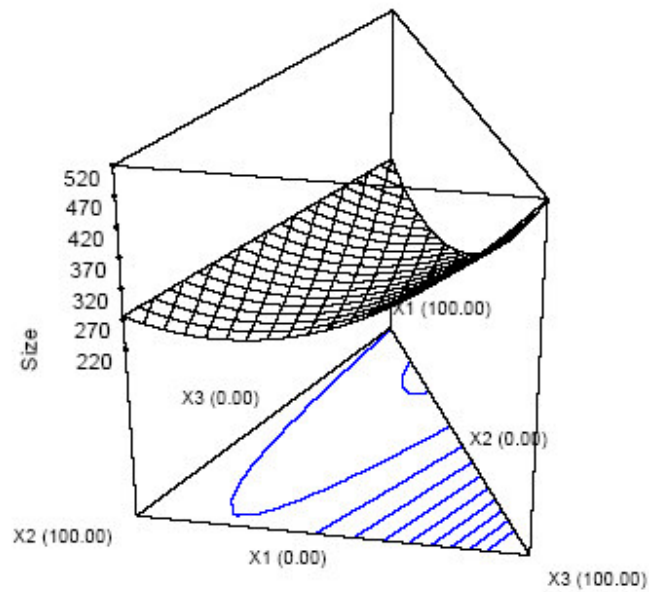


Figure 2. 3D View of Particle Size

Le rappresentazioni 3D (figure 2 e 4) indicano chiaramente che la dimensione delle particelle e la temperatura di transizione vetrosa possono essere entrambe minimizzate orientandosi verso una miscela ricca di agente tensioattivo tipo A (poloxamer 188 NF).

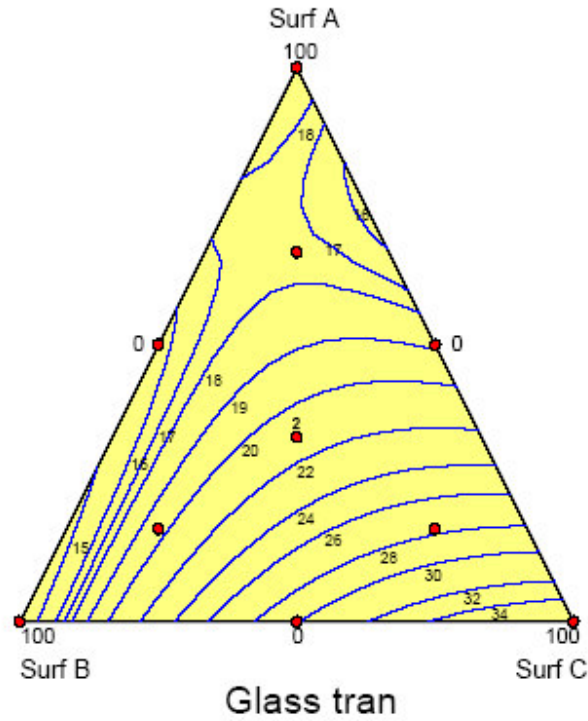


Figure 3. Contour Plot of Glass Transition Temperature

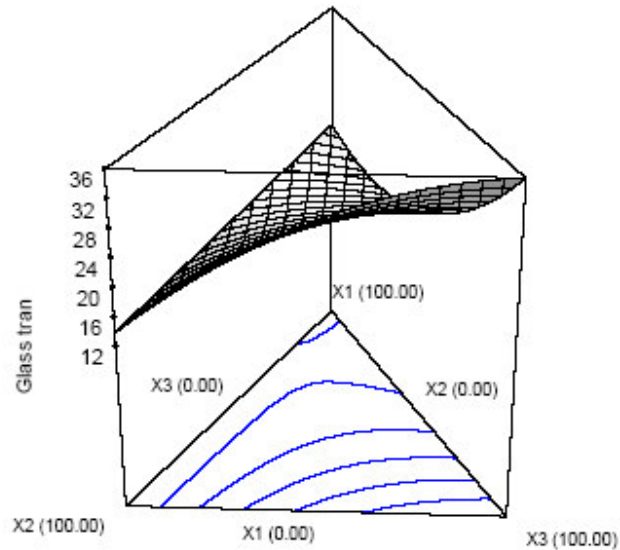


Figure 4. 3D View of Glass Transition Temperature

La figura 5 infine mostra i diagrammi di profilo (contour plots) relativi alle due risposte sovrapposte (dimensione delle particelle e temperatura di transizione vetrosa), con specifiche ipotesi di valore massimo.

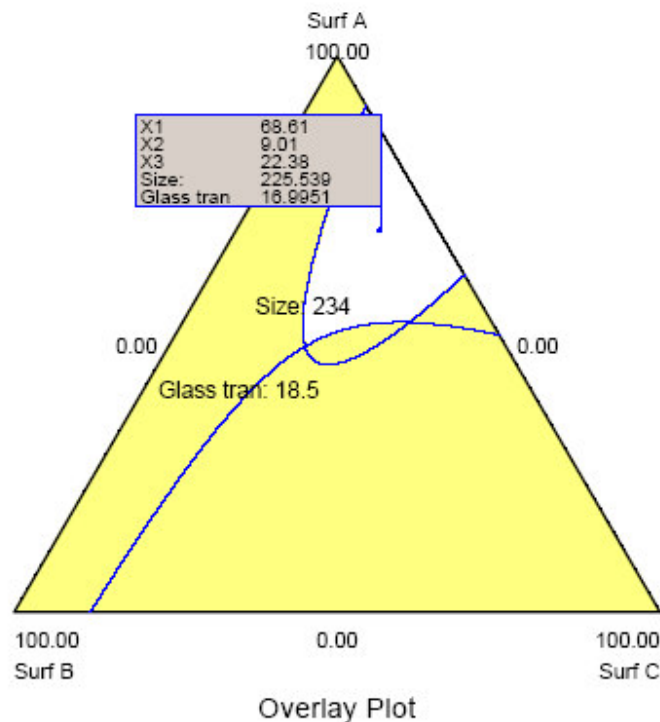


Figure 5. Overlay Contour Plot of Particle Size and Glass Transition Temperature

La zona di sovrapposizione rivela le aree operative in cui si trovano " il punto desiderabile" e quindi soddisfare tutte le specifiche del progetto.

Quando si lavora con più di tre componenti, o più di due fattori di processo, può diventare difficile trovare questa area, perché si deve cercare attraverso uno spazio multidimensionale. Gli algoritmi di ricerca numerica diventano allora una necessità fondamentale<sup>5</sup>.

In aggiunta potrebbero anche essere considerati i costi dei singoli componenti durante questa fase dell'analisi. Per le formulazioni ciò è relativamente facile: basta solo inserire l'equazione del costo, come funzione dei livelli dei componenti. Si considera il costo come ulteriore variabile dipendente avremo anche il relativo contributo nel diagramma della sovrapposizione o nella ottimizzazione della risposta numerica multipla.

### Opzione per le miscele: l'uso dei rapporti

Come alternativa all'uso di una scala delle proporzioni si può considerare la possibilità di usare i rapporti.

Per esempio, dopo aver stabilito un agente tensioattivo, si può condurre uno studio standard di response surface variando i rapporti del polimero-agente tensioattivo, mentre simultaneamente si varia il rapporto solido/liquido. Con le variabili della miscela espresse come rapporti, si possono

aggiungere all' esperimento fattori di processo quali ad esempio la velocità di agitazione, la temperatura e ed altri parametri affini.

Si deve prestare attenzione quando si stabiliscono i rapporti, seguendo queste regole:

1. Il numero di rapporti deve essere uno in meno rispetto al numero di componenti;
2. Ogni rapporto deve includere almeno un componente in almeno un altro rapporto.

Per ulteriori dettagli sull'uso dei rapporti, vedere il riferimento di Cornell.

I metodi relativi alla combinazione dei fattori di processo e i componenti della miscela sono relativamente poco sviluppati.

(vedere articolo **Designing Experiments that Combine Mixture Components with Process Factors** - Mark J. Anderson and Patrick J. Whitcomb)

### **Altre cautele**

Il Mixture Design è adatto soltanto quando la variabile dipendente misurata o risposta varia in funzione delle proporzioni, non della quantità totale degli ingredienti.

In alcuni casi, come l'applicazione di rivestimenti, questo presupposto non può essere soddisfatto e si deve usare un approccio alternativo al DOE. Cornell fornisce i dettagli relativi ai progetti "quantità- miscela". Si può inoltre usare l'approccio relativo al rapporto descritto sopra, con la quantità aggiunta come fattore separato.

Si deve anche considerare se è ragionevole variare ogni ingrediente in un range da 0 al 100 %. In molte situazioni, si devono imporre dei vincoli ad uno o più degli ingredienti, o su una certa combinazione degli ingredienti.

**Un buon software per il Mixture Design dovrebbe fornire facilmente la gestione di questi vincoli.** I vincoli possono formare regioni complesse che non possono essere contemplate dai progetti standard della miscela, perciò si dovrebbe scegliere il software che possa pianificare dei progetti ottimali, i quali diano il modello polinomiale che è stato anticipato, necessario per modellare la variabile dipendente o risposta.

Se invece si dovranno mettere a fuoco primariamente i fattori di un processo e si desidera includere la concentrazione di singolo prodotto chimico, allora ci si può ritenere liberi di usare un classico Factorial Design o un Response Surface.

Per esempio, si potrebbe studiare il tempo, la temperatura e la concentrazione in un progetto fattoriale  $2^3$  fattoriale con 8 prove.

### **Conclusione**

I metodi del DOE possono essere applicati alle formulazioni se si considerano gli aspetti singolari delle miscele. Usando progetti appropriati, si può accelerare notevolmente l' esplorazione delle possibili alternative compositive della miscela. Poi, con l'aiuto dei grafici response surfaces basati sui modelli della miscela, si può scoprire la combinazione vincente dei singoli componenti.

## **Bibliografia**

- (1) Anderson, M.J., Whitcomb, P.J., "Optimize Your Process-Optimization Efforts," Chemical Engineering Progress, December 1996.
- (2) Frisbee, S.E., McGinity, J.W., "Influence of Nonionic Surfactants on the Physical and Chemical Properties of a Biodegradable Pseudolatex," European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 40, No. 6 (December 1994).
- (3) Cornell, Experiments with Mixtures, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc, New York, 1990.**
- (4) 1996 CEP Software Directory, "Mathematics, Statistics" section.
- (5) Anderson, M.J., Whitcomb, P.J., "Optimizing Formulation Performance with Desirability Functions", Quebec Metallurgical Conference, 1993.