

## NUEVOS PARÁMETROS PARA EVALUAR LA FORMA DE LAS PARTÍCULAS MEDIANTE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN I. DEFINICIÓN Y EVALUACIÓN

*Sergio Almeida Prieto, José Blanco Méndez y Francisco Javier Otero Espinar*

*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Farmacia. Campus Universitario sur. 15782 Santiago de Compostela.*

### Introducción

La caracterización morfológica de una partícula mediante el empleo de equipos de análisis de imagen (AI), debe realizarse desde tres aspectos diferentes (1-2): forma geométrica, redondez de vértices y lados que forman los perfiles de su proyección y textura superficial. Sin embargo, si observamos detenidamente la bibliografía publicada sobre el tema es fácil darse cuenta de la falta de homogeneidad en los parámetros propuestos para la evaluación morfológica. No solo por su cantidad, sino sobre todo en su definición, nominación y establecimiento de las ecuaciones para su cálculo (1). Esto hace muy difícil la comparación entre los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios

Un aspecto común a la mayor parte de los factores de forma, es su estrecha dependencia del modo de estimación y cálculo que emplee el AI en la determinación de las principales dimensiones de las partículas. Además la gran mayoría de estos parámetros, han sido propuestos con el fin de evaluar lo cerca que se encuentra la forma de una partícula de la de una esfera perfecta. Sin entrar en consideraciones sobre su eficacia, la mayoría presentan el inconveniente de ser incapaces de identificar otras proyecciones de geometría diferente a la de un círculo. Sin embargo, desde un punto de vista práctico sería interesante identificar otras formas geométricas que pueden aparecer durante las etapas del proceso de microencapsulación, granulación o peletización o identificar cual es la causa de que una formulación se aleje de la forma esférica. La

evaluación del tamaño y la forma de los productos obtenidos durante estos procesos permitiría una monitorización y puesta a punto más racional de los procesos de producción.

El objetivo principal de este trabajo es la propuesta, definición y evaluación de dos nuevos parámetros de forma ( $V_r$  y  $V_p$ ) que, de manera conjunta, permitan definir los tres aspectos asociados al análisis morfológico de las partículas y cuyo cálculo sea lo más independiente posible del equipo de AI empleado.

### Materiales y Métodos

Para la estimación de  $V_r$ ,  $V_p$ ,  $AR$  y  $\varphi$  se ha empleado el software de AI Sigma Scan Pro Image Análisis 5.0.0. y para la circularidad y el diámetro de feret el PCImage VGA 2.4.

Las simulaciones empleadas en la evaluación de los nuevos parámetros se construyeron empleando software de diseño vectorial incluido en CorelDraw Graphic suite 9 Las formas fueron construidas en modo de escala de grises de 8 bits sobre un archivo de 702x420 píxeles similar al empleado por el equipo de AI que disponemos en nuestro laboratorio para almacenar las imágenes digitalizadas de los pelets

Los factores de forma propuestos en este trabajo,  $V_r$  (variabilidad del radio) y  $V_p$  (variabilidad del perímetro) están basados en una combinación de medidas de tipo estadístico y geométricas respectivamente. Para proceder al cálculo de  $V_r$  es necesario determinar previamente diferentes vectores radiales de la imagen de la partícula. El modo de estimación empleado va a depender del software de AI

empleando para el análisis. Una vez estimados un número representativo de vectores radiales, se calcula su media y se determina la variación media de las distancias normalizadas  $r_i$ , con respecto al radio medio ( $r_m$ ).

$$Vr = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{|r_i - r_m|}{r_m}}{n} \times 100$$

Vr tomará valor 0 para formas geométricas de radio homogéneo (círculo perfecto) aumentando este valor a medida que se aleje de esta geometría.

El segundo parámetro, Vp (ecuación 4), tiene como objetivo evaluar la textura superficial de las partículas. Este parámetro se basa en la determinación de la variación (%) entre el perímetro real de la proyección, comparado con el perímetro de un círculo perfecto de radio igual al radio medio ( $r_m$ ) estimado para imagen de la partícula. En nuestro caso el perímetro real de la proyección de las partículas se estimó como la suma del total de las distancias existentes entre los píxeles que definen el perímetro de la imagen

$$Vp = \frac{|2\pi r_m - P_{\text{measured}}|}{2\pi r_m} \times 100$$

Este parámetro poseerá un valor 0 cuando el perímetro de la proyección este constituido por una circunferencia, e irá aumentando a medida que lo haga su perímetro como consecuencia de la existencia de irregularidades o rugosidad.

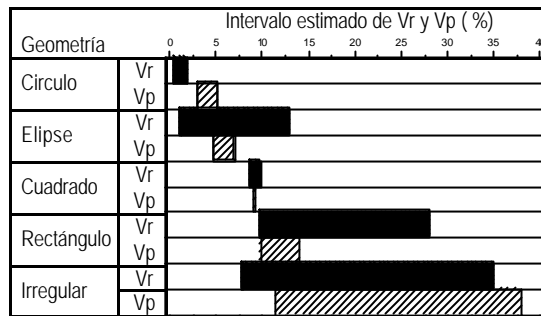
**Resultados y Discusión**

En la tabla 1 se incluyen los valores límites de los factores de forma Vr y Vp calculados para las principales formas que pueden aparecer durante los procesos de peletización. Los límites se establecieron a partir de formas simuladas con diferentes dimensiones y relaciones de aspecto.

El análisis de los intervalos muestra la gran sensibilidad de ambos parámetros para diferenciar desviaciones de la forma circular.

Vr aumenta rápidamente a medida que lo hace la excentricidad o la relación de aspecto de formas elípticas y rectangulares. Además, discrimina los círculos de aquellas formas con igual relación de aspectos pero forma geometría diferente (ej. cuadrados). Estas diferencias se observan igualmente en Vp.

**Tabla 1.** Intervalos de valores de Vr y Vp para diferentes geometrías. Los cálculos se realizaron sobre la base de simulaciones de imágenes de partículas no rugosas.



Podemos observar como la mayoría de las geometrías estudiadas pueden diferenciarse a partir del análisis único de Vr, existiendo un solapamiento de valores sólo en aquellas formas geométricas (elipses, rectángulos...) muy alargadas.

Para evitar estas confusiones puede acudir al análisis conjunto de ambos parámetros. En condiciones normales las elipses, aún con valores de excentricidad elevados, presentan un Vp sensiblemente inferior a cuadrados y rectángulos. Asimismo, la mayoría de las formas irregulares presentaron valores de Vp muy superiores a los de los rectángulos por lo que en principio podrán distinguirse, salvo en los casos en los que éstas presenten un AR próximo a 1, o bien presenten muy pocas irregularidades.

Los cálculos realizados hasta el momento, muestran que ambos factores se comportan de manera aceptable, tanto para detectar desviaciones de la forma esférica, como para identificar las principales geometrías que pueden aparecer durante el estudio morfológico de los pelets. Sin embargo, para contrastar su validez es necesario compararlos con los parámetros que se utilizan habitualmente. Basándonos en la bibliografía hemos seleccionado dos parámetros clásicos, relación de aspecto (AR) y circularidad, así como el recientemente propuesto  $e_r$  (2,3):

Para comparar la eficiencia Vr y Vp con respecto a estos tres parámetros, se simularon inicialmente 18 formas geométricas diferentes, en las que se variaron forma, aspecto y roundnes, siempre tomando como base las principales geometrías presentes en los procesos de peletización. Llama la atención que

dos de los parámetros, AR y  $e_r$ , confundan sistemáticamente todas aquellas figuras regulares o irregulares que poseen idéntica relación entre altura-anchura (ej.  $e_{r\text{ cuad}}=0.89 > e_{r\text{ cir}}=0.87; AR_{\text{cuad}}=AR_{\text{cir}}=1$ ). Esta inoperancia, se basa sobre todo en el empleo para su cálculo de la relación existente entre longitud y anchura bien de forma exclusiva (AR) o conjuntamente con la relación entre perímetros (equivalente y real) ( $e_r$ ), Caso contrario son el Vr y el Vp que presentan gran sensibilidad a mínimos cambios en la forma geométrica, independientemente de las relaciones de aspecto que posean.

Hay que destacar también la sensibilidad de AR,  $e_r$  y Vr a modificaciones en el aspecto de la forma geométrica (fig. 2), viéndose influido también el Vp aunque en menor medida. La circularidad, es el único de los parámetros que se muestra insensible a las modificaciones. Este comportamiento es de gran importancia ya que la circularidad, bajo sus múltiples denominaciones, es uno de los factores de forma más empleados para evaluar la morfología de los pelets.

Otra de las características morfológicas importantes es la redondez, entendida como una propiedad relacionada con el nivel de la curvatura de las esquinas de las proyecciones de las partículas. Para su evaluación, se partió de un cuadrado y un rectángulo a los que se suavizaron progresivamente los vértices

Vr, Vp y circularidad son los parámetros más sensibles a modificaciones en esta propiedad, de forma que la suavización de los vértices hace que los valores tiendan hacia los de círculos y elipses.

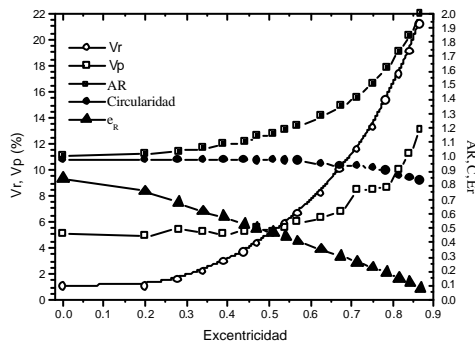


Fig 1.- Evolución de los parámetros de forma en función de la excentricidad de diferentes elipses.

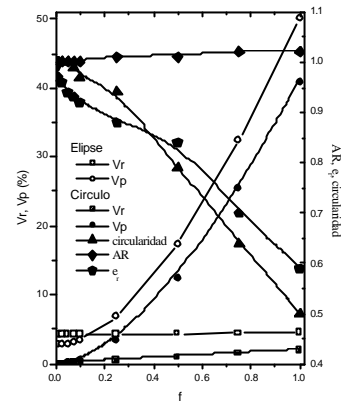


Fig. 2.- Influencia de la rugosidad sobre los parámetros de forma. La variable f representa un factor que permite modular los niveles de rugosidad.

Por el contrario, los dos factores de forma basados en la relación longitud/altura apenas se ven modificados.

Hasta el momento hemos basado todas nuestras comparaciones en proyecciones en las que la única rugosidad se debe al ruido causado por el pixelado. Sin embargo en la bibliografía se ha descrito la importancia de la textura sobre algunos de los factores de forma como es el caso del  $\epsilon$  (2,3). Para contrastar su eficacia, hemos realizado dos tipos de estudios. En primer lugar, simulamos 10 niveles de rugosidad sobre una esfera perfecta de 2 mm de radio y una elipse de 2X1.7 mm y en segundo lugar, para modificar el tipo de textura y simular el efecto del pixelado, construimos 22 polígonos regulares inscritos en una circunferencia de 45 píxeles de radio, modificando su número de lados (3 a 25).

En la figura 2 se muestra el efecto de la rugosidad inducida sobre los 5 parámetros de forma estudiados. Los factores más sensibles a este tipo de rugosidad son aquellos que incluyen el perímetro en su cálculo, es decir Vr,  $\epsilon$  y circularidad, permaneciendo constante AR y Vr. En cuanto al segundo aspecto relacionado con la textura, en la figura 3 se representan los resultados en función del número de lados de los polígonos. Vr y Vp, presentan valores máximos, muy alejados de los de un círculo, para las geometrías con menor número de lados 'n' como es el caso del triángulo y cuadrilátero, disminuyendo de manera asintótica a medida que aumenta n. A partir de  $n > 10$ , los dos factores tienden a estabilizarse en torno a 0.5 (Vr) y 5 (Vp) que se encuentran incluidos en el intervalo

descrito para los círculos (tabla 1). Un comportamiento similar se observa con la circularidad, aunque en este caso se obtienen valores mayores a 0.9 a partir ya de  $n = 6$ . Para  $e_r$  se observa un comportamiento irregular, alcanzando una serie de valores mínimos y máximos en función del número de lados del polígono lo que muestra deficiencias en el parámetro para evaluar este tipo de modificaciones en la forma.

El estudio realizado con los polígonos pone en evidencia la importancia de que las proyecciones estén definidas por un número mínimo de píxeles para obtener una adecuada definición del perímetro de la proyección (fig.4). De forma independiente al AI, es posible calcular de manera sencilla el menor tamaño en píxeles que debe poseer una partícula, para que el efecto de la definición y digitalización sean mínimos. Para ello, simulamos proyecciones esféricas de diferentes dimensiones a partir de las que se calcularon los valores de  $V_r$  y  $V_p$

La representación gráfica (fig. 4) de  $V_r$  y  $V_p$ , indica que ambos presentan valores extremos cuando las proyecciones son de pequeño tamaño y se estabilizan a medida que su radio aumenta. Las proyecciones de menor tamaño están definidas por pocos píxeles, por lo que el factor  $V_r$  aumenta incluso hasta valores próximos a los de un cuadrilátero (para  $r=5$ ).  $V_p$  también sufre variaciones en función del radio, aumentando a medida que lo hace su tamaño.

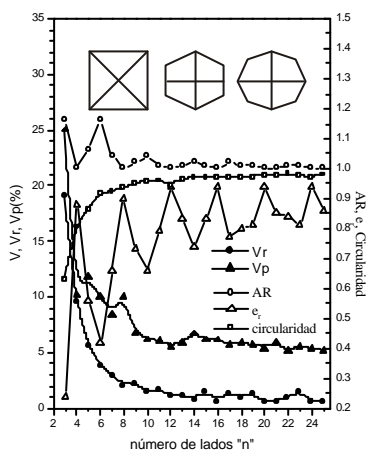


Fig. 3.- Influencia del número de lados de polígonos inscritos. Los tres polígonos son un ejemplo de como calcula la longitud y anchura el SigmaScan Pro.

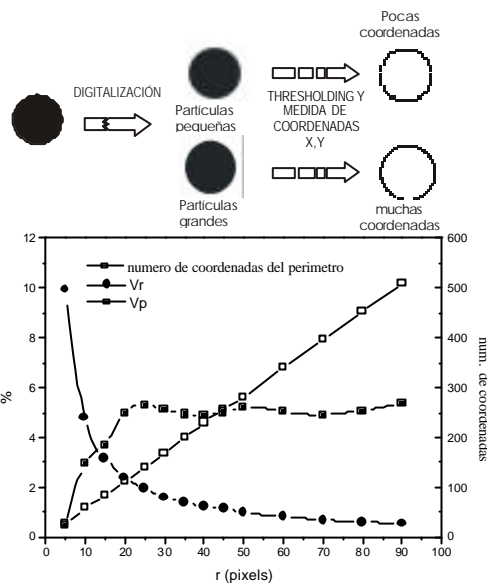


Fig. 4.- Influencia del radio de las proyecciones esféricas sobre los factores de forma.

Teniendo en cuenta los valores estimados inicialmente para los círculos, podríamos establecer que para obtener bajos niveles de 'ruido' y por lo tanto valores significativos y representativos de la forma de las partículas, éstas deben poseer un radio mínimo de 25-30 píxeles. De forma práctica el valor mínimo real va a depender del equipo de AI del que se disponga y en concreto de la resolución óptica del sistema y del hardware empleado en la digitalización y procesamiento de las imágenes.

### Bibliografía

1. S. Almeida Prieto, J. Blanco Méndez y F.J Otero Espinar, Evaluación morfológica de partículas mediante análisis de imagen. Ejemplo de la necesidad de homogeneización y armonización de criterios VI Congreso SEFIG, Granada 2003
2. F. Podczec y M.J. Newton. A shape factor to characterize the quality of spheroids J. Pharm. Pharmacol. 46, 82 (1994).
3. F. Podczec, S.H. Rahman, y M.J. Newton. Evaluation of a standardised procedure to assess the shape of pellets using image analysis Int. J Pharm. 19:123 (1999).

Autor de contacto:

Francisco J Otero Espinar

ffrotero@usc.es

Dpto de Farmacia e Tec. Farmacéutica.

Universidade de Santiago de Compostela

Campus sur s/n

Santiago de Compostela

Telf.: 981 563100 ext 14878. Fax: 981547148