

UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA

ESTUDI DE LA FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS
DE FASE EXTERNA AQUOSA I SOLUBILITZACIÓ DE
FÀRMACS LIPÒFELS

Núria Sadurní Gràcia, 2006

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. SELECCIÓ D'EXCIPIENTS

Un dels objectius d'aquest treball ha estat la formació de nano-emulsions de fase externa aquosa per a la seva administració com a sistemes d'alliberació de principis actius. Considerant la possible aplicació farmacèutica de les formulacions a desenvolupar en aquest treball, en primer lloc, va ser necessari fer la selecció d'excipients adequats. Mitjançant una recerca bibliogràfica es va fer una recopilació dels tensioactius, cotensioactius i solvents usats amb finalitats terapèutiques per a ser administrats per via parenteral, oral o tòpica (Lundberg, 1994; Jumaa, 1998a; Jumaa, 1998b; Jumaa, 1999; Gershanik, 2000; ICI, 2001; Degussa, 2002; ICI, 2002; Trotta, 2002; Gattefossé, 2004; Handbook Pharm. Excip., 2005; BASF, 2005a; BASF, 2005b). Es van escollir els que havien donat lloc, segons la bibliografia, a les dispersions de mida de gota més petita i més estables i els menys tòxics. En la següent taula es resumeixen els excipients utilitzats en aquesta tesis doctoral (detallats en l'apartat 3.1.) juntament amb una breu descripció de la seva naturalesa química i la seva toxicitat segons la via d'administració en la que poden ser utilitzats.

Taula 4.1. Descripció química, vies d'administració i toxicitat dels excipients emprats en la tesi (Handbook Pharm. Excip., 2005; BASFa; BASFb; ICI, 2001; Gattefossé, 2004).

TIPUS D'EXCIPIENT	DESCRIPCIÓ QUÍMICA	VIES D'ADMINISTRACIÓ	TOXICITAT (segons via admin.)
Tensioactiu (nom comercial)			
Cremonophor EL	No iònic etoxilat	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic ¹
Synperonic F68	No iònic de tipus bloc copolimèric	Tòpica Rectal Parenteral	No tòxic (no irritant, no sensibilitzant) No tòxic No tòxic
Solutol HS15	No iònic etoxilat	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic No tòxic No tòxic
Epikuron 200	Fosfatidilcolina purificada d'origen vegetal	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant, no sensibilitzant) No tòxic No tòxic
Co-tensioactius	DESCRIPCIÓ QUÍMICA	VIES D'ADMINISTRACIÓ	TOXICITAT
Polietilenglicol 400		Tòpica Oral Rectal Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic No tòxic ²
Transcutol P (nom comercial)	Èter monoetílic de dietilenglicol purificat	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic
Solvents	DESCRIPCIÓ QUÍMICA	VIES D'ADMINISTRACIÓ	TOXICITAT
Miglyol 812 (nom comercial)	Triglicèrid de cadena mitja d'origen mineral	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic
Oli de ricí	Triglicèrid de cadena llarga d'origen vegetal	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic
Oli de soja	Triglicèrid de cadena llarga d'origen vegetal	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic ³
Oli d'oliva	Triglicèrid de cadena llarga d'origen vegetal	Tòpica Oral Parenteral	No tòxic (no irritant) No tòxic No tòxic
Aigua Milli-Q (desionitzada i filtrada)		Tòpica Oral Rectal Parenteral	No tòxic No tòxic No tòxic No tòxic

¹ Reaccions anafilàctiques en casos aïllats en ser administrat per via parenteral

² Poden administrar-se fins a concentracions del 30% v/v per via parenteral

³ S'han descrit l'aparició d'efectes adversos greus (reaccions d'hipersensibilitat, reaccions del sistema nerviós central i embolismes) en ser administrat per via parenteral

Tots els excipients utilitzats en la tesis doctoral són aptes per ser administrats per via tòpica, oral i parenteral. Alguns d'ells, com es descriu en la Taula 4.1, poden provocar, excepcionalment, algun tipus d'efecte advers quan són administrats per via parenteral, com és el cas del Cremophor EL, el polietilenglicol 400 i l'oli de soja.

4.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS AMB MÈTODES DE BAIXA ENERGIA

4.2.1. ESTUDIS PRELIMINARS

Un cop seleccionats els excipients es va procedir a fer un estudi sistemàtic sobre la formació de nano-emulsions per mètodes de baixa energia a temperatura constant en sistemes tipus aigua/tensioactiu/component oliós que contenien alguns dels excipients descrits a la Taula 4.1 ja fossin amb un únic tensioactiu o component oliós o combinant més d'un amb diferents proporcions (Taula 4.2).

Taula 4.2. Tensioactius i solvents utilitzats en la formació de nano-emulsions per mètodes de baixa energia a temperatura constant.

TIPUS D'EXCIPIENT	NOM COMERCIAL
Tensioactius i co-tensioactius	Cremophor EL
	Synperonic F68
	Solutol HS15
	Polietilenglicol 400
Solvents	Miglyol 812
	Oli de ricí
	Oli de soja
	Oli d'oliva
	Aigua Milli-Q

Com s'explica en la introducció la major part dels mètodes d'emulsificació utilitzats per formar nano-emulsions descrits en la literatura corresponen a mètodes d'alta energia. Aquests requereixen un aport d'energia externa ja sigui mecànica tèrmica etc. La formació de nano-emulsions per mètodes de baixa energia tot i que ha estat estudiada encara resulta poc coneguda tenint en compte els avantatges que suposa l'ús de l'energia química del propi sistema per emulsionar. En aquesta primera etapa de la investigació es van estudiar mètodes d'emulsificació de baixa energia en els que es pretenia obtenir nano-emulsions mitjançant les transicions de fases durant el procés de nano-emulsificació a temperatura constant.

En estudis anteriors es van formar nano-emulsions de tipus oli-en-aigua en el sistema aigua/Cremophor EL:Cremophor WO7 3:1/miristat d'isopropil mitjançant addicions successives d'aigua a mescles oli/tensioactiu a elevada temperatura (Delgado □Tesi doctoral □1998; Uson □Tesi doctoral □2003). El fet que en aquests treballs s'utilitzés com a tensioactiu en proporció majoritària el Cremophor EL □que és un dels tensioactius seleccionats en aquest treball □va donar lloc a desenvolupar un mètode de formació similar que consistia en variar la composició del sistema durant el procés d'emulsificació a temperatura constant.

En el present treball es va mantenir l'ordre i la velocitat d'addició d'un dels components: addicions successives de petites quantitats d'aigua a barreja oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades. En quant a l'elecció de la temperatura durant l'emulsificació □per tal de minimitzar despeses d'energia es va emulsificar a 25°C. No obstant □degut a l'aparició de fases molt viscoses durant l'emulsificació en alguns dels sistemes escollits (p.ex. aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Synperonic F68/Miglyol 812) □que impossibilitaven una òptima homogeneïtzació de les mostres □es va optar per augmentar la temperatura fins a 70°C. A aquesta temperatura no es produeix la degradació química de cap dels excipients utilitzats. Un cop preparades les mostres es mantenien termostatitzades a 25°C.

Per a aquest estudi preliminar es van formar dispersions □segons el mètode descrit □amb una concentració elevada i constant d'aigua □90% □i diferents relacions oli/tensioactiu. L'objectiu va consistir en formar composicions transparents o translúcides fins a la relació oli/tensioactiu més elevada possible. Així doncs □es va partir de la relació 10/90 O/T per a tots els sistemes. □uan es formaven composicions transparents o translúcides □s'assajava la relació 20/80 O/T □i així successivament fins que s'obtenia una composició lletosa □indicatiu de que l'emulsió té una mida de gota gran (superior a uns 300 nm). Aquest fet es va comprovar posteriorment mitjançant la caracterització de les mostres per dispersió dinàmica de llum làser. En la Figura 1.1 apareixen representades en un diagrama de fases les composicions formades en els estudis preliminars □corresponents a la intersecció entre les línies que uneixen punts d'una mateixa relació O/T i la línia que uneix punts amb un percentatge constant d'aigua □el 90%.

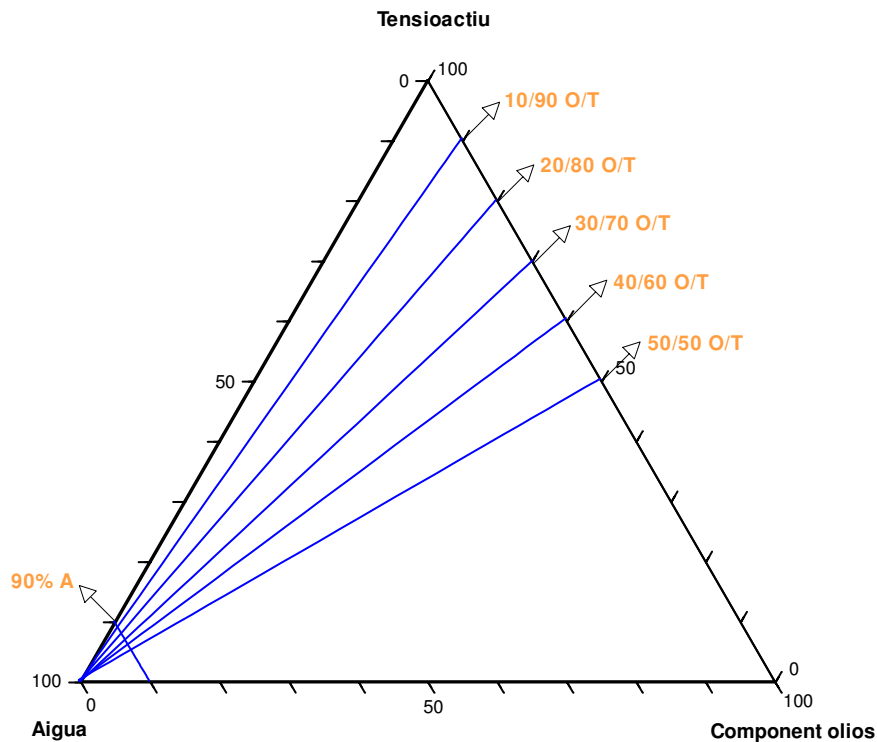


Figura 4.1. Diagrama triangular aigua/tensioactiu/component oliós, amb les línies que uneixen punts d'una mateixa relació O/T i amb la línia que uneix punts amb un percentatge constant d'aigua (90%).

La formació d'una dispersió transparent o bé translúcida pot ser indicatiu de que es tracta d'una nano-emulsió o d'una microemulsió□doncs els dos tipus de dispersions poden presentar el mateix aspecte. Amb aquests estudis preliminars es va distingir entre una o altra preparant una mateixa dispersió de dues maneres diferents. El primer mètode de preparació consisteix en el mètode d'elecció en aquest treball per formar nano-emulsions (addició d'aigua a mesclures oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades). El segon mètode consisteix en la pesada de tots els components i la seva homogeneïtzació (mescla directa de tots els components). Tenint en compte que les microemulsions són sistemes que estan en equilibri termodinàmic mantenen les mateixes propietats (transparència□ viscositat□ etc.) independentment del mètode de preparació□per tant□la seva formació no depèn del mètode de preparació sinó que és espontània. En canvi□ les propietats de les nano-emulsions depenen del mètode de preparació.

4.2.1.1. SISTEMES AIGUA/CREMOPHOR EL/COMPONENT(S) OLIÓS(OS)

En una primera etapa s'ha estudiat la formació de nano-emulsions en sistemes amb Cremophor EL com a tensioactiu i amb diferents components oliosos (un oli mineral, Miglyol 812 i diversos olis vegetals, oli de ricí, oli de soja i oli d'oliva, sols o combinats entre ells). Els resultats es mostren a la Taula 4.3.

La Taula 4.3 mostra que es formen dispersions transparents en els sistemes amb Miglyol 812, oli de ricí, oli de soja i la barreja de Miglyol 812 i oli de ricí en proporció 1:1 com a component oliós, però en canvi s'obtenen dispersions opaques en el sistema amb oli d'oliva. Les dispersions formades corresponen a nano-emulsions perquè la seva formació depèn del mètode de preparació (per 'addició directa' presenten un aspecte tèrbol).

Taula 4.3. Formació de nano-emulsions en sistemes tipus aigua/Cremophor EL/component(s) oliós(os), amb un 90% d'aigua i diferent relació O/T .

COMPOSICIÓ			OBSERVACIONS (25°C)		TIPUS DE DISPERSIÓ
Component oliós	%T	Relació O/T	Addicions successives d'aigua	Mescla components	
Miglyol 812	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	5	50/50	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
Oli de ricí	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
Oli de soja	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
Oli d'oliva	9	10/90	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
	8	20/80	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
	7	30/70	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
Miglyol:oli de ricí 1:1	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional

A la Figura 4.2 es representa la formació de nano-emulsions en funció de la relació O/T i de la fracció d'oli present en la mescla component oliós/tensioactiu (O/T) per als diferents sistemes aigua/Cremophor EL/component oliós.

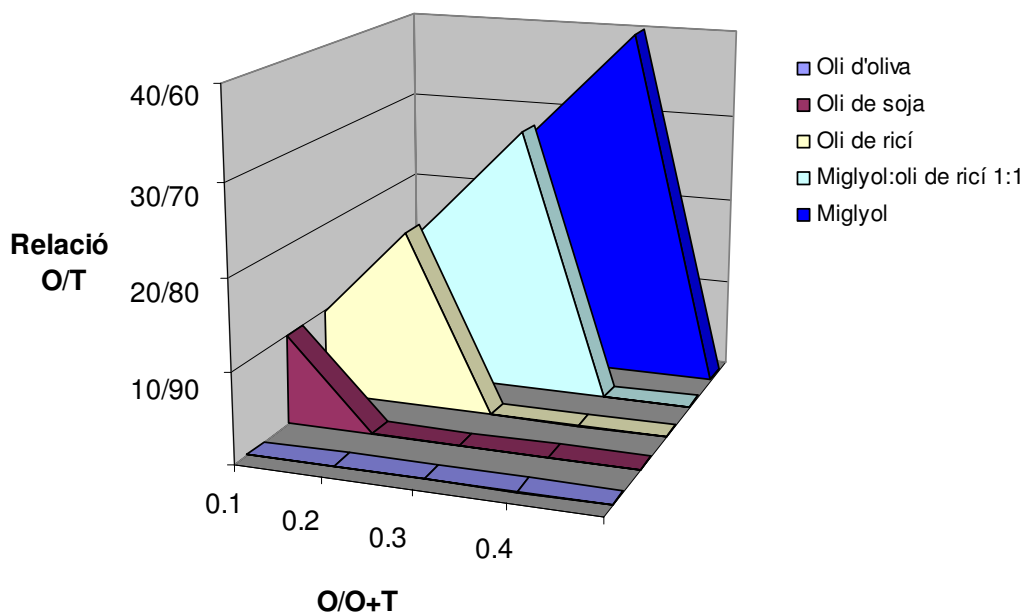


Figura 4.2. Relacions O/T en que s'han format nano-emulsions en funció de la fracció d'oli present en la mescla oli/tensioactiu en els sistemes aigua/Cremophor EL/component(s) oliós(os) amb un 90% d'aigua.

En el sistema amb Miglyol 812 s'han format nano-emulsions per a relacions O/T més elevades (fins la relació 40/60 O/T). En substituir el Miglyol 812 per oli de ricí la màxima relació O/T de formació de nano-emulsions disminueix fins a 20/80. Per tal d'estudiar l'existència d'un possible sinergisme entre dos components oliosos respecte a la formació de nano-emulsions es va barrejar Miglyol 812 i oli de ricí en proporció 1:1. La relació O/T màxima de formació (30/70) va ser intermitja entre la obtinguda pel sistema amb Miglyol 812 (40/60) i amb oli de ricí (20/80). Així doncs no es va observar sinergisme entre ambdós components. Quan el component oliós és l'oli de soja les nano-emulsions es formen per a relacions O/T encara més petites (10/90). En el sistema amb oli d'oliva no es formen nano-emulsions a la relació estudiada 10/90 O/T.

Tenint en compte la diferent polaritat dels olis, el Miglyol 812 (que consisteix en triglicèrids de cadena mitjana) és unes 100 vegades més soluble en aigua que els triglicèrids de cadena llarga, com són l'oli de ricí, l'oli de soja o l'oli d'oliva (Handbook Pharm. Excip., 2005). Malgrat ser pràcticament insoluble en aigua, l'elevada solubilitat del Miglyol 812 en aigua respecte la resta de components oliosos podria explicar la formació d'una extensa regió de nano-emulsions O/W en el sistema amb Cremophor EL com a tensioactiu. En quan a la solubilitat de la resta de components oliosos, s'han trobat en la literatura uns valors dels paràmetres de solubilitat a 25°C per a l'oli de ricí i l'oli de soja molt similars, 900 i 891 cal^{1/2}/cm^{3/2}, respectivament (King, J.W., 1995).

4.2.1.2. SISTEMES AIGUA/CREMOPHOR EL:SYNPERONIC F68/MIGLYOL 812

Així mateix, s'ha estudiat l'efecte de l'addició d'un tensioactiu de tipus bloc copolímer en la formació de nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812. Els resultats es mostren en la Taula 4.4.

Taula 4.4. Formació de nano-emulsions en sistemes aigua/Cremophor EL:Synperonic F68/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua i diferents relacions dels dos tensioactius i de la relació O/T.

COMPOSICIÓ			OBSERVACIONS (25°C)		TIPUS DE DISPERSIÓ
Relació Crem:Syn	%T	Relació O/T	Addicions successives d'aigua	Mescla components	
3:1	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
1:1	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
1:3	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
0:1	9	10/90	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional

S'han format dispersions transparents en composicions amb relacions Cremophor EL:Synperonic F68 igual a 3:1 □ 1:1 i 1:3. Les dispersions formades corresponen a nano-emulsions perquè la seva formació depèn del mètode en que es preparen. Es de destacar que no s'han obtingut nano-emulsions en el sistema amb Synperonic F68 com a únic component tensioactiu.

En la Figura 4.3 es representa la formació de nano-emulsions en funció de la relació O/T i de la fracció d'oli present en la mescla O/T per als diferents sistemes aigua/Cremophor EL:Synperonic F68/Miglyol 812.

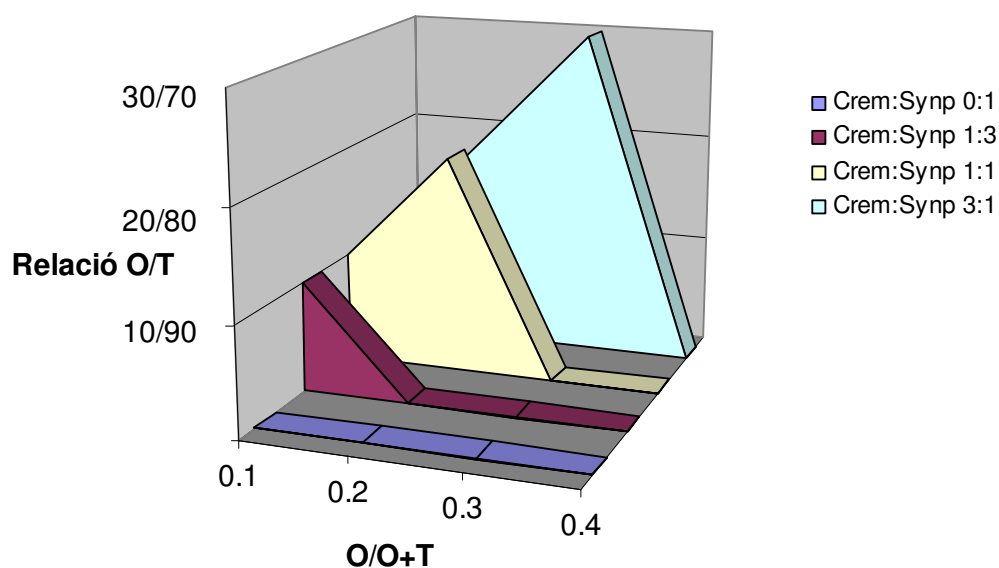


Figura 4.3. Relacions O/T en que s'han format nano-emulsions en funció de la fracció d'oli present en la mescla oli/tensioactiu en els sistemes aigua/Cremophor EL:Synperonic F68/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua.

Com s'observa en la Figura 4.3 a mesura que disminueix la proporció Cremophor EL:Synperonic F68 disminueix també la relació O/T màxima de formació de nano-emulsions. Així doncs l'addició d'un tensioactiu de tipus bloc copolímer al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 no afavoreix la formació de nano-emulsions. Es podria atribuir a l'impediment estèric causat pel Synperonic F68 desfavorable per a la formació de les nano-gotes.

4.2.1.3. SISTEMES AIGUA/CREMOPHOR EL:POLIETILENGLICOL 400/MIGLYOL 812

S'ha estudiat l'efecte de l'addició d'un polietilenglicol de baix pes molecular el polietilenglicol 400 com a co-tensioactiu en la formació de nano-emulsions. Els resultats es mostren en la Taula 4.5.

Taula 4.5. Formació de nano-emulsions en sistemes aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua i diferents relacions dels dos tensioactius i de la relació O/T.

COMPOSICIÓ			OBSERVACIONS (25°C)		TIPUS DE DISPERSIÓ
Relació Crem:Pol 400	%T	Relació O/T	Addicions successives d'aigua	Mescla components	
1:1	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió translúcida-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
1:3	9	10/90	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional

S'han format dispersions transparents o translúcides en els sistemes aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400/Miglyol 812 amb les relacions de components tensioactius Cremophor EL:polietilenglicol 400 igual a 1:1 i 1:3 respectivament. Les composicions corresponen a nano-emulsions ja que en preparar-les per addició directa de tots els components van presentar un aspecte tèrbol.

Com s'observa en la Taula 4.5 quan augmenta la proporció de polietilenglicol 400 en el sistema la relació O/T màxima de formació de nano-emulsions disminueix. Quan la proporció Cremophor EL:polietilenglicol 400 és 1:1 la relació O/T màxima és de 30/70 i quan la proporció és 1:3 la relació O/T és de 10/90. Així doncs l'addició de polietilenglicols de baix pes molecular desfavoreix la formació de nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL tot i que per a relacions 1:1 resulta més favorable que l'addició del tensioactiu bloc copolímer Synperonic F68 (apartat 4.2.1.2).

4.1.1.4. SISTEMES AIGUA/SOLUTOL HS15/COMPONENT(S) OLIÓS(OS)

S'ha estudiat la formació de nano-emulsions en sistemes amb Solutol HS15 com a tensioactiu i amb un o més components oliosos □ Miglyol 812 □ oli de soja o una mescla dels dos en proporció 1:1. Els resultats de l'estudi es mostren en la Taula 4.6.

Taula 4.6. Formació de nano-emulsions en sistemes tipus aigua/Solutol HS15/component(s) oliós(os) amb un 90% d'aigua i diferent component oliós i de la relació O/T.

COMPOSICIÓ			OBSERVACIONS (25°C)		TIPUS DE DISPERSIÓ
Component oliós	%T	Relació O/T	Addicions successives d'aigua	Mescla components	
Miglyol 812	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió translúcida-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	5	50/50	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió Convencional
Oli de soja	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional
Miglyol:oli de soja 1:1	9	10/90	Dispersió transparent, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	8	20/80	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	7	30/70	Dispersió transparent-blavosa, líquida	Tèrbol	Nano-emulsió
	6	40/60	Dispersió opaca, líquida	–	Emulsió convencional

Es formen nano-emulsions en els sistemes amb el Miglyol 812 i l'oli de soja i la barreja de Miglyol 812:oli de soja en proporció 1:1 com a component oliós.

A la Figura 4.4 es representa la formació de nano-emulsions en funció de la relació O/T i de la fracció d'oli present en la mescla O/T per als diferents sistemes aigua/Solutol HS15/component(s) oliós(os). En el sistema amb Miglyol 812 s'han format nano-emulsions fins a relacions O/T més elevades (fins la relació 40/60 O/T). Quan es substitueix el Miglyol 812 per oli de soja es desfavoreix la formació de nano-emulsions i doncs la relació O/T de formació baixa fins a 20/80. En mesclar Miglyol amb oli de soja en proporció 1:1 la màxima relació O/T de formació de nano-emulsions és de 30/70. No s'ha trobat sinergisme en mesclar Miglyol amb oli de soja en proporció 1:1.

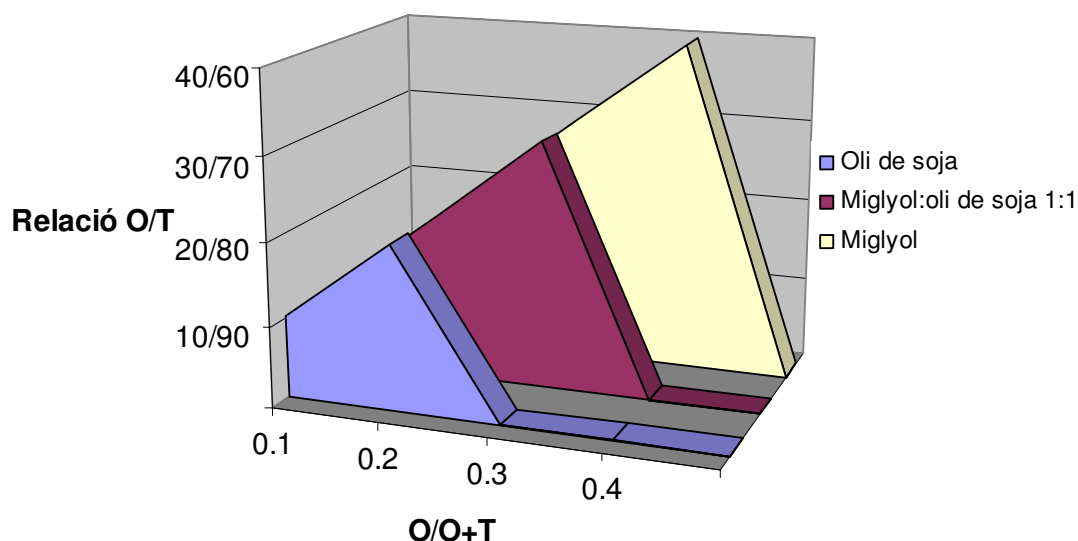


Figura 4.4. Relació O/T en que s'han format nano-emulsions en funció de la fracció d'oli present en la mescla oli/tensioactiu en els sistemes aigua/Solutol HS15/component(s) oliós(os) amb un 90% d'aigua.

La formació d'una regió més extensa de nano-emulsions en el sistema amb Miglyol 812 com a component oliós es podria explicar a partir de l'elevada solubilitat d'aquest en aigua respecte l'oli de soja. Els triglicèrids de cadena mitjana (com ara el Miglyol 812) són unes 100 vegades més solubles en aigua que els triglicèrids de cadena llarga (com ara l'oli de soja).

4.2.2. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL/MIGLYOL 812

4.2.2.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL/MIGLYOL 812 A 25°C

En els estudis preliminars es va observar que el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 és un dels més adequats per a la formació de nano-emulsions ja que s'obtenen en un interval de relacions O/T més ampli. És per això que es va decidir iniciar un estudi sistemàtic del comportament fàsic d'aquest sistema.

En primer lloc es va estudiar el comportament fàsic del sistema a 25°C per identificar les diferents fases que poden estar implicades en la formació de les nano-emulsions i per delimitar regions termodinàmicament estables d'aquelles que no ho són és a dir per diferenciar entre regions de microemulsions i de nano-emulsions.

El diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 a temperatura constant (25°C) es mostra a la Figura 4.5.

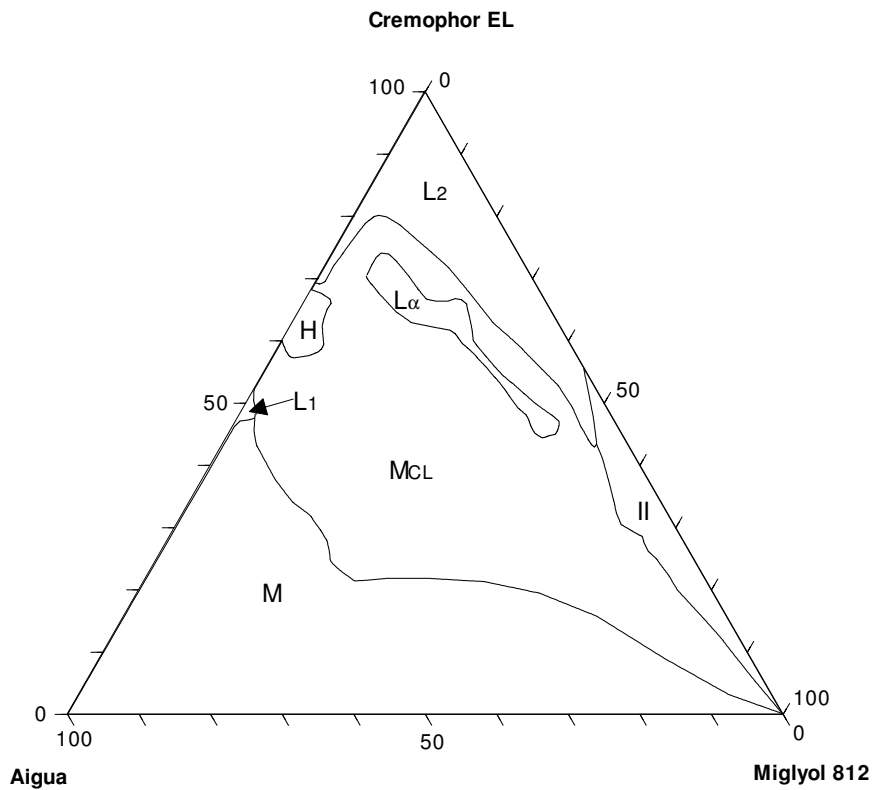


Figura 4.5. Diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812, a 25°C. L₁: fase líquida isotropa (solució micel·lar directa o microemulsió de fase externa aquosa); L₂: fase líquida isotropa (solució micel·lar inversa o microemulsió de fase externa oliosa); II: dues fases isotropes líquides; L_α: fase anisotropa (fase de cristall líquid laminar); H: fase anisotropa (fase de cristall líquid hexagonal invers); M_{CL}: regió multifàsica amb fase de cristall líquid present (equilibri no determinat); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

Considerant els corresponents sistemes binaris Miglyol 812/aigua i Miglyol 812/Cremophor EL i aigua/Cremophor EL es pot concloure que:

- L'aigua i el component oliós són totalment immiscibles.
- El Miglyol és soluble en el tensioactiu fins a una concentració del 45% d'oli formant una solució de micel·les inverses (L₂). Per a concentracions d'oli més grans ambdós components són immiscibles i les composicions se separen en dues fases líquides (II) és a dir el tensioactiu no és soluble en el component oliós.
- Gairebé tot el sistema binari A-T presenta regions monofàsiques. Des del vèrtex del tensioactiu fins al 31% d'aigua el sistema A-T forma una solució de micel·les inverses (L₂). A partir de la relació 32/68 A/T i fins la

relació 40/60 el tensioactiu s'agrega en solució aquosa formant una fase de cristall líquid hexagonal (H) mentre que a partir de la relació 48/52 A/T ambdós components formen una solució de micel·les directes (L_1) fins al vèrtex de l'aigua.

Considerant el diagrama ternari s'han identificat quatre regions monofàsiques:

- L_1 correspon a una regió isotropa i transparent de solucions micel·lars directes o microemulsions de fase externa aquosa per a relacions A/T entre 48/52 i 52/48. En aquesta regió s'aconsegueix solubilitzar com a màxim un 2% d'oli.
- La regió L_2 que s'estén al llarg de l'eix O/T des del vèrtex del tensioactiu fins la relació 45/55 O/T és isotropa i transparent i correspon a solucions micel·lars inverses o microemulsions de fase externa oliosa. La màxima quantitat d'aigua que solubilitza és del 31%.
- La regió H anisotropa transparent i molt viscosa que correspon a una fase de cristall líquid hexagonal s'estén des de la relació 32/68 fins la relació 40/60 A/T. En aquesta regió es solubilitza com a màxim un 6% de component oliós.
- L_α és una regió anisotropa i lleugerament tèrbola que correspon a estructures de cristall líquid laminar i que s'estén des de la relació 9/91 fins la relació 50/50 O/T en un rang limitat de concentració d'aigua del 12 al 23%.

La resta del diagrama de fases del sistema corresponent a la major part d'aquest està format per tres regions multifàsiques: II que és una regió de dues fases líquides que s'estén al llarg de l'eix O/T des de la relació 45/55 O/T fins al vèrtex de l'oli M_{CL} que és una regió multifàsica amb cristall líquid present i M que és una regió també multifàsica (l'equilibri de fases no ha estat estudiat completament).

4.2.2.1.1. Caracterització de les fases de cristall líquid a 25°C

Per tal d'identificar el tipus de fases de cristall líquid del sistema s'han caracteritzat algunes composicions mitjançant microscopia òptica i espectrofotometria de dispersió de raigs X a angles petits (SAXS). Aquestes estan senyalades en el diagrama de fases (Figura 4.6) com a punts numerats de l'1 al 16.

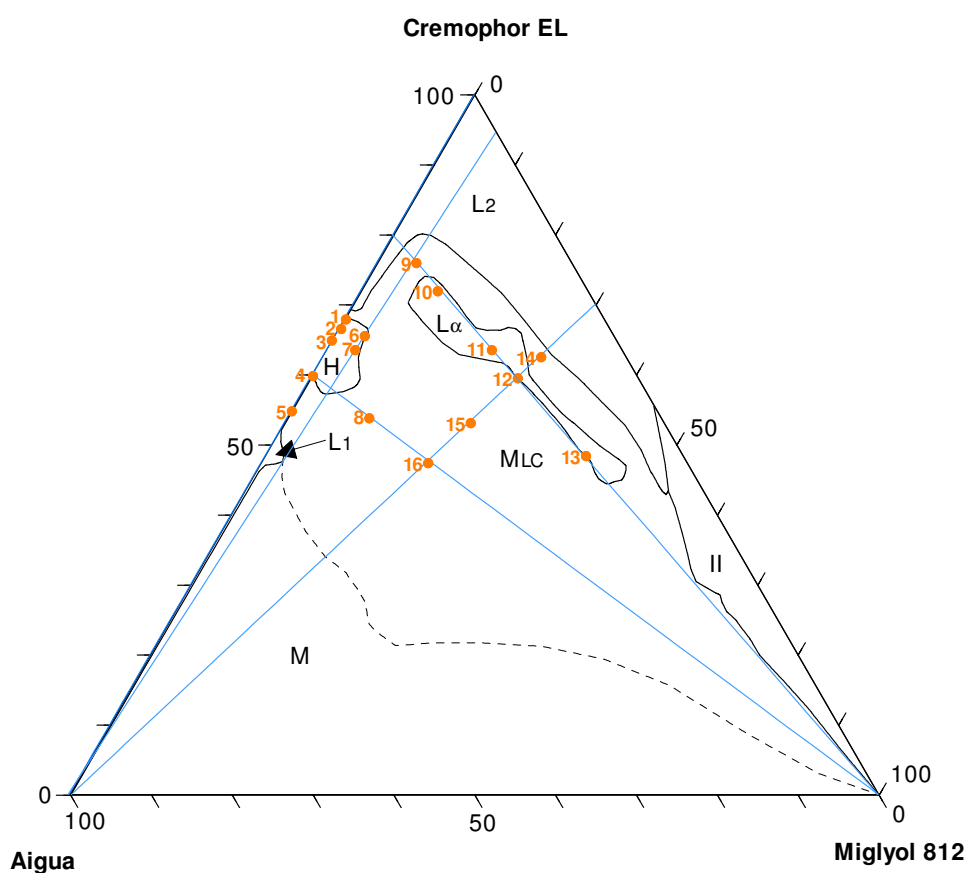


Figura 4.6. Composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 (representades com a punts numerats de l'1 al 16) en les quals s'han caracteritzat les fases de cristall líquid.

Cristall líquid hexagonal

La fase de cristall líquid hexagonal del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 no va poder ser identificada per microscopia òptica degut a la seva fragilitat. En la Taula 4.7 es mostren exemples d'imatges de les mostres 4 i 8 (Figura 4.6) observades per microscopia òptica a través de llum polaritzada.

Taula 4.7. Imatges observades en microscopi òptic a través de llum polaritzada de les composicions 4 i 8 amb cristall líquid hexagonal (Figura 4.6).

IDENTIFICACIÓ	COMPOSICIÓ		IMATGE OBTINGUDA A TRAVÉS DE LLUM POLARITZADA	REGIÓ DEL DIAGRAMA
	Relació A / T	% O		
4	40/60	0		H
8	40/60	10		M _{CL}

En les imatges mostrades en la Taula 4.7 s'observa birrefringència a través de llum polaritzada, indicatiu de la presència de cristall líquid hexagonal o laminar. No obstant això, no es poden identificar les estructures presents mitjançant aquesta tècnica.

Determinacions de les mostres per SAXS a 25°C van permetre identificar el tipus de cristall líquid. Com a exemple, en la Figura 4.7 es mostren els espectres obtinguts de les composicions 4 (0% de component oliós) i 8 (10%

de component oliós). Les distàncies entre pics de difracció presenten una relació corresponent a l'estructura de cristall líquid hexagonal (Larsson 1976).

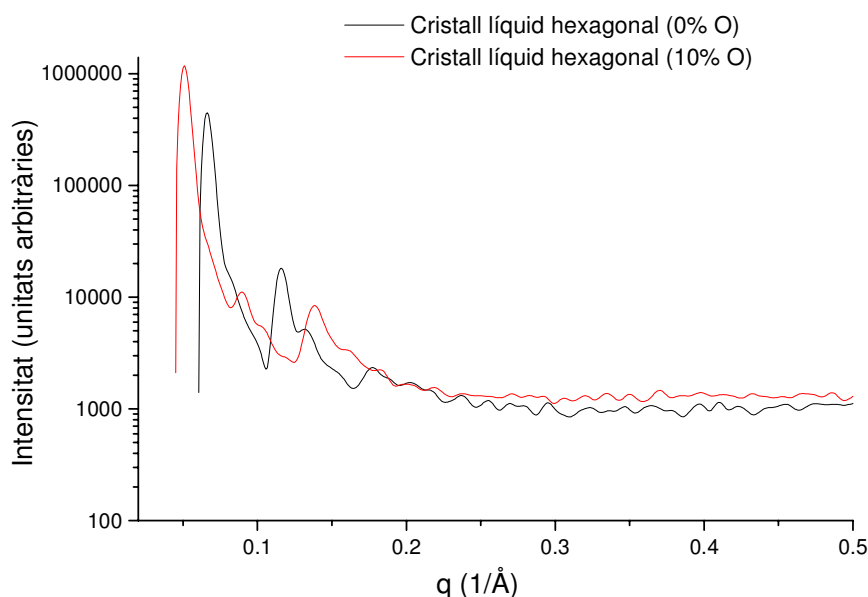


Figura 4.7. Espectres de SAXS corresponents a les composicions 4 (regió H del diagrama de fases) i 8 (regió M_{CL} del diagrama de fases), a 25°C. La composició de les mostres és: relació A/T 40/60, amb 0 i 10% de contingut en oli, respectivament. q ; vector de dispersió.

A la Taula 4.8 s'ha fet un resum de les composicions caracteritzades per SAXS a 25°C que contenen cristall líquid hexagonal. També s'indiquen les distàncies de Bragg o distàncies entre capes corresponents de cada mostra i els paràmetres geomètrics r_H (radi de la micel·la cilíndrica) i a_S (àrea efectiva per molècula de tensioactiu). Per als càlculs dels paràmetres geomètrics en les composicions amb els tres components s'ha considerat el pes molecular del tensioactiu com l'equivalent al pes molecular de 35 mols d'òxid d'etilè i 1 mol d'oli de ricí i el volum de la cadena lipòfila del tensioactiu com l'equivalent al pes molecular d'una molècula d'oli de ricí.

Taula 4.8. Composicions amb cristall líquid hexagonal caracteritzades mitjançant SAXS, distància de Bragg (d), àrea efectiva per molècula de tensioactiu (a_s) i radi dels cilindres (r_H), 25°C.

IDENTIFICACIÓ	COMPOSICIÓ			REGIÓ DEL DIAGRAMA	DISTÀNCIA DE BRAGG (d)(nm)	PARÀMETRES GEOMÈTRICS	
	%A	%T	%O			r_H (nm)	a_s (nm ²)
1	32	68	0	H	9,28	4,60	1,12
2	33	67	0	H	9,35	4,60	1,12
3	35	65	0	H	9,46	4,58	1,12
4	40	60	0	H	9,46	4,39	1,17
5	45	55	0	M _{CL}	9,59	4,26	1,21
6	30	66,5	3,5	H	9,83	2,44	0,55
7	32	64,6	3,4	H	9,83	2,41	0,55
8	36	54	10	M _{CL}	12,27	3,34	0,65

Per al sistema binari aigua/tensioactiu (composicions 1–5) la distància de Bragg augmenta lleugerament a mesura que augmenta la relació aigua/tensioactiu. En canvi tant el radi dels cilindres com l'àrea efectiva per molècula de tensioactiu es mantenen constants per relacions A/T més petites mentre que per relacions més grans (composició 4 i 5) r_H disminueix lleugerament i a_s augmenta lleugerament. Els valors de d , r_H i a_s per al sistema binari s'han representat en funció de la fracció en pes de tensioactiu (Figura 4.8).

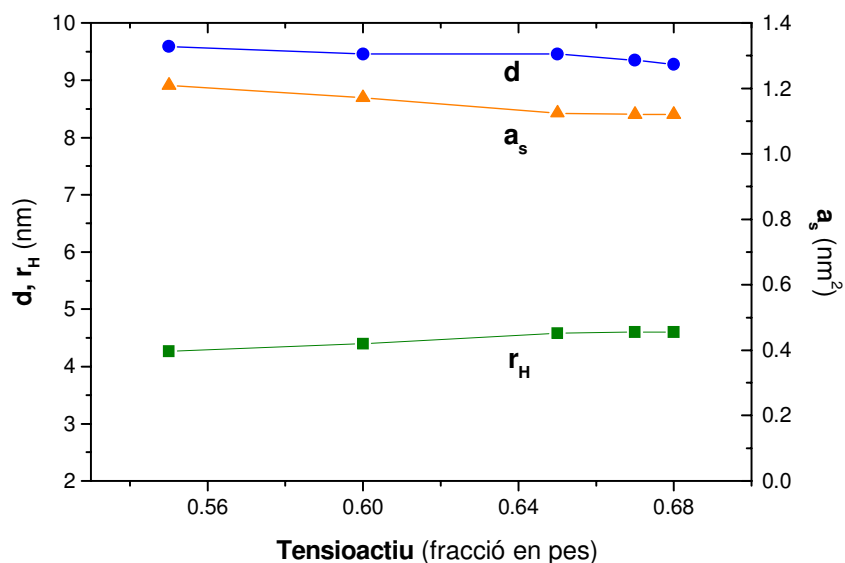


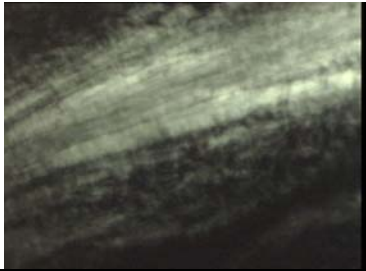

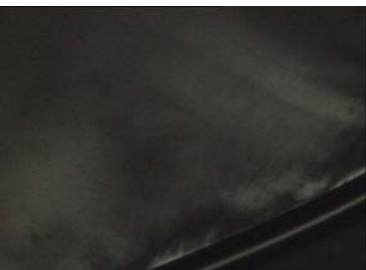
Figura 4.8. Distància de Bragg (d), àrea efectiva per molècula de tensioactiu (a_s) i radi de la micel·la cilíndrica (r_H) de la fase de cristall líquid hexagonal del sistema binari aigua/Cremophor EL, a 25°C, en funció de la fracció en pes de tensioactiu.

En el sistema ternari els valors de les distàncies de Bragg de les composicions 6 i 7 són coincidents i r_H i a_s romanen constants. En la composició 8 la que té un major contingut en oli s'obté el valor de d més elevat de l'ordre de 12nm. Aquest és un resultat esperat tenint en compte que el Miglyol 812 s'incorpora en el domini lipòfil de les capes de l'estructura laminar.

Cristall líquid laminar

Tal com succeïa amb la caracterització de la fase de cristall líquid hexagonal del sistema la fase de cristall líquid laminar no va poder caracteritzar-se correctament mitjançant microscopia òptica sinó per SAXS. Alguns exemples d'imatges observades en microscopi òptic a través de llum polaritzada es mostren en la Taula 4.9.

Taula 4.9. Imatges observades per microscopia òptica a través de llum polaritzada de les composicions 12, 15 i 16 (Figura 4.6) amb cristall líquid laminar.

IDENTIFICACIÓ	COMPOSICIÓ		IMATGE OBTINGUDA A TRAVÉS DE LLUM POLARITZADA	REGIÓ DEL DIAGRAMA
	Relació O / T	% A		
12	30/70	15		$L\alpha$
15	30/70	23		M_{CL}
16	30/70	32		M_{CL}

Les imatges mostren birrefringència a través de polaritzadors de la llum creuats no obstant la fragilitat del cristall líquid impossibilita la identificació de la seva estructura.

Els espectres obtinguts de les determinacions per SAXS d'algunes mostres representades en la Figura 4.6 a 25°C es mostren en la Figura 4.10. Les distàncies entre pics de difracció presenten una relació corresponent a l'estructura de cristall líquid laminar (Larsson 1976).

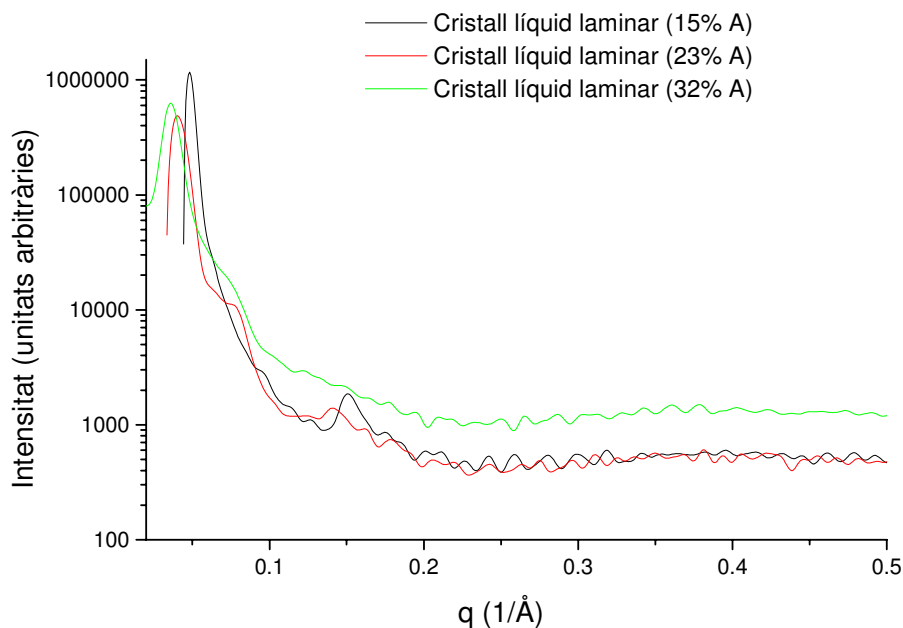


Figura 4.10. Espectres de SAXS corresponents a les composicions 12 (regió L_α del diagrama de fases), 15 i 16 (regió M_{CL} del diagrama de fases), a 25°C. La composició de les mostres es: relació O/T 30/70, amb 15, 23, i 32 % de contingut en aigua.

A la Taula 4.10 s'indiquen les composicions caracteritzades per SAXS a 25°C juntament amb les distàncies de Bragg o distància entre capes corresponents i els paràmetres geomètrics r (gruix del domini apolar és a dir el component oliós més la cadena lipòfila el tensioactiu) i a_s (àrea efectiva per molècula de tensioactiu). Per als càlculs dels paràmetres geomètrics s'han emprat els mateixos valors de pes molecular del tensioactiu i volum de la cadena lipòfila del tensioactiu que en l'apartat anterior.

Taula 4.10. Composicions amb cristall líquid laminar caracteritzades mitjançant SAXS, distància de Bragg (d), àrea efectiva per molècula de tensioactiu (a_s) i gruix del domini apolar (r), 25°C.

IDENTIFICACIÓ	COMPOSICIÓ			REGIÓ DEL DIAGRAMA	DISTÀNCIA DE BRAGG (nm)	PARÀMETRES GEOMÈTRICS	
	%A	%T	%O			r (nm)	a_s (nm ²)
	9	19,2	76,8			4	M_{CL}
10	18	72	10	Lα	9,83	2.4	0.79
11	16	64	20	Lα	11,44	3.8	0.81
12	14,6	58,4	27	Lα	12,99	4.9	0.89
13	12	48	40	Lα	16,31	8.2	0.79
14	10	3	27	M_{CL}	12,57	5.01	0.734
15	23	53,9	23,1	M_{CL}	15,34	5.22	0.70
16	32	47,6	20,4	M_{CL}	17,03	5.09	0.72

Les composicions 9–13 corresponen a relacions A/T constants (20/80 A/T) amb concentracions creixents d'oli. Com s'observa a la Taula 4.10 tant la distància de Bragg (d) com el gruix del domini apolar (r) augmenten a mesura que augmenta el contingut en oli. Aquest s'incorpora en el domini apolar de les capes de tensioactiu. L'àrea per molècula de tensioactiu (a_s) en canvi roman pràcticament constant. S'han trobat resultats similars en el sistema aigua/tensioactiu no iònic amb cadena polioxietilenada llarga/component oliós (Kunieda H. et al. 1999) en el qual es van caracteritzar fases de cristall líquid laminar mitjançant determinacions per SAXS de composicions amb una relació A/T constant (25/75) i quantitats creixents d'oli.

Les composicions 14–12–15 i 16 corresponen a la relació O/T 30/70 i concentracions creixents d'aigua des de 10 fins a 32% respectivament. La distància de Bragg (d) en aquestes composicions augmenta a mesura que augmenta la concentració d'aigua. En canvi el gruix del domini apolar (r) és pràcticament constant per totes les composicions. L'àrea per molècula de tensioactiu (a_s) també és pràcticament constant per a totes les composicions.

4.2.2.1.2. Caracterització de fases de cristall líquid a diferents temperatures

La formació de nano-emulsions que es descriurà en el següent apartat es va realitzar a temperatures superiors a 25°C. Per això es va considerar oportú caracteritzar fases de cristall líquid a aquestes temperatures doncs en treballs anteriors s'han relacionat les transicions de fases de cristall líquid laminar durant el procés d'emulsificació amb la formació de nano-emulsions (Forgiarini 2001; Izquierdo 2002).

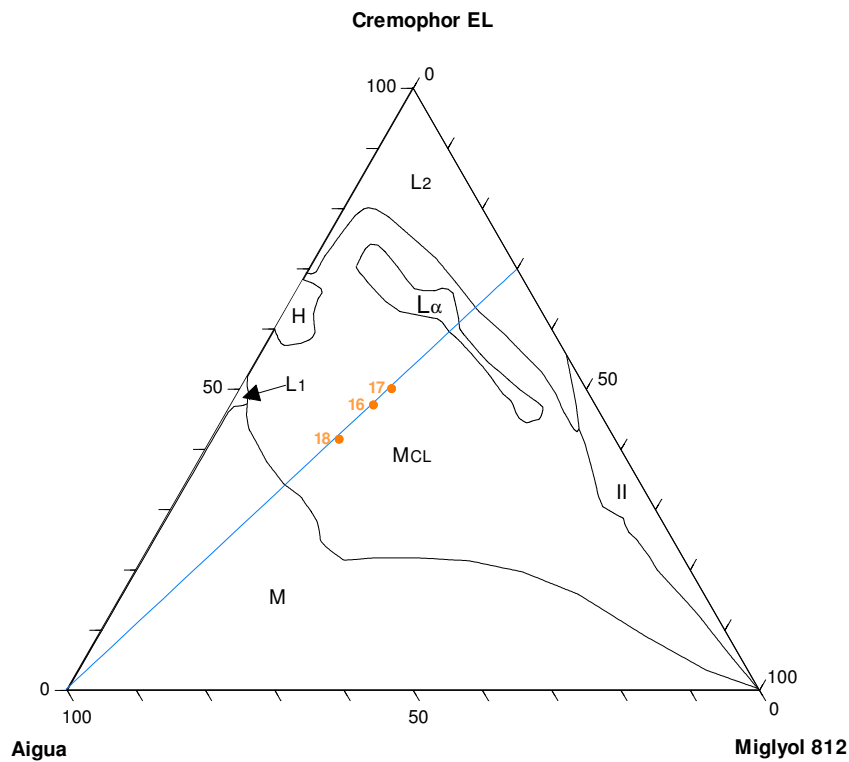


Figura 4.11. Composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 (representades com a punts taronges i numerades del 16 al 18) en les quals s'han caracteritzat les fases de cristall líquid a 25, 50 i 70°C.

Es van caracteritzar fases de cristall líquid laminar en les tres composicions indicades a la Figura 4.11 a 50°C. Quan les determinacions per SAXS es van fer a 70°C l'aparició d'un sol pic en els espectres obtinguts van impossibilitar la caracterització del tipus d'estructura de cristall líquid. No obstant

l'aspecte de les mostres i la similitud en les distàncies de Bragg obtingudes a 50 i a 70°C (Taula 4.11) sembla indicar que es tracta també de fases de cristall líquid laminar.

Taula 4.11. Composicions amb cristall líquid laminar present caracteritzades mitjançant SAXS, juntament amb la seva distància de Bragg (d), a 25, 50 i 70 °C.

IDENTIFICACIÓ	COMPOSICIÓ			REGIÓ DEL DIAGRAMA	DISTÀNCIA DE BRAGG (nm)			
	%A	%T	%O		50°C	70°C	50°C	70°C
17	28	50,4	21,6	M _{CL}	19,6	17,4	Laminar	(Laminar)
16	32	47,6	20,4	M _{CL}	18,7	17,8	Laminar	(Laminar)
18	40	42	18	M _{CL}	19,6	24,7	Laminar	(Laminar)

Les distàncies de Bragg obtingudes per les mateixes composicions determinades a 25°C són de l'ordre dels 17nm (Taula 4.10). Aquests valors són més elevats que els trobats a la bibliografia □ 9nm □ corresponents a un sistema amb un tensioactiu no iònic de tipus polioxietilenat amb un grau d'etoxilació similar al Cremophor EL (Kunieda □ 1999). El fet que les distàncies de Bragg siguin elevades implica una gran flexibilitat de l'agregat de tipus laminar □ de manera que en addicionar aigua l'estructura es podria desorganitzar amb facilitat i formar de manera 'espontània' nano-gotes.

4.2.2.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'ha assajat la preparació de nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 mitjançant l'addició d'aigua de manera successiva o bé de cop a mescles oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades a diferent temperatura (25 i 50 i 70°C). Els diferents mètodes utilitzats s'han anomenat A, B, C, D, E i F. Les característiques de cada mètode (addició de l'aigua i temperatura de formació) es mostren en la Taula 4.12.

Taula 4.12. Mètodes de preparació de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

MÈTODE	ADDICIÓ D'AIGUA	TEMPERATURA (°C)	
		Formació	Emmagatzemament
A	Successiva	25	25
B	D'una vegada		
C	Successiva	50	25
D	D'una vegada		
E	Successiva	70	25
F	D'una vegada		

S'han format dispersions transparents o transparents-blavoses corresponents a nano-emulsions a partir d'aproximadament un 50% d'aigua en les relacions O/T des de 1/99 fins a 30/70 per als mètodes A i C i fins la relació 40/60 en el cas dels mètodes B, D, E i F (Figura 4.12).

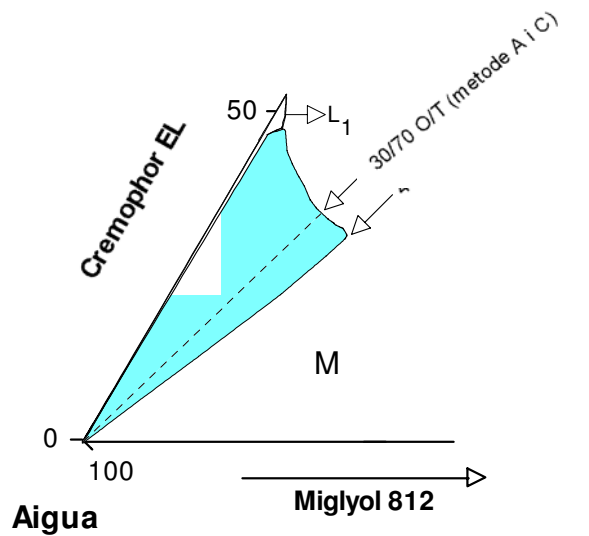


Figura 4.12. Regió de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 formades mitjançant els mètodes d'emulsificació A i C (fins la relació O/T 30/70) i els mètodes B, D-F (fins la relació O/T 40/60).

Les dispersions transparents o transparents-blavoses es formen en la regió multifàsica M (Figura 4.5) per tant no corresponen a microemulsions sinó a nano-emulsions. A més quan les mateixes composicions es preparen de manera diferent, addicionant oli a la barreja aigua/tensioactiu o bé addicionant tots els components a la vegada (mescla directa) les dispersions presenten un aspecte tèrbol-blanquinós. El fet que el component oliós i el tensioactiu estiguin prèviament homogeneïtzats resulta un factor clau en la formació de nano-emulsions en aquest sistema.

En la Figura 4.13 es mostra l'aspecte que presenten les composicions amb relacions O/T 10/90, 20/80, 30/70 i 40/60 i un 90% d'aigua formades en addicionar aigua a barreges d'oli i tensioactiu prèviament homogeneïtzades (4.13a) i per mescla directa dels components (4.13b).

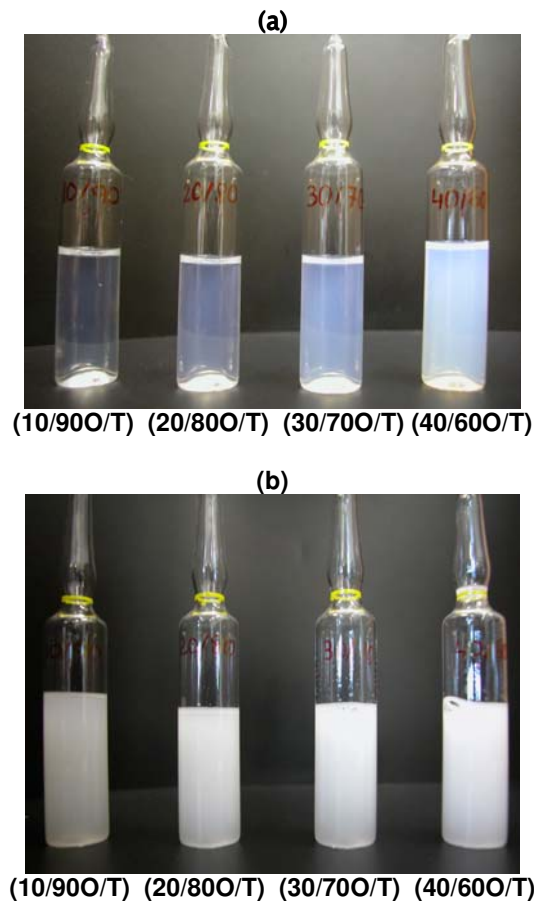


Figura 4.13. Dispersions amb una relació O/T 10/90, 20/80, 30/70 i 40/60 i un 90% d'aigua del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812, preparades segons el mètode E (a) i per mescla directa dels components (b).

L'extensió de la regió de formació de nano-emulsions és la mateixa a 25 i 50°C: fins a la relació 30/70 O/T quan l'addició d'aigua es produeix de manera successiva (mètodes A i C) i fins a la relació 40/60 O/T quan l'aigua s'addiciona en una vegada (mètodes B i D-F). No obstant quan la formació de nano-emulsions es produeix a 70°C s'arriba a la relació O/T 40/60 mitjançant l'addició d'aigua de manera successiva.

Cal destacar que les nano-emulsions poden formar-se en incorporar tota l'aigua necessària en una sola addició a barreges O/T independentment de la temperatura de preparació (mètodes B i D i F). Es pot parlar doncs d'una formació gairebé 'espontània' de nano-emulsions en aquests sistema.

En les relacions O/T en que s'han format nano-emulsions apareixen fases de cristall líquid laminar durant el procés d'emulsificació a 25°C (Figura 4.5) i també a 50 i 70°C per la relació assajada 30/70 O/T (Taula 4.11).

4.2.2.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'han caracteritzat les nano-emulsions després de ser formades pels mètodes A–F mitjançant mesures de la mida de gota per dispersió dinàmica de la llum làser (DLS) a 25°C en funció de la relació O/T i amb un contingut en aigua constant (90%). Els resultats obtinguts es mostren en la Figura 4.14.

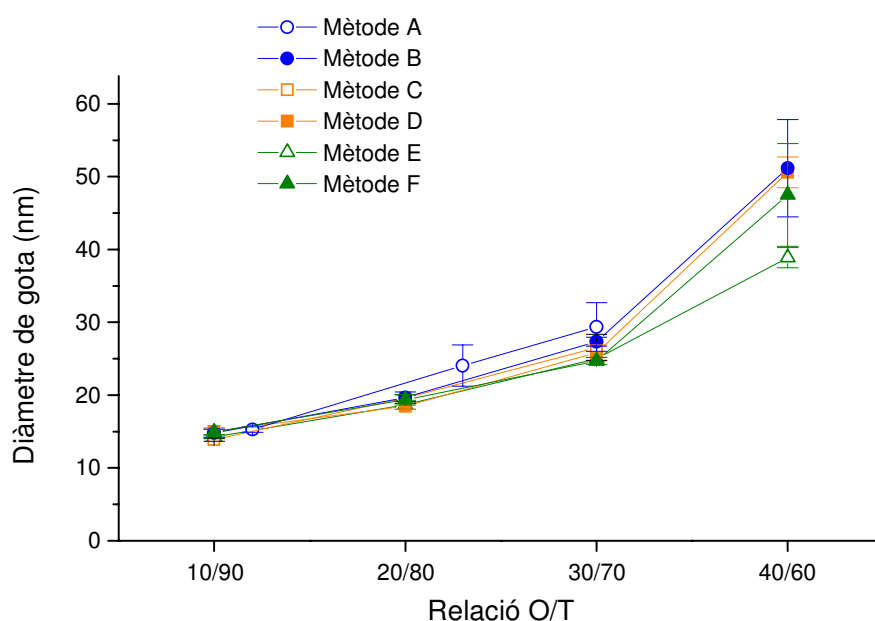


Figura 4.14. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T, a 25°C.

El diàmetre de gota promig augmenta a mesura que augmenta la relació O/T independentment del mètode formació de les nano-emulsions. Aquest fet posa de manifest que el component oliós constitueix la fase dispersa és a dir que es tracta d'estructures de tipus directe oli-en-aigua (Attwood 1989).

El diàmetre mínim de gota obtingut és de 14nm mentre que el màxim és de 506 nm. Com s'observa en la Figura 4.14 per a relacions O/T petites la

mida de gota obtinguda és independent del mètode de preparació de les nano-emulsions. En canvi per relacions O/T grans la mida de gota disminueix en augmentar la temperatura de preparació. Tant el diàmetre de gota com l'índex de polidispersitat més petits (Taula 4.13) s'obtenen mitjançant el mètode E (addició d'aigua de manera successiva a 70°C).

Taula. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 preparades pels diferents mètodes (A- F). Els valors indicats en la Taula són la mitjana aritmètica dels triplicats realitzats per mesurar l'error d'instrument i dels triplicats realitzats per mesurar l'error del mètode.

Mètode de preparació	COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota promig (nm)	Índex de polid. promig
	%A	Relació O/T		
A	90	10/90	15,28	0,189
		20/80	24,28	0,324
		30/70	29,88	0,348
B	90	10/90	14,79	0,14
		20/80	19,75	0,206
		30/70	27,33	0,182
		40/60	51,15	0,393
C	90	10/90	13,89	0,110
		20/80	19,58	0,227
		30/70	26,53	0,247
D	90	10/90	14,97	0,204
		20/80	18,48	0,175
		30/70	25,87	0,229
		40/60	50,60	0,392
E	90	10/90	14,3	0,105
		20/80	18,7	0,168
		30/70	24,9	0,137
		40/60	38,9	0,175
F	90	10/90	14,93	0,201
		20/80	19,35	0,184
		30/70	24,7	0,184
		40/60	47,48	0,369

Així mateix s'han caracteritzat nano-emulsions preparades mitjançant el mètode E amb un 95% d'aigua i diferents relacions O/T. A la Figura 4.15 es representa per comparar resultats el diàmetre de gota en funció de la relació O/T de nano-emulsions amb 90 d'aigua.

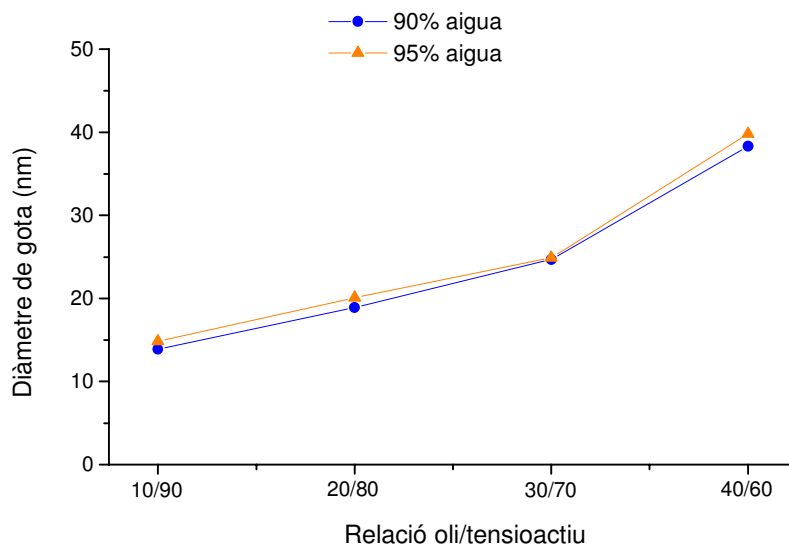


Figura 4.15. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb 90 i 95% de contingut en aigua preparades mitjançant el mètode E en funció de la relació O/T, a 25°C.

La mida de gota promig de les nano-emulsions amb un 95% d'aigua segueix la mateixa tendència que les nano-emulsions amb 90%: la mida de gota augmenta en funció de la relació O/T. En augmentar el contingut en aigua no varia la mida de gota de les nano-emulsions, indicant que l'aigua actua com a medi de dilució de la dispersió de nano-gotes.

La mida de gota obtinguda per les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 formades mitjançant mètodes de baixa energia és molt més petita que la mida de gota de nano-emulsions de sistemes similars formades per mètodes d'alta energia. Jumaa i Müller van estudiar la influència del component oliós i el tensioactiu en la mida de gota de nano-emulsions utilitzant diferents olis i tensioactius mitjançant mètodes d'elevada energia (ultraturrax i homogeneïtzador d'alta pressió). La mida de gota obtinguda per la nano-emulsió composta per una solució aquosa de glicerina al 2,5%, un 2% de Cremophor EL i com a component oliós una barreja d'oli de ricí i triglicèrids de cadena mitja en proporció 1:1 va ser propera als 150nm (Jumaa, 1998b).

4.2.2.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

Les condicions d'emmagatzemament mínimes exigides per les normes ICH (International Conference Harmonisation) per als assaigs d'estabilitat a llarg termini són de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ i $60\% \pm 5\%$ d'humitat relativa durant un període mínim de dotze mesos fins cobrir el període de validesa proposat pel producte. Els assajos a llarg termini es fan normalment cada tres mesos el primer any cada sis mesos el segon any i després anualment. Per als assaigs accelerats les condicions mínimes exigides són de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura i $75\% \pm 5\%$ d'humitat relativa durant un període de 6 mesos.

Els estudis d'estabilitat cinètica de les nano-emulsions preparades en la present tesi doctoral s'han realitzat a 25°C i en determinats sistemes també a 40°C . En alguns sistemes el temps d'estudi ha estat superior a un any.

4.2.2.4.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat cinètica a 25°C de nano-emulsions amb diferents relacions O/T i una concentració d'aigua del 90 i 95% mitjançant mesures del diàmetre de gota de les dispersions per DLS en funció del temps. Les nano-emulsions s'han preparat mitjançant el mètode E perquè es amb el que es van obtenir dispersions de mida de gota més petita i de més baixa polidispersitat. Els resultats obtinguts es mostren en la Figura 4.16.

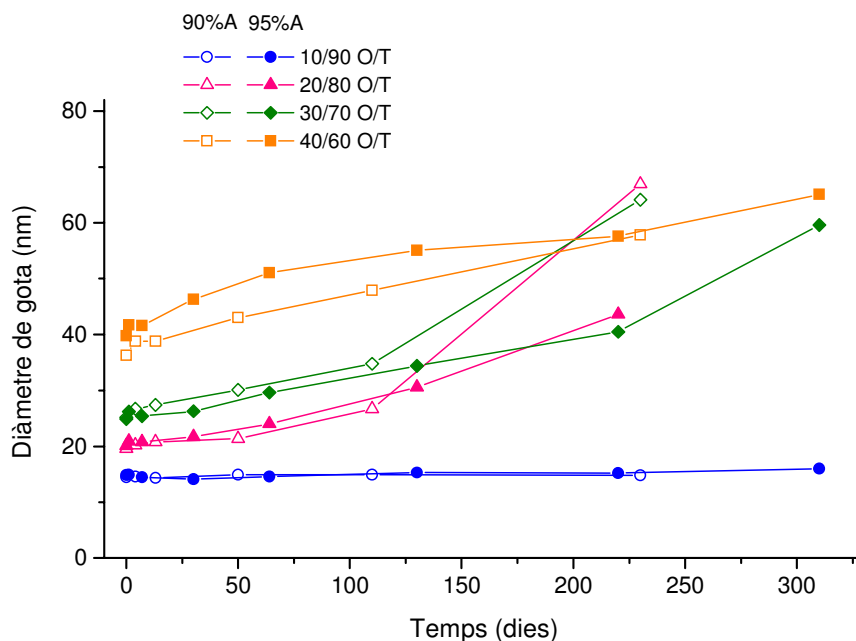


Figura 4.16. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb 90 (símbols buits) i 95% (símbols plens) d'aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 25°C.

Els resultats sobre l'estabilitat cinètica a 25°C mostren que en les nano-emulsions amb una relació O/T 10/90 no hi ha pràcticament variacions en la mida de gota durant el temps d'estudi (230 dies per les nano-emulsions amb un 90% d'aigua i 310 dies per les nano-emulsions amb un 95% d'aigua). Per aquelles nano-emulsions amb relacions O/T superiors tant la mida de gota com l'índex de polidispersitat (Taules 4.14 i 4.15) augmenten en funció del temps. No obstant això, la mida de gota de les dispersions no supera els 67 nm durant com a mínim 7 mesos d'estudi. Cal destacar que els índex de polidispersitat de les nano-emulsions tant elevats (superiors a 0,2) indiquen que les nano-emulsions no són monodisperses i els valors de mida de gota promig no es poden considerar fiables.

Taula 4.14. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT		
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat	
10/90	0	14,5	0,105	
	4	14,6	0,105	
	13	14,3	0,115	
	50	14,9	0,104	
	110	14,9	0,146	
	230	14,8	0,116	
20/80	0	19,6	0,168	
	4	20,2	0,175	
	13	20,8	0,197	
	50	21,4	0,210	
	110	26,7	0,324	
	230	66,9	0,732	
30/70	0	25,2	0,137	
	4	26,7	0,155	
	13	27,4	0,172	
	50	30,1	0,184	
	110	34,8	0,248	
	230	64,1	0,415	
40/60	0	36,3	0,175	
	4	38,8	0,172	
	13	38,8	0,219	
	50	43,0	0,209	
	110	47,9	0,229	
	230	57,8	0,278	

Taula 4.15. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb diferent relació O/T i un 95% d'aigua.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT (25°C)		
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat	
10/90	0	14,8	0,078	
	1	14,9	0,065	
	7	14,5	0,099	
	30	14,1	0,089	
	64	14,6	0,111	
	130	15,3	0,077	
	220	15,2	0,089	
	310	16,0	0,103	
20/80	0	20,1	0,179	
	1	20,9	0,198	
	7	20,8	0,205	
	30	21,7	0,240	
	64	24,0	0,268	
	130	30,6	0,378	
	220	43,6	0,490	

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (25°C)		
	Relació O/T	Dies	Índex de polidispersitat
30/70	0	24,9	0,125
	1	26,2	0,161
	7	25,4	0,158
	30	26,3	0,179
	64	29,6	0,184
	130	34,4	0,226
	220	40,5	0,259
	310	59,6	0,264
40/60	0	39,8	0,192
	1	41,7	0,196
	7	41,6	0,196
	30	46,3	0,221
	64	51,1	0,245
	130	55,1	0,286
	220	57,6	0,283
	310	65,1	0,298

Com s'ha explicat a la introducció, les nano-emulsions són estables enfront la sedimentació i el cremat, però es desestabilitzen de manera irreversible enfront el mecanisme de maduració d'Ostwald i la coalescència. Per tal d'esbrinar quin és el principal mecanisme de desestabilització de les nano-emulsions del sistema a 25°C preparades segons el mètode E s'ha determinat el diàmetre de les gotes mitjançant DLS a temps curts, des de 0h fins a 54h.

La teoria LSW (Lifshitz-Slezov, 1961; Wagner, 1961) (equació 1.10) prediu una relació lineal entre r^3 (r =radi de les gotes) i el temps, en cas que les nano-emulsions experimentin el mecanisme de maduració d'Ostwald. A la Figura 4.17 es mostra la representació gràfica del r^3 en funció del temps per a nano-emulsions amb una relació O/T 20/80 i 40/60 i un 90% d'aigua, així com la regressió lineal per cada composició.

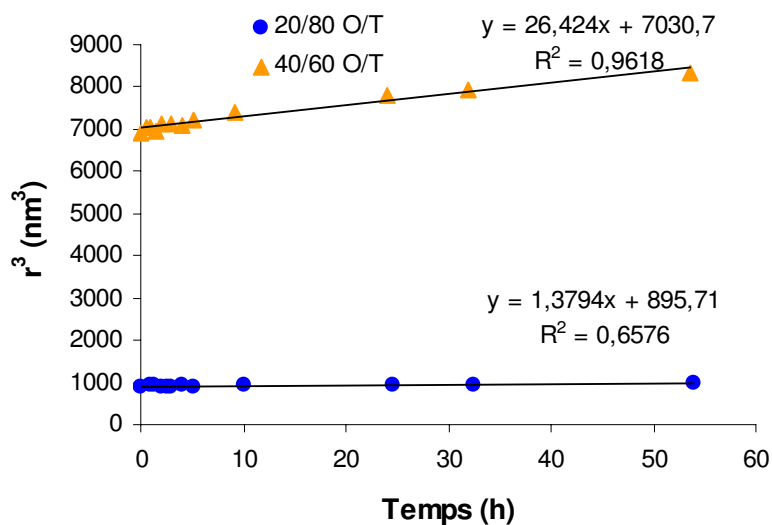


Figura 4.17. r^3 en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb diferents relacions O/T i un 90% d'aigua.

Si és la coalescència el mecanisme de desestabilització, la teoria de Deminiere (Deminiere, 1999) prediu una relació lineal entre $1/r^2$ (r =radi de les gotes) i el temps. A la Figura 4.18 es mostra el gràfic d' $1/r^2$ en funció del temps per a les mateixes nano-emulsions que en l'estudi de la maduració d'Ostwald amb la corresponent regressió lineal per a cada composició.

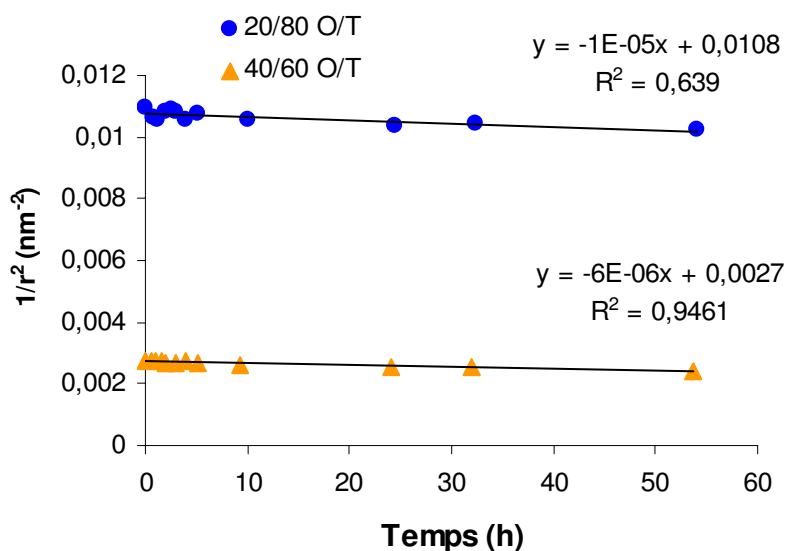


Figura 4.18. $1/r^2$ en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb diferents relacions O/T i un 90% d'aigua.

La composició amb una relació O/T 20/80 no s'ajusta a cap dels dos models mentre que la composició amb la relació O/T 40/60 sembla que s'ajusti als dos models doncs els coeficients de determinació linial per ambdós ajustaments són alts (0,96 (maduració d'Ostwald) i 0,94 (coalescència). Per tant no es pot concloure que cap dels dos processos sigui el causant principal de la desestabilització de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 sinó que es suggereix que tant la maduració d'Ostwald com la coalescència influeixen en la desestabilització.

4.2.2.4.2. Estabilitat a 40°C

Es va estudiar l'estabilitat cinètica de nano-emulsions amb diferents relacions O/T i un 90% de contingut en aigua a 40°C. Les nano-emulsions es van preparar pel mètode de formació E. Un cop formades es van termostatitzar a 40°C. El diàmetre de gota obtingut en funció de la relació O/T es mostra a la Figura 4.19.

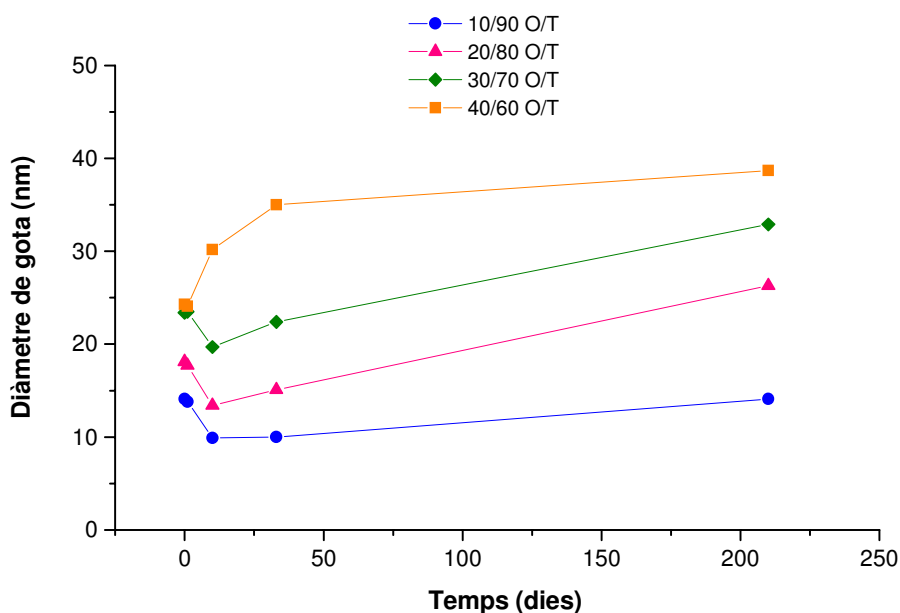


Figura 4.19. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 (símbols buits) i un 95% (símbols plens) de contingut en aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 40°C.

El diàmetre de gota de les nano-emulsions mesurat en acabar la seva preparació a 40°C va ser lleugerament més petit que el diàmetre de gota de les mateixes mesurades a 25°C. Per la mostra amb la relació O/T més elevada (40/60) la diferència entre els diàmetres de gota obtinguts a temps 0 a 40 i 25°C és més gran (de 24 a 36nm).

Per a les nano-emulsions amb relacions O/T 10/90, 20/80 i 30/70 s'observa una disminució del diàmetre de gota fins al 10é dia. A partir d'aquest dia la mida de gota de les nano-emulsions augmenta en funció del temps. Igual que amb el que succeeix a 25°C en la nano-emulsió amb una relació O/T 10/90 el diàmetre de gota es manté pràcticament constant durant el temps d'estudi (210 dies). Per a la resta de nano-emulsions la mida de gota augmenta en funció del temps tot i que no sobrepassa els 38nm durant els 210 dies d'estudi. Les nano-emulsions són més estables a 40°C que a 25°C. Els índexs de polidispersitat obtinguts augmenten en general en funció del temps (Taula 4.16).

Taula 4.16. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (40°C)		
	Relació O/T	Dies	Índex de polidispersitat
10/90	0	14,1	0,123
	1	13,8	0,125
	10	9,9	0,128
	33	10,0	0,165
	210	14,1	0,0718
20/80	0	18,1	0,122
	1	17,7	0,130
	12	13,4	0,14
	33	15,1	0,173
	210	26,3	0,190
30/70	0	23,4	0,155
	1	23,5	0,176
	12	19,7	0,220
	33	22,4	0,298
	210	32,9	0,371
40/60	0	24,3	0,221
	1	24,1	0,225
	12	30,2	0,229
	35	35,0	0,261
	210	38,7	0,368

4.2.2.4.3. Estabilitat accelerada

Cicles d'escalfament-refredament

Es va estudiar l'estabilitat accelerada de nano-emulsions sotmetent les mostres a un determinat nombre de cicles d'escalfament-refredament amb l'objectiu d'aconseguir la separació de fases. Es van escollir composicions amb relacions O/T 20/80 i 40/60 i diferents continguts en aigua. Les dispersions es van preparar per mescla dels components.

En primer lloc es van sotmetre les mostres a 12 cicles 'llargs' que van consistir en una primera etapa en termostatitzar les dispersions a 25°C durant 8-10 hores. En la segona etapa les mostres es van congelar durant 14-16 hores. Finalment les mostres es van tornar a termostatitzar a 25°C i es van anotar els canvis observats. L'esquema es mostra en la Figura 4.20:

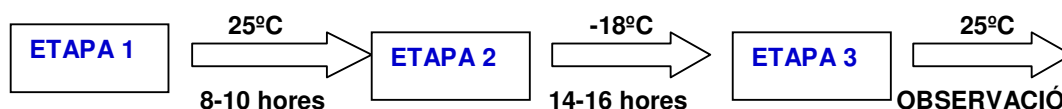


Figura 4.20. Esquema de les diferents etapes que formen part d'un cicle 'llarg' d'escalfament-refredament. Es van dur a terme un total de 12 cicles 'llargs'.

A partir del cicle número 12 i fins al 30 es van realitzar cicles 'curts' que van consistir en dues etapes de termostatització de mostres a 25°C durant 3 hores on es van intercalar etapes de congelació de mostres a -18°C una etapa de 3 hores i una altra de 15 hores. Després les mostres es termostatitzen de nou a 25°C i s'anoten els canvis observats. L'esquema es representa en la Figura 4.21.

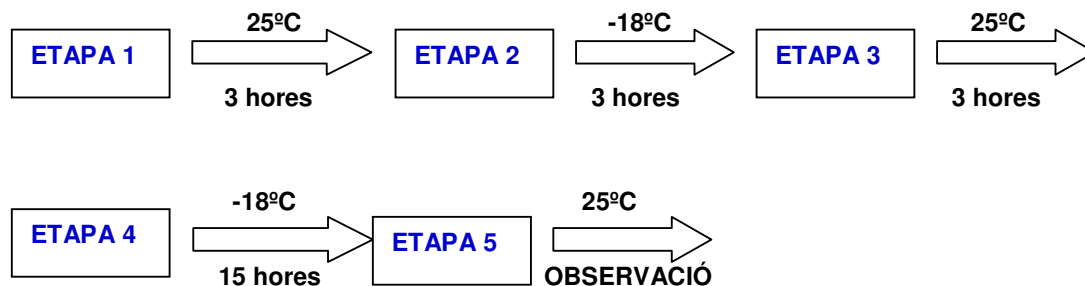


Figura 4.21. Esquema de les diferents etapes que formen part d'un cicle 'curt' escalfament-refredament. Es van dur a terme un total de 18 cicles 'curts'..

La descripció de les diferents fases observades després del primer i altres cicles així com el percentatge en volum en relació al total inicial total de la es resumeixen en les següents taules.

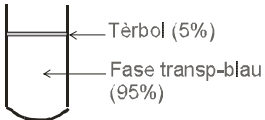
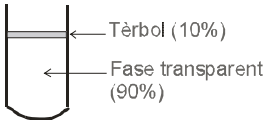
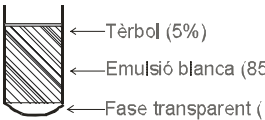
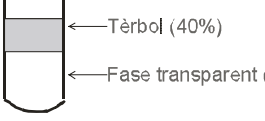
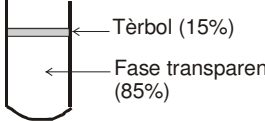
Taula 4.17. Tipus de fases observades mitjançant l'execució de cicles escalfament-refredament, 25°C ⇔ -18°C, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb relació O/T 20/80 i diferent contingut en aigua.

Nombre cicles llargs (25⇔-18°C)	20/80 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 70% A	20/80 O/T, 60% A
1	Sobre, emulsió blanca (5%). Sota, tèrbol (95%).	Sobre, emulsió blanca (10%). Sota, tèrbol (90%).	Emulsió blanca.
2			
7	Sense modificació.	Sense modificació.	Sobre, tèrbol (88%). Sota, transparent (12%).
12	Sense modificació.	Sense modificació.	
Nombre cicles curts (25⇔-18°C)	20/80 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 70% A	20/80 O/T, 60% A
18	Sense modificació.	Sense modificació.	Sense modificació.

Com s'observa en la Taula 4.17 no s'aconsegueix una separació completa de les fases en les composicions estudiades. És remarcable el fet que durant els 18 cicles 'curts' no s'aconsegueix cap canvi en la separació de fases obtinguda després dels 12 primers cicles 'llargs'. Les composicions amb un 90 i un 70% d'aigua s'arriben a separar en una fase inferior transparent-blavosa o bé transparent que pot correspondre a una microemulsió directa i que és majoritària i una fase superior tèrbola oliosa.

Cal destacar que la composició amb un 60 % d'aigua resta inalterada després d'un cicle complet d'escalfament i congelació i la qual cosa indica que l'estabilitat cinètica d'aquesta emulsió és molt elevada.

Taula 4.18. Tipus de fases observades mitjançant l'execució de cicles escalfament-refredament, 25°C ⇌ -18°C, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb relació O/T 40/60 i diferent contingut en aigua.

Nombre cicles llargs (25⇌-18°C)	40/60 O/T, 90 % A	40 / 60 O/T, 70% A	40/60 O/T, 55% A
1	Sobre, emulsió blanca (5%) Sota, tèrbol (95%).	Sobre, emulsió blanca (10%) Sota, tèrbol (90%).	Emulsió blanca.
2			
4	Sense modificació.	Sense modificació.	Fase sup., tèrbol (5%). Capa intermèdia, emulsió blanca (65%). Fase inf., transparent (30%).
7	Sense modificació.	Sense modificació.	
12	Sense modificació.	Sense modificació.	Fase sup., tèrbol (25%). Fase inf., transparent (75%).
Nombre cicles curts (25⇌-18°C)	40/60 O/T, 90 % A	40 / 60 O/T, 70% A	40/60 O/T, 55% A
18	Sense modificació.	Sense modificació.	

En la Taula 4.18 s'observa com no es van aconseguir separar completament les composicions amb relacions O/T 40/60 després de 12 cicles 'llargs' i 18 cicles 'curts'. Igual com succeeix per a les composicions amb relacions O/T 20/80 s'obté una fase inferior majoritària transparent-blavosa o bé transparent possiblement corresponent a una microemulsió de tipus directe i una fase superior tèrbola oliosa per a totes les composicions estudiades.

Per a assolir la completa separació de fases de les mostres amb una relació 20/80 i 40/60 O/T es van realitzar cicles d'escalfament-refredament que van consistir en termostatitzar les dispersions a temperatura elevada 70°C durant 8-10 hores i després en congelar-les durant 14-16 hores per tornar a termostatitzar-se a 70°C al dia següent. A partir del cicle 15 es va escurçar el temps de durada dels cicles deixant les mostres termostatitzant-se durant 3 hores. Durant la nit les mostres van ser congelades a -18°C. L'esquema de les diferents etapes dels cicles 'llargs' i 'curts' duts a terme es mostra en les Figures 4.22 i 4.23:

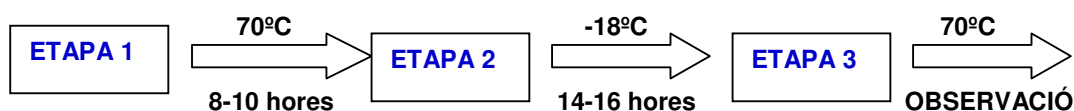


Figura 4.22. Esquema de les diferents etapes que formen part d'un cicle 'llarg' escalfament-refredament. Es van dur a terme un total de 15 cicles 'llargs' a elevada temperatura.

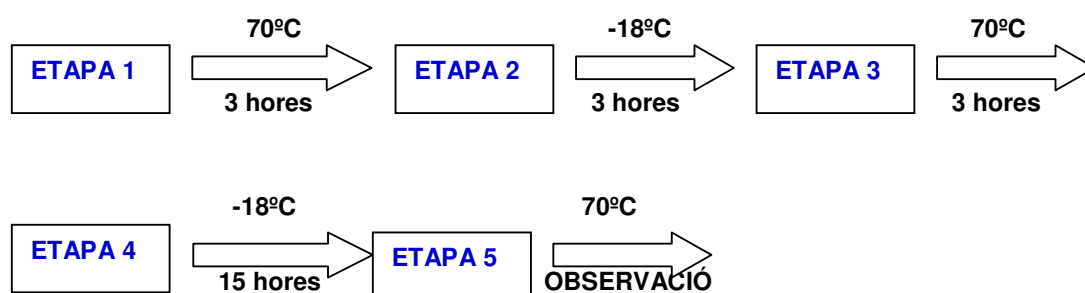


Figura 4.23. Esquema de les diferents etapes que formen part d'un cicle 'curt' escalfament-refredament. Es van dur a terme un total de 12 cicles 'curts' a elevada temperatura.

La descripció de les diferents fases observades després del primer cicle i cada cop que es van observar canvis així com la seva proporció en relació al total de la composició es resumeixen en les Taules 4.19 i 4.20.

Taula 4.19. Tipus de fases observades mitjançant l'execució de cicles escalfament-refredament, $70^{\circ}\text{C} \leftrightarrow -18^{\circ}\text{C}$, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb relació O/T 20/80 i diferent contingut en aigua.

Nombre cicles llargs ($70 \leftrightarrow -18^{\circ}\text{C}$)	20/80 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 70% A	20/80 O/T, 60% A
1			
2	Sup., tòrbol (2%). Inf., transparent-blau (98%).	Sup., tòrbol (2%). Inf., transparent (98%).	Sense modificació.
3		Sense modificació.	Sense modificació.
8		Sense modificació.	
12			

Taula 4.20. Tipus de fases observades mitjançant l'execució de cicles escalfament-refredament, 70°C ⇌ -18°C, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb relació O/T 40/60 i diferent contingut en aigua.

Nombre cicles llargs (70⇌-18°C)	40/60 O/T, 90 % A	40 / 60 O/T, 70% A	40/60 O/T, 55% A
1	<p>← Emulsió (3%) ← Fase transparent-blava (97%)</p>	<p>← Tèrbol (10%) ← Emulsió (% insignificant) ← Fase transparent (90%)</p>	<p>← Tèrbol (7%) ← Emulsió blanca (10%) ← Fase transparent (83%)</p>
2	Sup., tèrbol (3%). Emulsió insignificant. Inf., transparent-blau (97%).	Sense modificació.	Sense modificació.
3	<p>← Tèrbol (3%) ← Fase transparent-blau (97%)</p>	<p>← Tèrbol (10%) ← Fase transparent (90%)</p>	<p>← Tèrbol (5%) ← Emulsió blanca (5%) ← Fase transparent (90%)</p>
8	—	Sense modificació.	Sup., tèrbol (10%). Emulsió blanca insign. Inf., transparent (90%).
12	<p>← Fase transparent (3%) ← Fase transparent-blava (97%)</p>	Sense modificació.	Sup., tèrbol (10%). Inf., transparent (90%).
15		<p>← Fase transparent (10%) ← Fase transparent (90%)</p>	—
Nombre cicles curts (70⇌-18°C)	40/60 O/T, 90 % A	40 / 60 O/T, 70% A	40/60 O/T, 55% A
12			<p>← Fase transparent (10%) ← Fase transparent (90%)</p>

Com s'observa en les Taules 4.19 i 4.20 s'obté la separació completa de les fases de les diferents composicions estudiades. En el cas de les composicions amb una relació O/T 20/80 la separació de fases s'aconsegueix després d'un nombre de cicles 'llargs' a elevada temperatura entre 3 i 12 depenent de la composició. Per a les mostres amb una relació

O/T 40/60 i 90 i 70% de contingut en aigua s'obté la separació de fases després de 12 i 15 cicles respectivament. En la composició amb un 55% de contingut en aigua per obtenir la separació de fases són necessaris a més 12 'cicles curts' a elevada temperatura.

Per tant la dispersió amb una relació O/T més elevada (40/60) necessita un major nombre de cicles per obtenir la separació completa de fases que la dispersió amb una relació O/T 20/80.

Per a les composicions estudiades s'ha obtingut una fase inferior majoritària d'aspecte transparent-blau o bé transparent i una fase superior minoritària que és transparent i oliosa.

Les mostres un cop separades es van termostatitzar a 25°C i es van observar els canvis macroscòpics durant 30 dies. No es van observar canvis en l'aspecte macroscòpic de les mostres durant el temps estudi mantenint-se la separació de fases obtinguda després dels cicles d'escalfament-refredament. El fet que es mantingui la separació de fases de les mostres a 25°C demostra un cop més que les dispersions corresponen a nano-emulsions.

Es va mesurar la mida de gota mitjançant DLS de la fase inferior transparent-blavosa de les mostres amb les diferents relacions O/T i un 90% de contingut en aigua després de la separació de fases mitjançant els cicles d'escalfament-refredament (25 a -18°C). Els resultats obtinguts es mostren en la Taula 4.21.

Taula 4.21. Mida de gota de la fase inferior de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 sotmeses a cicles d'escalfament-refredament (25°C↔-18°C), a 25°C.

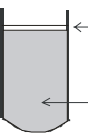

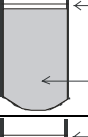
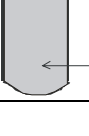
COMPOSICIÓ			Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	%T	O/T		
90	8	20/80	14,4	0,35
	6	40/60	17,1	0,285

Es van obtenir diàmetres de gota de 143 i 171 nm per a les fases inferiors de les composicions amb una relació 20/80 i 40/60 O/T respectivament. Aquests valors són inferiors als obtinguts per les nano-emulsions preparades amb els diferents mètodes. Aixó sembla indicar que l'equilibri de fases de les nano-emulsions del sistema correspon a una fase inferior majoritària de microemulsió o solució micel·lar directa i un excés de component oliós.

Ultracentrifugació

També es va estudiar l'estabilitat accelerada de les nano-emulsions mitjançant la ultracentrifugació de composicions preparades per mescla directa dels components. Es van escollir composicions amb una relació O/T 20/80 i 40/60 i amb un contingut del 70 i el 90% d'aigua. Les mostres es van ultracentrifugar durant 25,5 hores a 25°C i a una velocitat de 20000rpm. La descripció de les fases observades després de l'assaig es mostra en la Taula 4.22.

Taula 4.22. Tipus de fases observades mitjançant l'ultracentrifugació a 20000rpm i 25°C, després de 25,5h.

COMPOSICIÓ		OBSERVACIONS
Relació O/T	%Aigua	
20 / 80	90	 ← Cremat (5%) ← Fase transp. blava (95%)
	70	 ← Cremat (5%) ← Fase transparent (95%)
40 / 60	90	 ← Cremat (5%) ← Fase transp. blava (95%)
	70	 ← Cremat (10%) ← Fase transparent (90%)

No s'aconsegueix una separació complerta de les fases després d'ultracentrifugar amb les condicions establertes. Les composicions estudiades presenten un petit cremat i una fase inferior majoritària que és transparent-blava o bé transparent.

Els estudis d'estabilitat accelerada confirmen que l'equilibri de fases de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 consisteix en dues fases líquides.

4.2.3. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL/MIGLYOL 812:OLI DE RICÍ 1:1

4.2.3.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL/MIGLYOL 812:OLI DE RICÍ 1:1 A 25°C

Es va estudiar el comportament fàsic del sistema per tal de veure la influència de l'oli de ricí en el tipus de fases respecte el sistema model aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

La Figura 4.24 mostra el diagrama de fases parcial del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 a 25°C. Es va estudiar el diagrama fins la zona de formació de nano-emulsions aproximadament segons els resultats obtinguts en els estudis preliminars (apartat 4.2.1.1) .

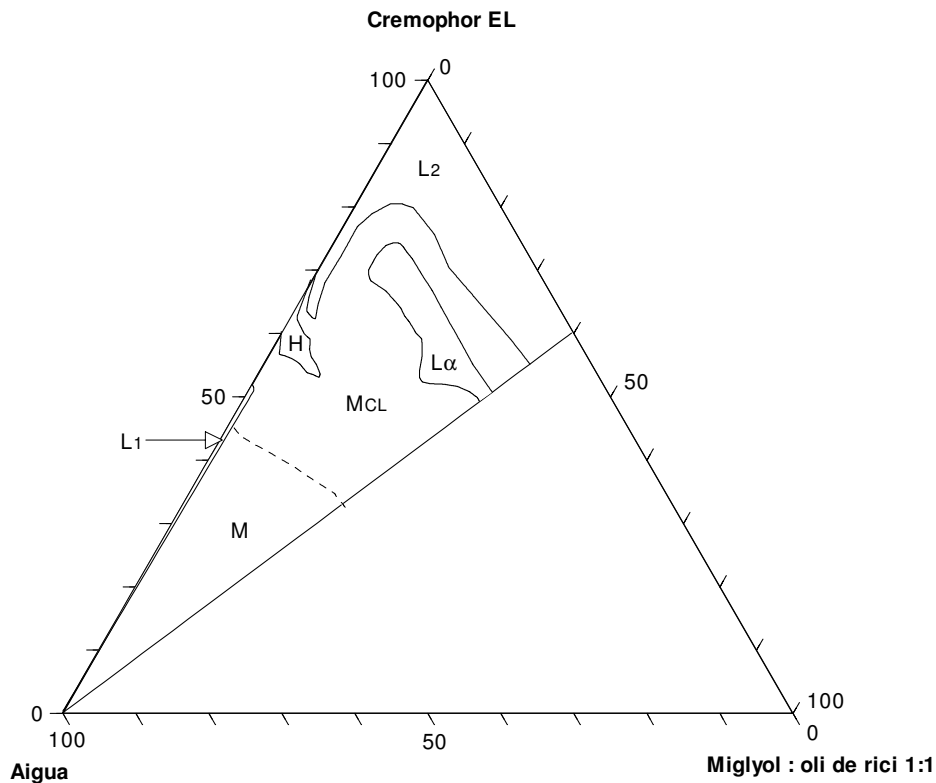


Figura 4.24. Diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1, a 25°C. L₁: fase líquida isotròpica (solució micel·lar directa o microemulsió de fase externa aquosa); L₂: fase líquida isotròpica (solució micel·lar inversa o microemulsió de fase externa oliosa); L_α: fase anisotròpica (fase de cristall líquid laminar); H: fase anisotròpica (fase de cristall líquid hexagonal invers); M_{CL}: regió multifàsica amb cristall líquid present (equilibri no determinat); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

El sistema binari aigua/Cremophor EL ja s'ha descrit en l'apartat 4.2.2.1 El component oliós del sistema (Miglyol 812:oli de ricí 1:1) és soluble en el Cremophor EL fins la relació O/T estudiada 40/60 formant una solució de micel·les inverses.

Considerant el sistema ternari es descriuen quatre regions monofàsiques:

- L₁ és una regió isotròpica i transparent de solucions micel·lars directes o microemulsions de fase externa aquosa que solubilitza molt poc component oliós (inferior al 2%).
- L₂ és una regió isotròpica i transparent que correspon a solucions micel·lars inverses o microemulsions de fase externa oliosa. S'estén des del vèrtex del tensioactiu fins la relació O/T estudiada 40/60 i solubilitza un 35% d'aigua com a màxim.

- La regió H és anisotropa i transparent i molt viscosa i correspon a una fase de cristall líquid hexagonal. S'estén des de la relació 32/68 fins la relació 40/60 A/T de l'eix aigua/tensioactiu i solubilitza com a màxim un 8% d'oli.
- La regió L_α és una regió anisotropa i lleugerament tèrbola que correspon a una fase de cristall líquid laminar. S'estén des de la relació 9/91 fins la relació O/T estudiada 40/60 en el rang de concentració d'aigua comprés entre el 15 i el 26%.

La resta del diagrama de fases està compost de dues regions multifàsiques: M_{CL} és una regió multifàsica amb cristall líquid present i M és una regió multifàsica. L'equilibri de fases d'ambdues no ha estat determinat.

Les fases de cristall líquid del sistema no van poder ser identificades mitjançant microscopia òptica degut a la fragilitat de les mostres. No obstant la similitud del diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb aquest i l'aspecte macroscòpic de les mostres van permetre identificar-les.

4.2.3.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

Es van formar nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 mitjançant l'addició d'aigua a 70°C de manera successiva a mescles oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades (mètode E descrit en l'apartat 4.2.2.3.). S'ha escollit aquest mètode perquè va ser amb el que es van aconseguir formar nano-emulsions amb mides de gota i índexs de polidispersitat més petits en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

Com s'observa en la Figura 4.25 es van formar dispersions transparents o transparents-blavoses a partir de la relació 1/99 O/T i fins la relació 30/70 i amb un contingut mínim d'aigua d'aproximadament del 55%. Aquestes composicions corresponen a nano-emulsions perquè es formen en la regió multifàsica (M) del diagrama de fases (Figura 4.24). A més quan han estat preparades addicionant oli a relacions aigua/tensioactiu o bé afegint tots els components a la vegada han presentat un aspecte tèrbol-blanquinós.

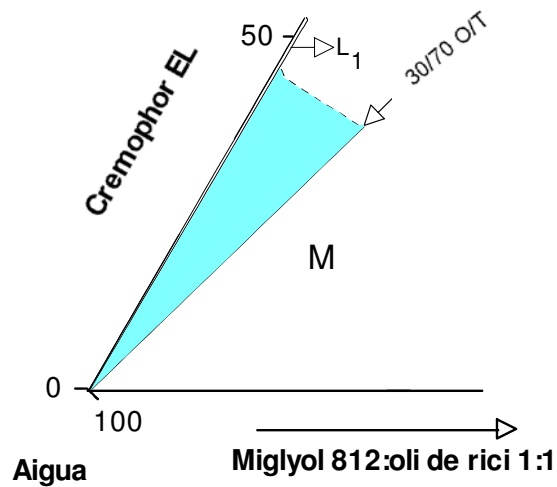


Figura 4.25. Regió de nano-emulsions formades mitjançant el mètode d'emulsificació E (addicions successives d'aigua a mescles oli/tensioactiu a 70°C) en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1.

En aquest sistema durant el procés d'emulsificació també pot jugar un paper important la fase de L_{α} per a la formació de nano-emulsions.

4.2.3.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

Les nano-emulsions s'han caracteritzat mitjançant mesures de la mida de gota per DLS a 25°C després de la seva formació. Els resultats per a nano-emulsions amb un contingut d'aigua constant (90%) en funció de la relació O/T es representen en la Figura 4.26 i els índexs de polidispersitat de les mesures a la Taula 4.23.

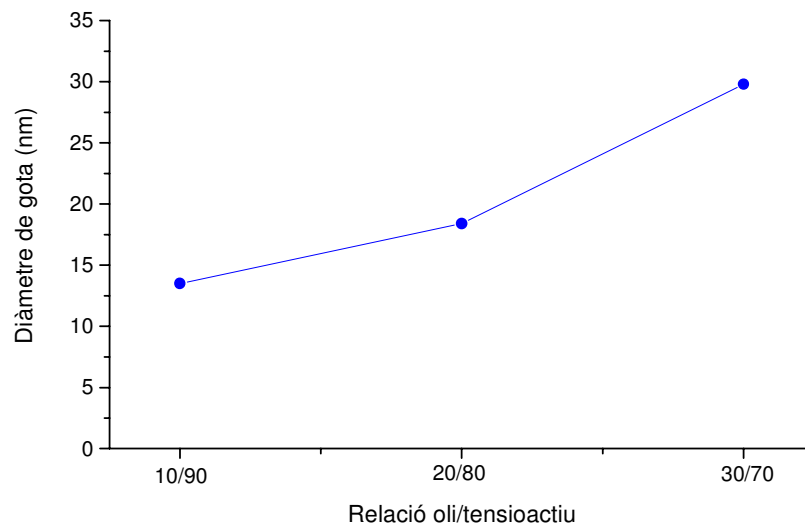


Figura 4.26. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T, a 25°C, preparades pel mètode E.

Taula 4.23. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions preparades pel mètode E.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	13,5	0,143
	20/80	18,4	0,197
	30/70	29,8	0,254

El diàmetre de gota promig de les nano-emulsions del sistema augmenta en incrementar la relació oli/tensioactiu evidenciant que es tracta de sistemes dispersos de fase externa aquosa. El diàmetre més petit obtingut és de 13,5 nm mentre que el més gran és de 29,8 nm corresponents a relacions oli/tensioactiu 10/90 i 30/70 respectivament. L'índex de polidispersitat també augmenta amb la relació oli/tensioactiu. En augmentar el contingut en oli de les nano-emulsions i per tant disminuir el contingut de tensioactiu augmenta la mida de les gotes.

4.2.3.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.3.4.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat també l'estabilitat en funció del temps de nano-emulsions preparades mitjançant el mètode E de diferents relacions O/T i un 90% d'aigua a 25°C. En la Figura 4.27 es mostren els diàmetres de gota de les dispersions en funció del temps.

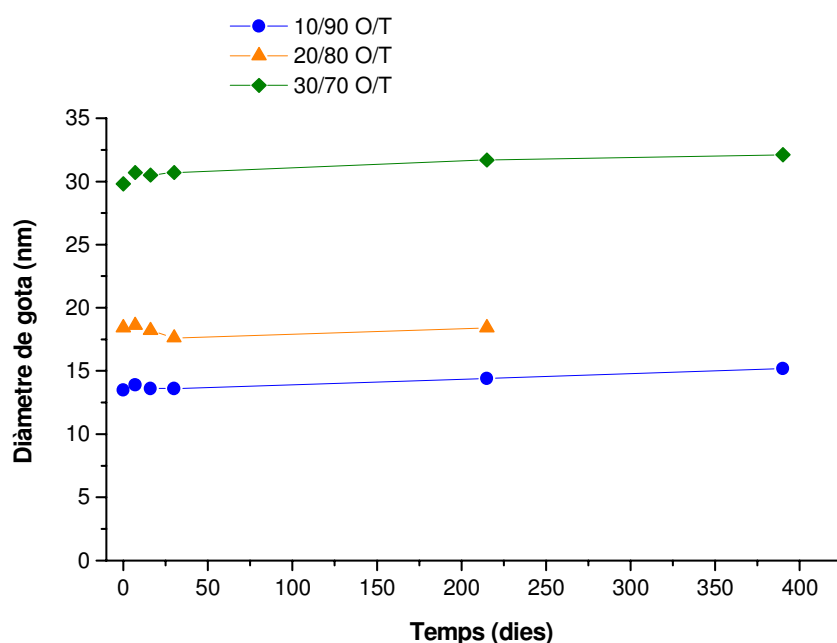


Figura 4.27. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb un 90% d'aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 25°C.

El diàmetre de gota de les nano-emulsions pràcticament no augmenta durant el temps d'estudi que ha estat de gairebé 400 dies. En la Taula 4.24 es mostra el valor numèric del diàmetre de gota i l'índex de polidispersitat obtinguts. L'índex de polidispersitat gairebé no varia en funció del temps. Les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 presenten una elevada estabilitat cinètica superior a la del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

Taula 4.24. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb diferent relació O/T i un **90%** d'aigua.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (25°C)		
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
10/90	0	13,5	0,143
	7	13,9	0,120
	16	13,6	0,145
	30	13,6	0,166
	215	14,4	0,125
	390	15,2	0,120
20/80	0	18,4	0,197
	7	18,6	0,174
	16	18,2	0,181
	30	17,6	0,162
	215	18,4	0,185
30/70	0	29,8	0,254
	7	30,7	0,251
	16	30,5	0,251
	30	30,7	0,261
	215	31,7	0,294
	390	32,1	0,265

L'addició d'oli de ricí al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 disminueix la regió de formació de nano-emulsions però n'augmenta la seva estabilitat cinètica. Això s'atribueix a la composició química de l'oli de ricí. Els àcids grassos lliures que formen part de l'oli de ricí actuen com a cotensioactius de manera que donen lloc a una disminució de gota i un augment de l'estabilitat (Jumaa 1998a). Jumaa i Müller a més afegixen que l'oli de ricí evita la coalescència i la flocculació de les gotes de nano-emulsió.

4.2.4. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL/OLI DE RICÍ

Donada l'elevada estabilitat de les nano-emulsions formades en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 es va considerar oportú estudiar el sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí.

4.2.4.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL/OLI DE RICÍ A 25°C

El diagrama de fases parcial del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí a 25°C es mostra en la Figura 4.28.

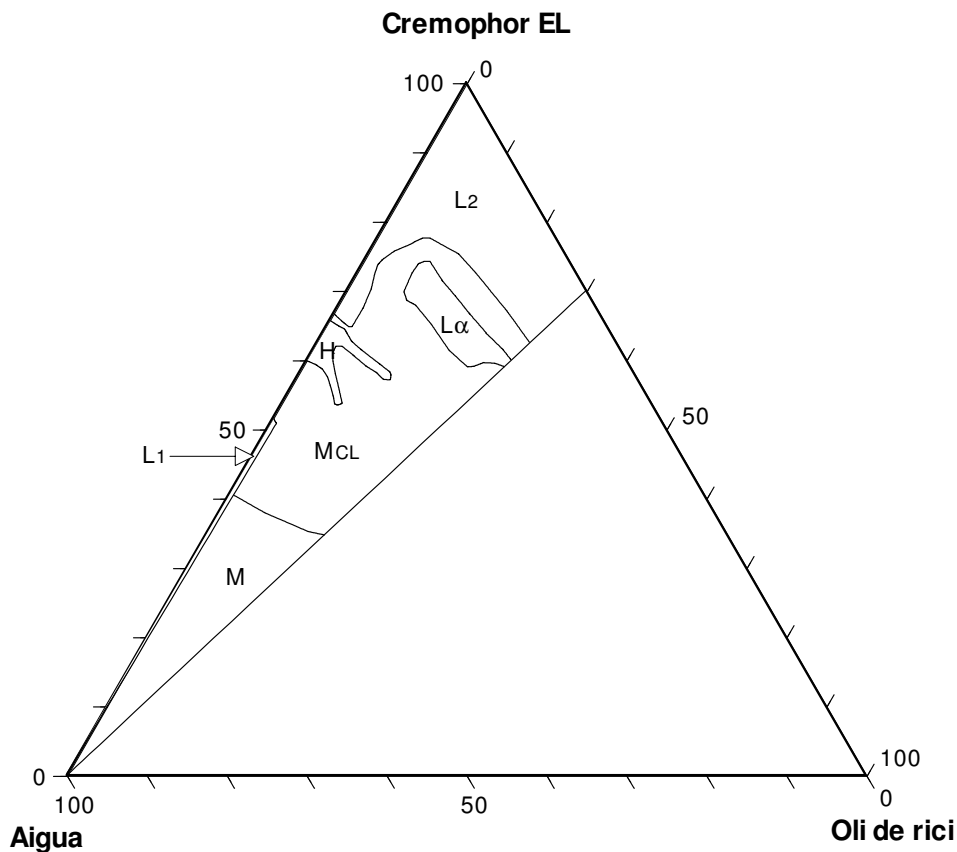


Figura 4.28. Diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí, a 25°C. L₁: fase líquida isotropa (solució micel·lar directa o microemulsió de fase externa aquosa); L₂: fase líquida isotropa (solució micel·lar inversa o microemulsió de fase externa oliosa); L_α: fase anisotropa (fase de cristall líquid laminar); H: fase anisotropa (fase de cristall líquid hexagonal invers); M_{CL}: regió multifàsica amb fase de cristall líquid present (equilibri no determinat); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

El sistema binari parcial oli de ricí/Cremophor EL fins la relació O/T estudiada 30/70 mostra que l'oli de ricí és soluble en el tensioactiu formant una solució de micel·les inverses. El sistema aigua/Cremophor EL ja ha estat descrit a l'apartat 4.2.2.1.

En el sistema ternari aigua/Cremophor EL/oli de ricí s'han identificat quatre regions monofàsiques i dues regions multifàsiques. Les regions monofàsiques són les següents:

- L_1 és una regió isotropa i transparent que correspon a una fase de solucions micel·lars directes o microemulsions de fase externa aquosa que solubilitza menys del 2% de component oliós.
- L_2 és una regió isotropa i transparent que correspon a una fase de solucions micel·lars inverses o microemulsions de fase externa oliosa que s'estén al llarg de l'eix O/T des del vèrtex del tensioactiu. Aquesta regió de solucions micel·lars inverses solubilitza un màxim de 32% d'aigua a relacions O/T baixes.
- H és un regió anisotropa transparent i molt viscosa que correspon a una fase de cristall líquid hexagonal i que s'estén des de la relació 32/68 fins la relació 40/60 de l'eix aigua/tensioactiu. Aquesta regió solubilitza un màxim d'11% d'oli.
- La regió anisotropa i lleugerament tèrbola L_α correspon a una fase de cristall líquid laminar. S'estén des de la relació O/T 10/90 fins la relació O/T estudiada 30/70 en el rang de concentració d'aigua comprés entre el 15 i el 23%.

Les regions multifàsiques identificades són:

- M_{CL} és una regió multifàsica amb cristall líquid present que existeix a concentracions baixes d'aigua fins aproximadament un 60% d'aigua.
- La regió M és una regió multifàsica que ocupa la resta del diagrama de fases estenent-se fins al vèrtex de l'aigua.

Les fases de cristall líquid del sistema no van poder ser identificades mitjançant microscopia òptica degut a la fragilitat de les mostres.

4.2.4.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'han obtingut dispersions transparents o transparents-blavoses en el sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí mitjançant el mètode E és a dir, afegint aigua de manera successiva a 70°C a mesclures oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades. Les composicions corresponen a nano-emulsions doncs es formen en una regió multifàsica del diagrama de fases del sistema (M) (Figura 4.28). En preparar-les afegint oli a mesclures d'aigua i tensioactiu o bé afegint tots els components a la vegada, han presentat un aspecte tèrbol-blanquinós, confirmant que no són microemulsions.

La regió de nano-emulsions es representa en la Figura 4.29 i s'estén des de la relació 1/99 fins la relació 20/80 oli/tensioactiu, contenint com a mínim un 60% d'aigua, aproximadament. La regió de formació de nano-emulsions és inferior a l'obtinguda en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1.

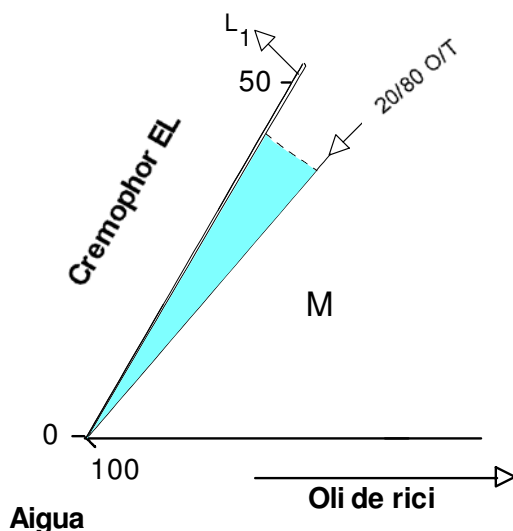


Figura 4.29. Regió de nano-emulsions formada mitjançant el mètode d'emulsificació E (addicions successives d'aigua a mesclures oli/tensioactiu a 70°C) en el sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí.

En aquest sistema també apareix una fase de cristall líquid laminar que podria estar relacionada amb la formació de nano-emulsions.

4.2.4.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

Les nano-emulsions del sistema s'han caracteritzat mitjançant determinacions de la mida de gota per DLS a 25°C. En la Taula 4.25 es mostra el diàmetre de gota de nano-emulsions així com l'índex de polidispersitat obtingut de les mesures.

Taula 4.25. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí preparades pel mètode E.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	17,4	0,204
	20/80	21,5	0,202

La mida de gota de les nano-emulsions seguint la mateixa tendència dels resultats obtinguts en els sistemes anteriors augmenta en funció de la relació oli/tensioactiu.

Comparant amb els resultats obtinguts amb els sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí s'observa que la mida de gota de les nano-emulsions obtingudes és lleugerament superior.

Aquests resultats coincideixen amb els obtinguts per Jumaa i Müller els quals van estudiar l'efecte del component oliós en la mida de gota de nano-emulsions en sistemes aigua/Synperonic F68/component oliós (triglicèrids de cadena mitja oli de soja oli de ricí i tributirat sols o bé combinats en mescles 1:1). La mida de gota obtinguda per les nano-emulsions amb la composició sol. aquosa de glicerina al 25% un 2% de Synperonic F68 i oli de ricí va ser de 135nm una mica superior a l'obtinguda per les nano-emulsions formades amb triglicèrid (120nm) o amb la barreja triglicèrid:oli de ricí 1:1 (118nm). Les nano-emulsions es van formar mitjançant un mètode d'alta energia (ultraturrax i homogeneïtzador d'alta pressió) (Jumaa 1998b). Els mateixos autors postulen que les nano-emulsions formades únicament amb oli de ricí necessiten més energia per disminuir la mida de gota degut a l'elevada viscositat de l'oli (Jumaa 1998a).

4.2.4.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.4.4.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat cinètica de nano-emulsions del sistema preparades segons el mètode de nano-emulsificació E a 25°C. Els resultats del diàmetre de gota de dispersions amb relacions O/T 10/90 i 20/80 i un 90% d'aigua en funció del temps es mostren en la Figura 4.30.

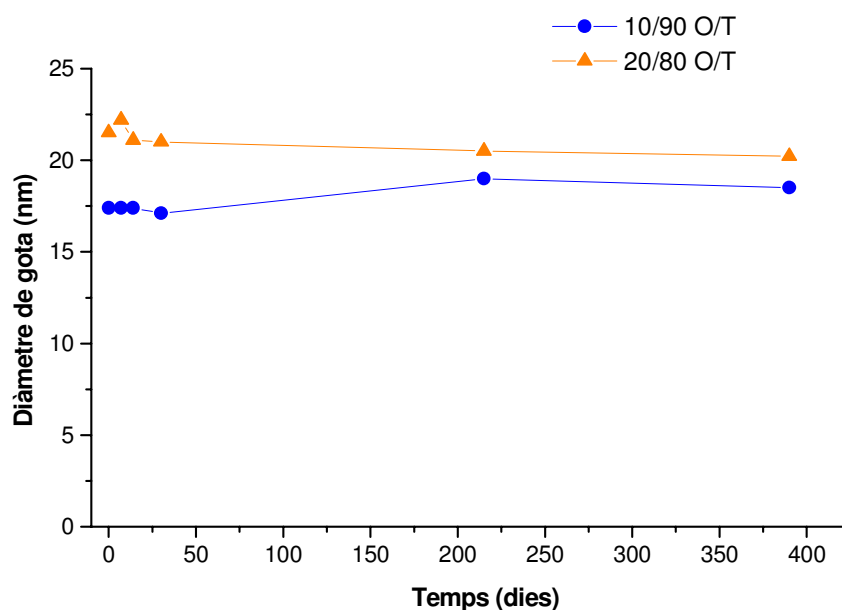


Figura 4.30. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí amb un 90% d'aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 25°C.

Com s'observa en la Figura 4.30 les nano-emulsions del sistema presenten una elevada estabilitat cinètica. Tant la mida de gota de les dispersions com l'índex de polidispersitat obtinguts (Taula 4.26) es mantenen pràcticament constants durant el temps d'estudi que és de gairebé 400 dies. No obstant els índexs de polidispersitat són elevats. L'elevada estabilitat es pot atribuir als factors esmentats en l'apartat anterior (presència d'àcids grassos lliures que actuen com a cotensioactius).

Taula 4.26. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (25°C)		
	Relació O/T	Dies	Índex de polidispersitat
10/90	0	17,4	0,274
	7	17,4	0,270
	14	17,4	0,267
	30	17,1	0,273
	215	19	0,281
	390	18,5	0,259
20/80	0	21,5	0,202
	7	22,2	0,227
	14	21,1	0,193
	30	21	0,260
	215	20,5	0,254
	390	20,2	0,226

4.2.5. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL:SYNPERONIC F68 1:1 /MIGLYOL 812

4.2.5.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL:SYNPERONIC F68 1:1 /MIGLYOL 812 A 25°C

S'ha estudiat el comportament fàsic del sistema per tal de determinar la influència de l'addició del Synperonic F68 en les fases que es formen. El diagrama de fases del sistema a 25°C es representa en la Figura 4.31.

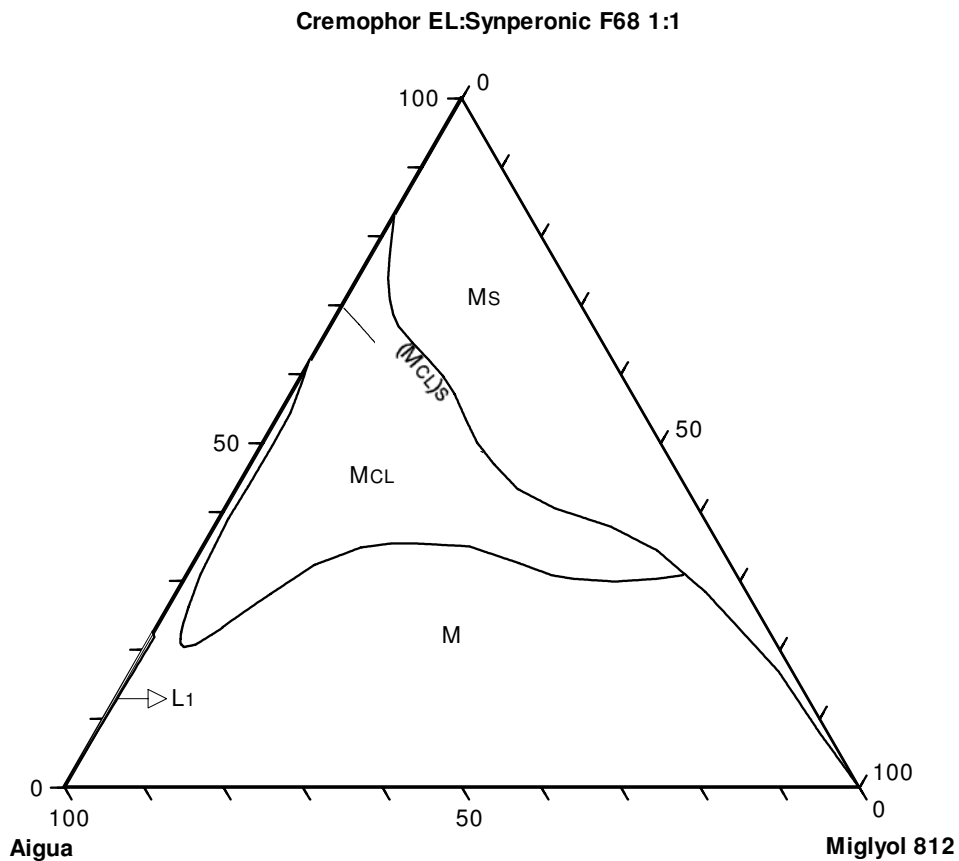


Figura 4.31. Diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812, a 25°C. L₁: fase líquida isotropa (solució micel.lar directa o microemulsió de fase externa aquosa); M_S: regió multifàsica amb fase sòlida present (equilibri no determinat); (M_{CL})_S: regió multifàsica anisotropa amb cristall líquid i sòlid presents (equilibri no determinat); M_{CL}: regió multifàsica amb cristall líquid present (equilibri no determinat); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

En primer lloc considerant els sistemes binaris Miglyol 812/aigua i Miglyol 812/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1 i aigua/ Cremophor EL:Synperonic F68 1:1:

- El sistema binari aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1 presenta una regió monofàsica corresponent a solucions micel.lars directes (L₁) que s'estén des del vèrtex de l'aigua fins la relació A/T 88/12. A partir d'aquesta relació A/T i fins la relació 38/62 s'obté una regió multifàsica la qual passa a contenir cristall líquid des de la relació 38/62 fins la relació 30/70 A/T. Des de la relació 30/70 fins la relació 18/82 A/T s'obté una regió multifàsica amb cristall líquid i sòlid presents. La resta

del sistema binari A/T està formada per una regió multifàsica amb fase sòlida present.

- L'aigua i el Miglyol 812 són totalment immiscibles tal i com s'ha indicat en els apartats anteriors.
- La mescla de tensioactius i el component oliós són immiscibles a 25°C obtenint-se una regió multifàsica amb fase sòlida present al llarg de tot l'eix oli/tensioactiu.

En el sistema ternari aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 s'han identificat les següents regions multifàsiques:

- M_s és una regió multifàsica amb fase sòlida que s'estén al llarg de l'eix tensioactiu/component oliós i fins a un contingut d'aigua del 23% d'aigua. La regió es va estretint a mesura que augmenta la relació oli/tensioactiu.
- La regió $(M_{CL})_s$ correspon a una petita regió multifàsica amb cristall líquid i fase sòlida presents.
- M_{CL} és una regió multifàsica amb cristall líquid present. Es situa des de la relació 0/100 fins la relació 65/35 O/T i fins a una concentració d'aigua del 77%.
- La regió M és una regió multifàsica que ocupa la resta del diagrama de fases.

4.2.5.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'han format nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 mitjançant addicions successives d'aigua a 70°C a mesclades oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades (mètode E).

Com s'observa en la Figura 4.32 les composicions es formen en la regió multifàsica M i per tant corresponen a nano-emulsions. A més la seva formació depèn del mètode de preparació doncs al preparar-les addicionant oli a relacions aigua/tensioactiu o bé afegint tots els components a la vegada han presentat un aspecte tèrbol-blancinós. La regió de nano-

emulsions trobada en el sistema s'estén des de la relació 1/99 fins la relació 20/80 oli/tensioactiu a partir d'un 75 i 80% d'aigua respectivament.

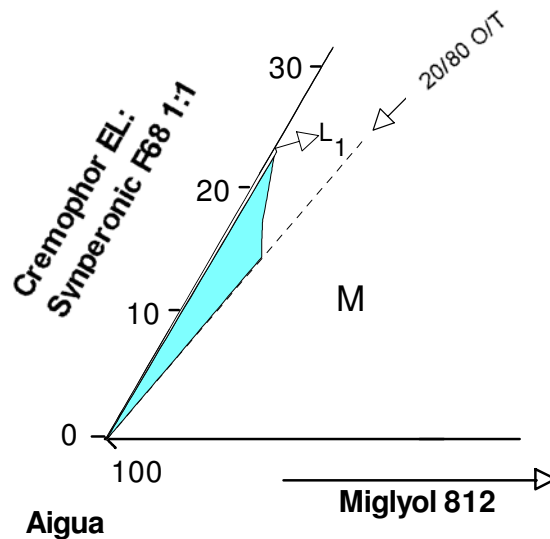


Figura 4.32. Regió de nano-emulsions formada mitjançant el mètode d'emulsificació E (addicions successives d'aigua a mescles oli/tensioactiu a 70°C) en el sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812.

En aquest sistema també es produeixen transicions de fases a través de fases de cristall líquid durant el procés d'emulsificació encara que el tipus de cristall líquid no ha estat identificat.

4.2.5.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'ha mesurat la mida de gota de les nano-emulsions un cop acabades de preparar en funció de la relació oli/tensioactiu mitjançant DLS. Els resultats obtinguts es mostren en la Taula 4.27.

Taula 4.27. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 preparades pel mètode E.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	45,5	0,099
	20/80	66,9	0,163

Com s'observa a mesura que augmenta la relació oli/tensioactiu augmenta també la mida de gota des de 45 fins a 67nm per a relacions O/T 10/90 i 20/80 respectivament. L'índex de polidispersitat encara que també augmenta amb la relació O/T és inferior a l'obtingut en els dos sistemes anteriors.

Es de destacar que la mida de gota obtinguda per les nano-emulsions del sistema amb Synperonic F68 és superior a l'obtinguda per les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812. Diversos estudis han mostrat que la combinació de fosfolípids i Synperonic F68 dona lloc a la formació d'una pel·lícula tensioactiva mixta en la que les molècules del tensioactiu copolimèric en bloc s'intercalen amb molècules de fosfolípid (Benita 1986; Benita 1991; Weingarten 1991). L'augment de la mida de gota en addicionar Synperonic al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 podria atribuir-se a la formació de pel·lícules tensioactives mixtes.

D'altra banda alguns treballs han mostrat que el Synperonic F68 contribueix a disminuir la mida de gota de nano-emulsions (Frisbee 1994) i inclús que la concentració de Synperonic F68 té una gran influència en la distribució de la mida de gota de les nano-emulsions obtingudes (Seijo 1990; Bru 1998).

4.2.5.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.5.4.1. Estabilitat a 25°C

Es va estudiar l'estabilitat cinètica de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 a 25°C mitjançant determinacions de la mida de gota en funció del temps (Figura 4.33). Les

nano-emulsions es van preparar mitjançant el mètode de nano-emulsificació E.

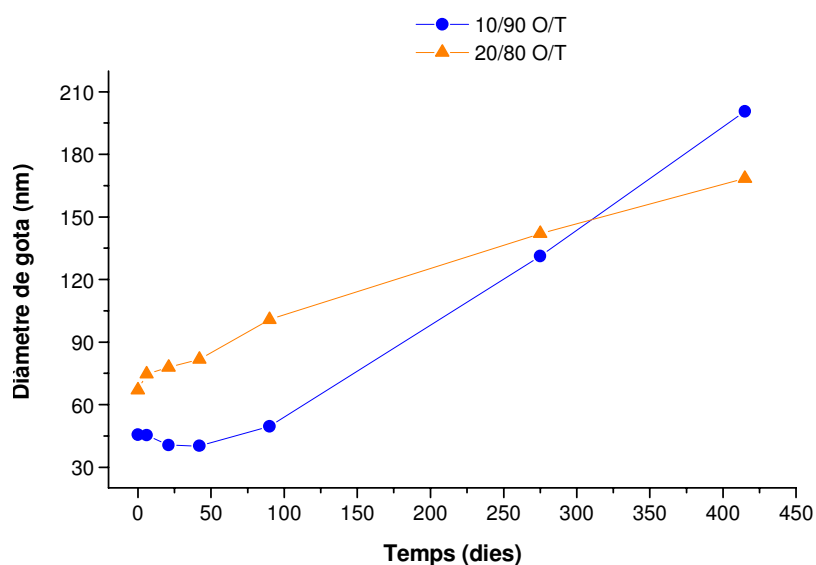


Figura 4.33. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 amb un 90% de contingut en aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 25°C.

El diàmetre de gota de les nano-emulsions augmenta en funció del temps tal i com s'observa en la Figura. En el període experimental de 415 dies la nano-emulsió amb la relació O/T 10/90 augmenta de 45nm (diàmetre de gota obtingut després de la preparació) fins 200nm i la nano-emulsió amb la relació O/T 20/80 augmenta de 67nm fins a 169nm. Els índexs de polidispersitat obtinguts per les mesures a partir del dia 90 van ser molt elevats (Taula 4.28).

Taula 4.28. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT (25°C)	
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
10/90	0	45,5	0,099
	6	45,4	0,139
	21	40,5	0,128
	42	40,2	0,197
	90	49,5	0,229
	275	131,2	0,691
	415	200,6	0,932
20/80	0	66,9	0,163
	6	74,7	0,170
	21	77,9	0,226
	42	81,7	0,245
	90	100,8	0,239
	275	142,0	0,391
	415	168,5	0,488

Amb l'addició d'un tensioactiu de tipus bloc copolímer es pretenia augmentar l'estabilitat cinètica de les nano-emulsions. No obstant aquesta no s'aconsegueix millorar respecte a l'obtinguda per les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

No obstant en sistemes constituïts per fosfolípids l'addició de Synperonic F68 augmenta l'estabilitat del sistema degut als efectes estèrics que confereix el copolímer en bloc (Benita 1986; Benita 1991; Weingarte 1991).

4.2.5.4.2. Estabilitat accelerada

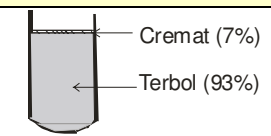
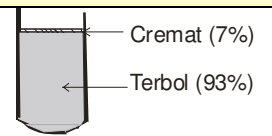
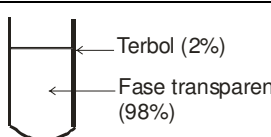
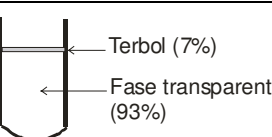
Cicles d'escalfament-refredament

Per tal de trobar l'equilibri de fases de les nano-emulsions del sistema es va estudiar l'estabilitat accelerada de nano-emulsions sotmetent les mostres a un determinat nombre de cicles d'escalfament-refredament. Es van escollir per aquest estudi les mateixes composicions que han estat caracteritzades en l'apartat 4.2.5.3 és a dir les relacions O/T 10/90 i 20/80 i un 90% d'aigua. Les dispersions es van preparar per mescla dels components.

Es van sotmetre les mostres a 10 cicles ‘llargs’ que van consistir en termostatitzar les dispersions a 25°C durant 8–10 hores i a una posterior congelació de les mateixes durant 14–16 hores. Al dia següent les mostres es termostatitzen de nou a 25°C completant així un cicle d’escalfament–refredament. A partir del cicle número 10 i fins al 30 es van realitzar cicles ‘curts’ en els que el temps de termostatització de les mostres es va escurçar fins a 3 hores. Durant la nit les mostres van ser congelades a –18°C durant unes 14–15 hores. L’esquema de les etapes de cada cicles es mostra en les Figures 4.20 i 4.21.

La descripció de les diferents fases observades després del primer i altres cicles així com el percentatge en volum en relació al volum total inicial es resumeixen en la taula següent.

Taula. 4.29 Tipus de fases observades mitjançant l’execució de cicles escalfament-refredament, 25°C ⇔ -18°C, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812.

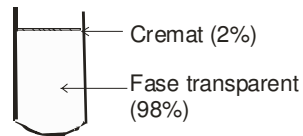
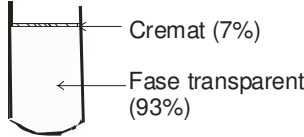
Nombre cicles llargs (25⇔-18°C)	10/90 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 90% A
1		
3		
10	Sense modificació	Sense modificació
Nombre cicles curts (25⇔-18°C)	10/90 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 90% A
20	Sense modificació	Sense modificació

Com s’observa en la Taula 4.29 no s’aconsegueix una separació complerta de les fases en les composicions estudiades. Les composicions es separen a partir del tercer cicle ‘llarg’ en una fase inferior transparent que és majoritària i una fase superior d’aspecte tèrbol. L’execució de més cicles a partir del tercer no modifica la separació de fases obtinguda als inicis de l’estudi.

Ultracentrifugació

Es va fer també un estudi de l'estabilitat física de les nano-emulsions mitjançant ultracentrifugació de les composicions amb una relació O/T 10/90 i 20/80 i amb un contingut del 90% d'aigua preparades per addició directa dels components. Les mostres es van ultracentrifugar durant 25 hores a 25°C i a una velocitat de 20000rpm. La descripció de les fases observades després de l'assaig es mostra en la Taula 4.30.

Taula 4.30. Tipus de fases observades mitjançant l'ultracentrifugació de mostres del sistema aigua/Cremophor EL:Synperonic F68 1:1/Miglyol 812 a 20000rpm i 25°C, després de 25,5h.

COMPOSICIÓ		OBSERVACIONS
Relació O / T	%Aigua	
10/90	90	
20/80	90	

Després de l'ultracentrifugació no s'aconsegueix una separació complerta de les fases sinó que tot i que les mostres presenten una fase transparent majoritària inferior hi ha també un petit cremat que no s'aconsegueix separar.

Els resultats obtinguts sobre els estudis d'estabilitat accelerada semblen indicar que l'equilibri de fases de les nano-emulsions del sistema estaria format per una fase majoritària de microemulsió o solució micel·lar directa i un excés de component oliós.

4.2.6. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL:POLIETILENGLICOL 400 1:1/MIGLYOL 812

4.2.6.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL:POLIETILENGLICOL 400 1:1/MIGLYOL 812 A 25°C

Per tal d'estudiar l'efecte de l'addició d'un polietilenglicol de baix pes molecular com a cotensioactiu en el sistema model aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 es va estudiar el diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 a 25°C (Figura 4.34).

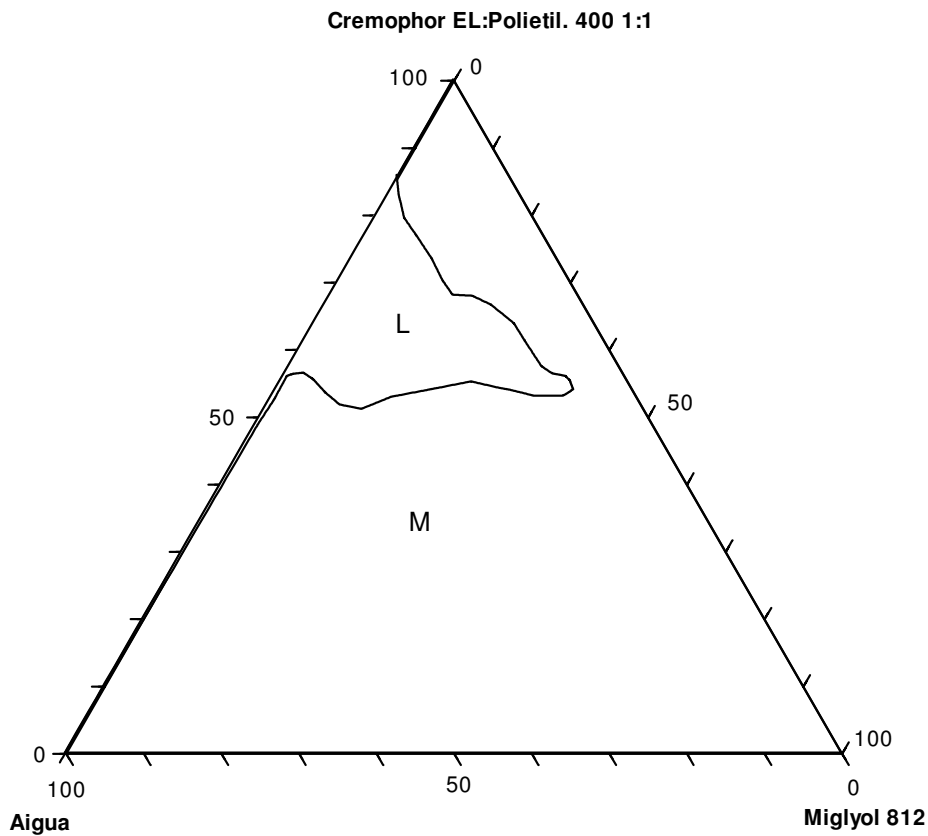


Figura 4.34. Diagrama de fases del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812, a 25°C. L: fase líquida isotropa (solució micel·lar o microemulsió); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

El sistema binari aigua/component oliós ja ha estat estudiat en apartats anteriors. Si es consideren els sistemes binaris aigua/tensioactiu i component oliós/tensioactiu s'observa que:

- La mescla de tensioactius (Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1) i el Miglyol 812 són totalment immiscibles.
- El sistema aigua/ Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1 forma una extensa regió de solucions micel·lars des del vèrtex de l'aigua fins la relació 13/87 A/T. L'aigua no és soluble en la mescla de tensioactius fins a una relació A/T de 13/87.

En quant al sistema ternari aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 es distingeixen dues regions una monofàsica i una altra multifàsica:

- La regió monofàsica L està formada per composicions transparents i isotropes (solucions micel·lars i microemulsions). S'estén des de l'eix aigua/component tensioactiu i aconseguix solubilitzar un màxim del 38% d'oli per la relació A/T igual a 13/87. En augmentar la relació aigua/component tensioactiu la regió de solució micel·lar solubilitza una concentració molt baixa de component oliós.
- M és una regió multifàsica que ocupa la major part del diagrama de fases.

En aquest sistema de fases no s'han identificat fases de cristall líquid a 25°C.

4.2.6.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'han format dispersions transparents i transparents-blavoses en el sistema aigua/Cremophor EL:Polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 mitjançant el mètode de preparació E (addicions successives d'aigua a 70°C a relacions oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades). Les dispersions són nano-emulsions perquè estan situades en la regió multifàsica M del diagrama de fases i a més la seva formació depenent del mètode de preparació. La regió de nano-emulsions trobada en el sistema s'estén des de la relació 1/99 fins la relació 30/70 oli/tensioactiu i es forma a partir del 25% de contingut en aigua aproximadament tal i com s'observa en la Figura 4.35.

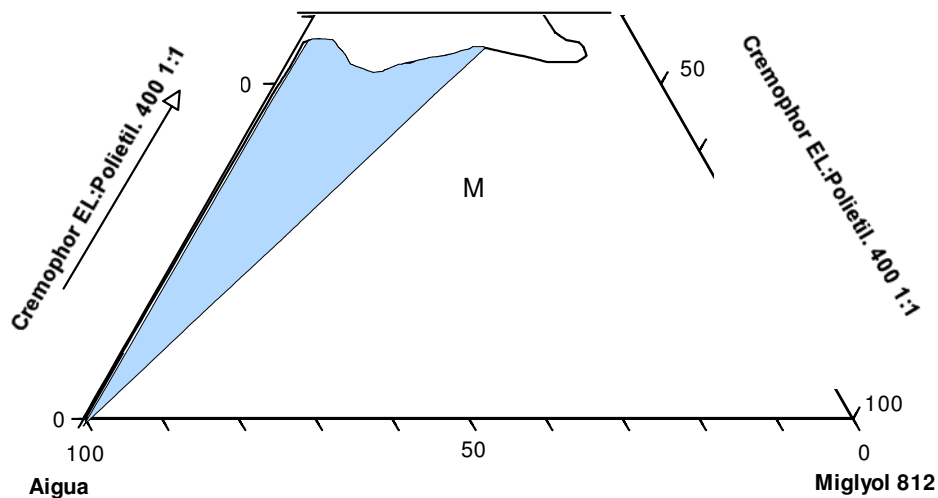


Figura 4.35. Regió de nano-emulsions formada mitjançant el mètode d'emulsificació E (addicions successives d'aigua a mescles oli/tensioactiu a 70°C) en el sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812.

4.2.6.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

En la Taula 4.31 es mostren els resultats obtinguts mitjançant DLS. El diàmetre de gota augmenta en funció de la relació oli/tensioactiu des de 23 fins a 61 nm per a relacions oli/tensioactiu 10/90 i 30/70 respectivament. Els índexs de polidispersitat són inferiors a 0,2 en tots els casos.

Taula 4.31. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 preparades pel mètode E.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	22,9	0,185
	20/80	33,8	0,145
	30/70	61,1	0,135

4.2.6.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.6.4.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat cinètica a 25°C de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 preparades segons el mètode E mitjançant mesures del diàmetre de gota de les dispersions per DLS en funció del temps. En la Figura 4.36 es representen els resultats obtinguts per nano-emulsions de diferents relacions O/T i un 90% d'aigua.

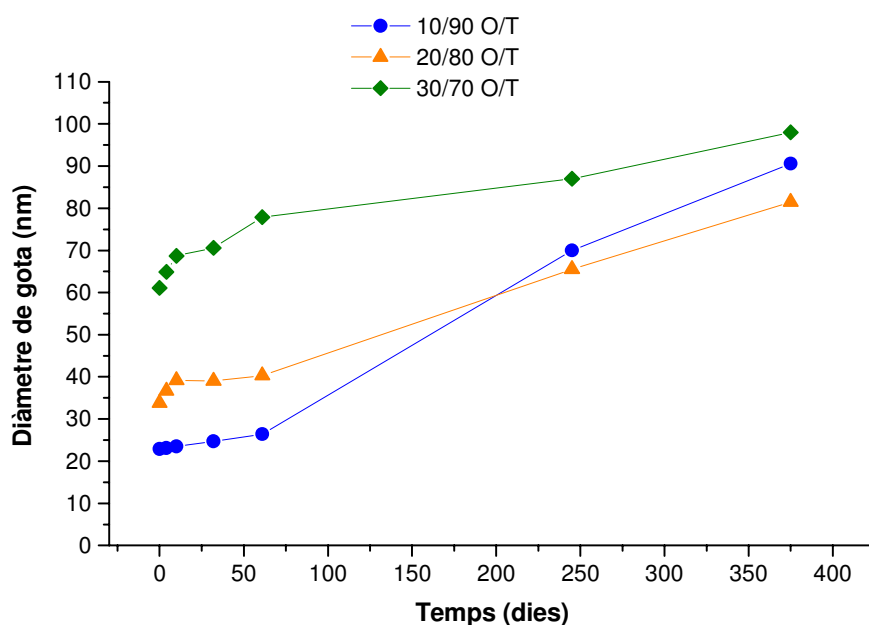


Figura 4.36. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 amb un 90% de contingut en aigua preparades pel mètode E en funció del temps, a 25°C.

Tant el diàmetre de gota com els índexs de polidispersitat obtinguts (Taula 4.32) augmenten en funció del temps per totes les nano-emulsions estudiades. No obstant, no es sobrepassen els 98nm de mida de gota durant el temps d'estudi experimental que ha estat de 375 dies.

Taula 4.32. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT (25°C)	
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
10/90	0	22,9	0,185
	4	23,1	0,132
	10	23,5	0,139
	32	24,7	0,175
	61	26,4	0,236
	245	70,0	0,728
	375	90,6	0,840
20/80	0	33,8	0,145
	4	36,7	0,162
	10	39,2	0,157
	32	39	0,187
	61	40,3	0,210
	245	65,5	0,321
	375	81,5	0,412
30/70 ¹	0	61,1	0,135
	4	64,9	0,0813
	10	68,7	0,109
	32	70,6	0,134
	61	77,9	0,0925
	245	87,0	0,139
	375	98,0	0,0733

¹ La mesura per DLS de la composició s'ha realitzat diluint 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua, degut a que la mostra presentava un aspecte translúcid.

A partir del dia 245 els índexs de polidispersitat obtinguts en les nano-emulsions amb relacions 10/90 i 20/80 O/T són molt elevats. En canvi els valors obtinguts per la nano-emulsió amb una relació O/T 30/70 diluint la mostra en aigua són inferiors a 0,2.

4.2.6.4.2. Estabilitat accelerada

Cicles d'escalfament-refredament

En el sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 també es va estudiar l'estabilitat accelerada de nano-emulsions sotmetent les mostres a un determinat nombre de cicles d'escalfament-refredament de la mateixa manera com s'ha realitzat en els sistemes descrits anteriorment. Les mostres sotmeses a estudi han estat les mateixes que s'han caracteritzat

en l'apartat 4.2.6.3 és a dir les relacions O/T 10/90, 20/80 i 30/70 amb un 90% de contingut en aigua. Les dispersions es van preparar mesclant els components.

Les mostres es van sotmetre a 10 cicles 'llargs' i 20 cicles 'curts' de 25 i -18°C. La descripció de les diferents fases observades després del primer cicle i altres així com la seva proporció en relació al total de la composició es resumeixen en la taula següent.

Taula 4.33. Tipus de fases observades mitjançant l'execució de cicles escalfament-refredament, 25°C ↔ -18°C, en composicions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812.

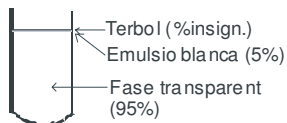
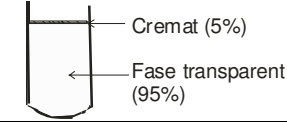
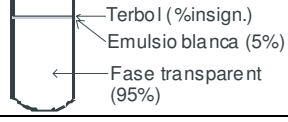
Nombre cicles llargs (25↔-18°C)	10/90 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 90% A	30 / 70 O/T, 90% A
1	Cremat (%insignificant). Dispersió translúcida-blava.	Dispersió blanca fluida.	Cremat (%insignificant). Dispersió blanca fluida.
3	Cremat (%insignificant). Dispersió translúcida-blava.	Cremat (%insignificant). Dispersió blanca fluida.	Cremat (5%). Dispersió blanca fluida (95%).
6	Sense modificació.	Cremat (%insignificant). Dispersió blanca fluida. Inf., translúcid (%insignificant).	Cremat (5%). Dispersió blanca fluida (95%). Inf., translúcid (%insignificant).
10	Sense modificació.	Sense modificació.	Sense modificació.
Nombre cicles curts (25↔-18°C)	10/90 O/T, 90 % A	20 / 80 O/T, 90% A	30 / 70 O/T, 90% A
20	Cremat (5%). Dispersió translúcida-blava (95%).	Sense modificació.	Cremat (5%). Dispersió blanca fluida (90%). Inf., translúcid (5%).

Després dels cicles realitzats no s'aconsegueix separar les mostres completament sinó que s'obté una dispersió translúcida (relació 10/90 O/T) o blanca (relacions 20/80 i 30/70 O/T) majoritària i un cremat en la part superior.

Ultracentrifugació

L'estudi de l'estabilitat accelerada de les nano-emulsions del sistema mitjançant ultracentrifugació es va realitzar en les mateixes composicions que l'assaig anterior i també es van preparar mesclant els components. Les mostres es van ultracentrifugar durant 25 hores a 25°C i a una velocitat de 20000rpm. La descripció de les fases observades després de l'assaig es mostra en la Taula 4.34.

Taula. 4.34 Tipus de fases observades mitjançant l'ultracentrifugació de mostres del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 a 20000rpm i 25°C, després de 25,5h.

COMPOSICIÓ		OBSERVACIONS
Relació O/T	%Aigua	
10/90	90	
20/80	90	
30/70	90	

No s'arriben a separar completament les mostres després d'ultracentrifugar. Tot i així la separació és millor que mitjançant cicles d'escalfament-refredament. S'obté en totes les mostres una fase inferior majoritària que és transparent i un petit cremat.

Els resultats obtinguts semblen indicar que l'equilibri de fases de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:polietilenglicol 400 1:1/Miglyol 812 està format per una fase majoritària de microemulsió o solució micel·lar directa i un excés de component oliós.

4.2.7. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /SOLUTOL HS15/MIGLYOL 812

4.2.7.1. COMPORTAMENT FÀSIC DEL SISTEMA AIGUA/SOLUTOL HS15/MIGLYOL 812 A 25°C

El diagrama de fases del sistema a 25°C es mostra en la Figura 4.37.

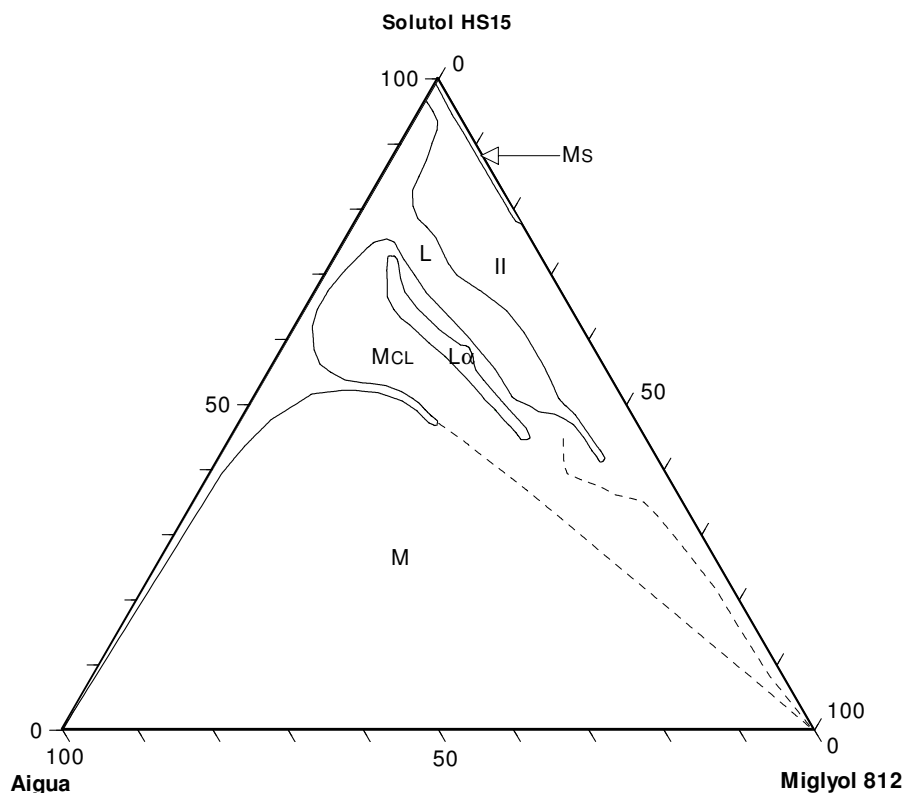


Figura 4.37. Diagrama de fases del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812, a 25°C. M_S : regió multifàsica amb fase sòlida present (equilibri no determinat); II: dues fases líquides isotropes; L: fase líquida isotropa (solució micel·lar o microemulsió); L_α : fase líquida anisotropa (fase de cristall líquid laminar); M_{CL} : regió multifàsica amb cristall líquid present (equilibri no determinat); M: regió multifàsica (equilibri no determinat).

Considerant els sistemes binaris aigua/tensioactiu i component oliós/tensioactiu:

- El tensioactiu és soluble en l'aigua fins la relació 3/97 A/T. A partir d'aquesta relació s'ha identificat una regió de dues fases líquides

isotropes que arriba fins pràcticament el vèrtex del tensioactiu on es troba una regió amb fase cristal·lina.

- El tensioactiu i el component oliós són immiscibles. Des del vèrtex del Solutol HS15 fins la relació 22/78 O/T es troba una regió multifàsica amb fase cristal·lina i a partir d'aquesta fins al vèrtex del Miglyol 812 s'ha identificat una regió de dues fases líquides isotropes.

Respecte el sistema ternari aigua/Solutol HS 15/Miglyol 812 s'han identificat dues regions monofàsiques i tres regions multifàsiques. Les regions monofàsiques són les següents:

- La regió L correspon a una fase isotropa i transparent de solucions micel·lars i microemulsions que s'estén al llarg de l'eix aigua/tensioactiu des de la relació 3/97 A/T fins al vèrtex de l'aigua. Aquesta regió solubilitza percentatges d'oli elevats fins al 51% en relacions aigua/tensioactiu baixes.
- L_{α} és una estreta regió anisotropa i lleugerament tòrbola que correspon a estructures de cristall líquid laminar i que s'estén des de la relació 10/90 fins la relació 46/54 O/T en un rang limitat de concentració d'aigua del 16 al 22%.

Les regions multifàsiques identificades són:

- II és una regió de dues fases líquides que s'estén al llarg de l'eix component oliós/tensioactiu limitant amb la petita regió multifàsica amb cristall sòlid. Aquesta regió s'estreny a mesura que augmenta la relació oli/tensioactiu.
- M_{CL} és una regió multifàsica amb cristall líquid laminar present.
- M que ocupa una gran part del diagrama de fases és una regió multifàsica.

4.2.7.2. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

En el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 s'han format dispersions transparents o transparents blavoses corresponents a nano-emulsions mitjançant el mètode de preparació E.

Com s'observa en la Figura 4.38 les dispersions corresponen a composicions estan situades a la regió multifàsica M del diagrama de fases. La seva formació depèn del mètode de preparació. La regió de nano-emulsions s'estén des de relacions oli/tensioactiu petites fins la relació 40/60 O/T i conté un mínim del 28% de contingut en aigua aproximadament.

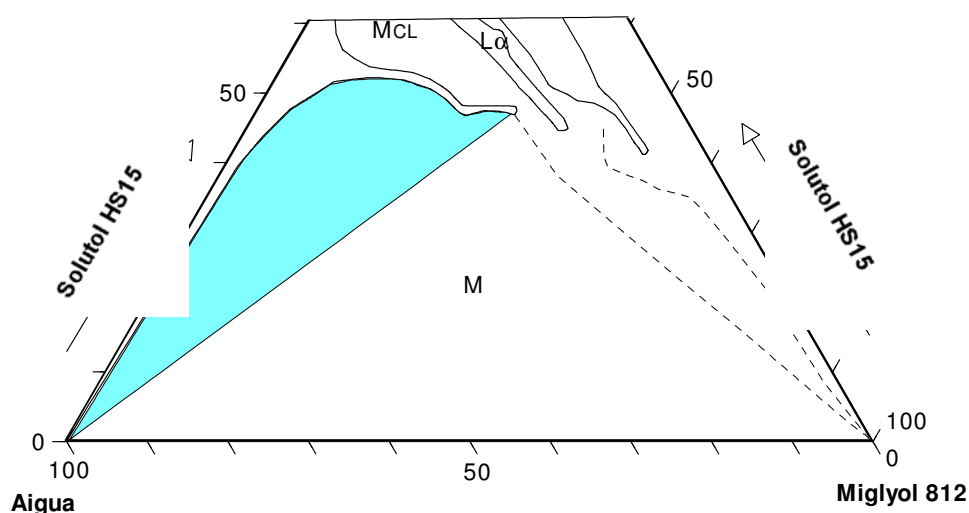


Figura 4.38. Regió de nano-emulsions formada mitjançant l'emulsificació pel mètode E (addicions successives d'aigua a relacions O/T a 70°C) en el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812.

Cal destacar l'extensa regió de formació de nano-emulsions obtinguda en el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812.

4.2.7.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'ha mesurat la mida de gota mitjançant DLS en funció de la relació component oliós/tensioactiu de nano-emulsions amb un contingut en aigua del 90 i del 95%. Els resultats es mostren en la Figura 4.39.

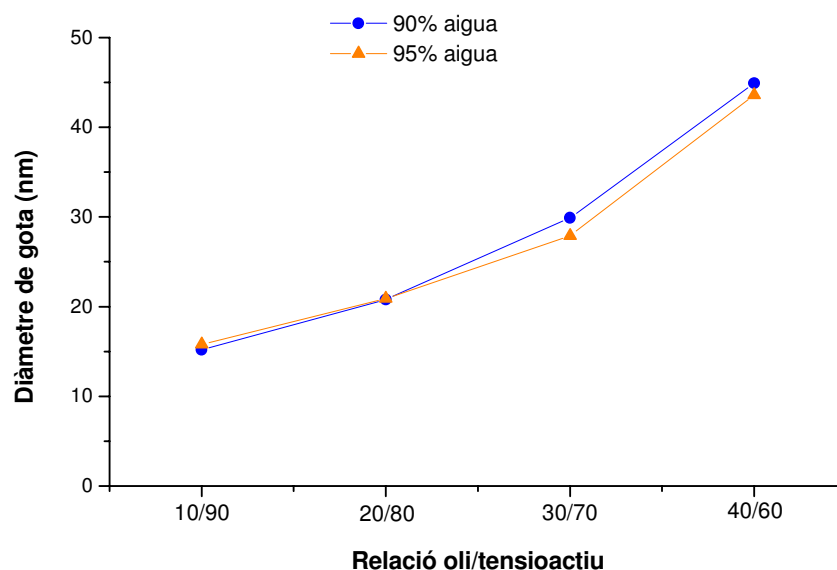


Figura 4.39. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb 90 i 95% de contingut en aigua preparades mitjançant el mètode E en funció de la relació O/T, a 25°C.

Com s'observa en la Figura 4.39 □ la mida de gota augmenta en funció de la relació oli/tensioactiu □ des de 15 □ fins a 45nm per a relacions 10/90 i 40/60 O/T □ respectivament □ en aquelles nano-emulsions amb un 90% d'aigua □ i des de 16 fins a 43 □ nm per a relacions 10/90 i 40/60 O/T □ respectivament □ en nano-emulsions amb un 95% d'aigua. No hi ha diferències significatives en la mida de gota de nano-emulsions amb un 90 i un 95% d'aigua. Per tant □ la dilució de nano-emulsions no influeix en la mida de gota.

En la Taula 4.35 es mostren els diàmetres de gota de les nano-emulsions estudiades □ juntament amb els índexs de polidispersitat obtinguts per a cada mesura □ els quals augmenten en augmentar el contingut en oli.

Taula 4.35. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 preparades pel mètode E.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	15,2	0,109
	20/80	20,8	0,128
	30/70	29,9	0,137
	40/60	44,9	0,213
95	10/90	15,8	0,017
	20/80	20,9	0,071
	30/70	27,9	0,085
	40/60	43,6	0,188

Les mides de gota de les nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 són similars a les obtingudes en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812. Jumaa i Muller també van trobar mides de gota similars per nano-emulsions dels sistemes solució aquosa de glicerina al 25%/Cremophor EL/ Miglyol 812:oli de ricí 1:1 ó solució aquosa de glicerina al 25%/SolutolHS15/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 als voltants dels 150nm. No obstant la mida de gota de les nano-emulsions obtingudes en aquest treball és molt superior a la mida de gota de les nano-emulsions obtingudes en la present tesi doctoral. Cal destacar que els mètodes de formació de les nano-emulsions de la bibliografia van ser mètodes d'alta energia (homogeneïtzació per ultraturrax i posteriorment l'homogeneïtzació mitjançant alta pressió) (Jumaa 1998b).

4.2.7.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.7.4.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat cinètica a 25°C de nano-emulsions amb diferents relacions O/T i amb un 90 i un 95% d'aigua preparades pel mètode de nano-emulsificació E mitjançant determinacions de la mida de gota per DLS en funció del temps. Els resultats es mostren en la Figura 4.40.

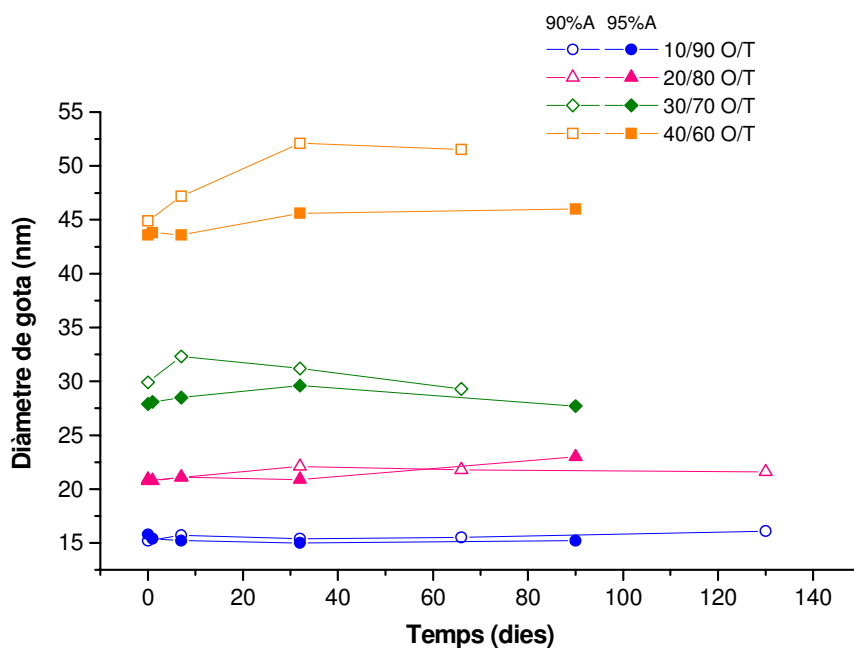


Figura 4.40. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% de contingut en aigua en funció de la relació O/T, a 25°C.

Les nano-emulsions d'aquest sistema presenten una elevada estabilitat cinètica en el temps d'estudi experimental que ha estat de 130 dies per a les nano-emulsions amb un 90% d'aigua i de 90 dies per aquelles amb un 95% d'aigua. La mida de gota així com l'índex de polidispersitat en les composicions estudiades tant amb un 90 com amb 95% de contingut en aigua augmenten poc en funció del temps (Taula 4.39). Les nano-emulsions amb un 95% d'aigua presenten uns índexs de polidispersitat més baixos en general que les nano-emulsions amb un 90% d'aigua. Cal destacar l'elevada estabilitat cinètica del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 durant el temps d'estudi experimental (2 a 4 mesos). Aquesta és comparable a l'estabilitat cinètica obtinguda pels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 i aigua/Cremophor EL/oli de ricí durant un temps d'estudi experimental superior a un any.

Taula 4.39. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions amb diferent relació O/T i un 90i 95% d'aigua.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT (25°C)		
%Aigua	Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
90	10/90	0	15,2	0,109
		7	15,7	0,068
		32	15,4	0,108
		66	15,5	0,08
		130	16,1	0,110
	20/80	0	20,8	0,128
		7	21,1	0,129
		32	22,1	0,146
		66	21,8	0,177
		130	21,6	0,211
	30/70	0	29,9	0,137
		7	32,3	0,154
		32	31,2	0,164
		66	29,3	0,194
		130	47,8	0,536
	40/60	0	44,9	0,213
		7	47,2	0,224
		32	52,1	0,199
		66	51,5	0,238
	95	10/90	0	15,8
1			15,4	0,023
7			15,2	0,025
32			15	0,053
90			15,2	0,042
20/80		0	20,9	0,071
		1	20,8	0,088
		7	21,1	0,076
		32	20,9	0,072
		90	23	0,281
30/70		0	27,9	0,084
		1	28,1	0,079
		7	28,5	0,083
		32	29,6	0,097
		90	27,7	0,125
40/60		0	43,6	0,188
		1	43,8	0,187
		7	43,6	0,199
		32	45,6	0,196
		90	46	0,225

4.2.8. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN ELS SISTEMES AIGUA/SOLUTOL HS15/MIGLYOL 812:OLI DE SOJA (1:1 i 0:1)

4.2.8.1. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

S'han format nano-emulsions en els sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1 i aigua/Solutol HS15/oli de soja mitjançant la preparació pel mètode E□addicions successives d'aigua a 70°C a mescles oli/tensioactiu prèviament homogeneïtzades.

Per al sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1 s'han obtingut nano-emulsions fins la relació O/T 30/70□mentre que en el sistema amb oli de soja com a únic component oliós s'obtenen nano-emulsions en una relació O/T més petita□20/80.

4.2.8.2. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS

Com s'observa en la Taula 4.40□s'han obtingut nano-emulsions de mida de gota de 16 a gairebé 37nm per a relacions 10/90 i 30/70 O/T□respectivament□en el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1. En el sistema aigua/Solutol HS15/oli de soja□les mides de gota de les nano-emulsions són de 17 a 27nm per a relacions 10/90 i 20/80 O/T□respectivament. El diàmetre de gota és lleugerament més gran en les nano-emulsions del sistema amb oli de soja com a únic component oliós. Com en tots els sistemes estudiats□els índex de polidispersitat de les mesures de la mida de gota de les nano-emulsions augmenten a mesura que augmenta el contingut en oli.

Taula 4.40. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions dels sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

COMPOSICIÓ			Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
Relació Miglyol: oli de soja	%A	Relació O/T		
1:1	90	10/90	16,1	0,088
		20/80	22,9	0,155
		30/70	36,7	0,246
0:1	90	10/90	17,0	0,157
		20/80	27,0	0,212

La incorporació d'oli de soja al sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 augmenta lleugerament la mida de gota de les nano-emulsions. Els resultats són comparables amb els efectes produïts per la incorporació d'oli de ricí al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

4.2.8.3. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS

4.2.8.3.1. Estabilitat a 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat cinètica de nano-emulsions dels sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja mitjançant la determinació de la mida de gota per DLS en funció del temps a 25°C. En les Figures 4.41 i 4.42 es mostren els resultats per composicions de diferent relació O/T i un 90% d'aigua.

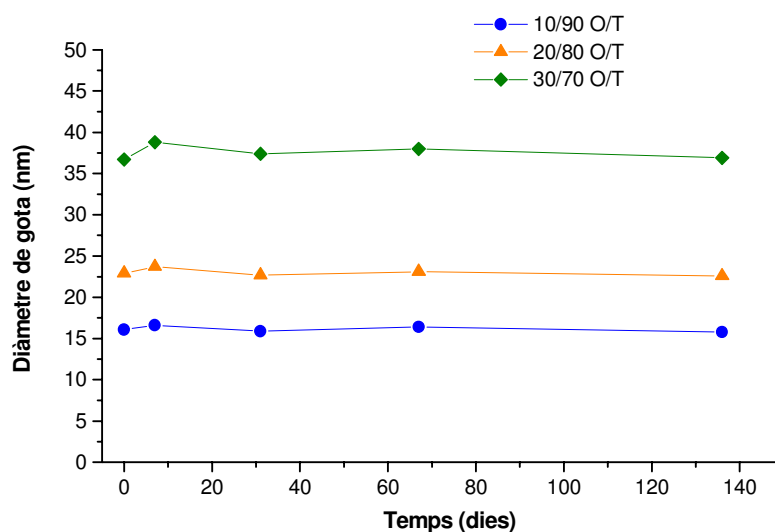


Figura 4.41. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1 amb un 90% de contingut en aigua en funció de la relació O/T, a 25°C.

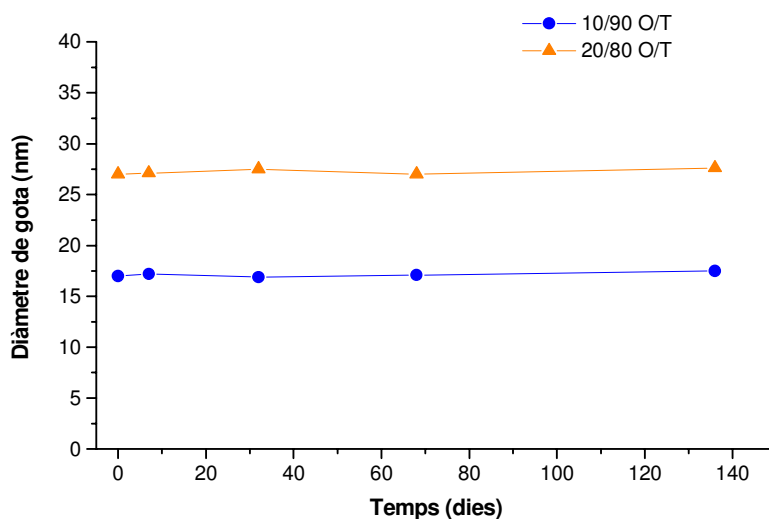


Figura 4.42. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/oli de soja amb un 90% de contingut en aigua en funció de la relació O/T, a 25°C.

Les nano-emulsions dels sistemes han mostrat tenir una elevada estabilitat cinètica en el temps d'estudi experimental que ha estat de 4 mesos i mig. En la Taula 4.41 on s'indiquen els diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts en cada mesura s'observa com la mida de les dispersions es manté gairebé constant en totes les composicions mentre que els índexs de polidispersitat augmenten lleugerament en funció del temps. Això pot ser degut a que tot i que la mida de gota promig es mantingui constant la seva distribució varii. Els índexs de polidispersitat són superiors a 0,2 quan les relacions O/T són elevades per ambdós sistemes.

L'estabilitat cinètica de les nano-emulsions dels sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1 i 0:1 és molt elevada. La incorporació de l'oli de soja al sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 no afecta a l'estabilitat cinètica de les nano-emulsions sent igualment molt elevada durant el temps d'estudi experimental.

Taula 4.41. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions dels sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua en funció del temps.

Sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1			
COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (25°C)		
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
10/90	0	16,1	0,088
	7	16,6	0,122
	31	15,9	0,132
	67	16,4	0,137
	136	15,8	0,1
20/80	0	22,9	0,155
	7	23,7	0,171
	31	22,7	0,166
	67	23,1	0,184
	136	22,6	0,188
30/70	0	36,7	0,246
	7	38,8	0,208
	31	37,4	0,254
	67	38,0	0,259
	136	36,9	0,262

Sistema aigua/Solutol HS15/oli de soja			
COMPOSICIÓ	ESTABILITAT (25°C)		
Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
10/90	0	17,0	0,157
	7	17,2	0,182
	32	16,9	0,171
	68	17,1	0,156
	135	17,5	0,185
20/80	0	27,0	0,212
	7	27,1	0,241
	32	27,5	0,216
	68	27,0	0,227
	135	27,6	0,235

Les nano-emulsions de mida de gota més petita s'han obtingut en els sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 en els quals s'han identificat regions de cristall líquid laminar a 25°C. Les nano-emulsions amb una major estabilitat cinètica s'han obtingut en els sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:0 i 1:1 i 0:1 i en els sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 i 0:1. En aquests

dos últims sistemes□els estudis d'estabilitat cinètica es van prolongar durant més d'un any. En els sistemes que donen lloc a les nano-emulsions amb una major estabilitat cinètica també s'han identificat regions de cristall líquid laminar (exceptuant els sistemes aigua/Solutol HS15/Miglyol 812:oli de soja 1:1 i 0:1□en els que no s'ha va estudiar el comportament fàsic).

4.3. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS MITJANÇANT LA COMBINACIÓ DE MÈTODES DE BAIXA I D'ALTA ENERGIA

Tal com s'ha descrit anteriorment emprant mètodes de baixa energia es van obtenir nano-emulsions en els sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb mida de gota petita i una elevada estabilitat cinètica. Es va intentar reduir la quantitat d'aquests tensioactius mitjançant la incorporació d'un segon tensioactiu biocompatible i adequat per ser administrat per via parenteral una lecitina de soja d'elevada puresa (Epikuron 200).

4.3.1. ESTUDIS PRELIMINARS

En primer lloc es va incorporar Epikuron 200 al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812. es va emulsionar mitjançant el mateix procediment utilitzat per la formació de nano-emulsions per mètodes de baixa energia addicionant aigua de manera successiva a 50°C a mesclades Miglyol 812/Cremophor EL:Epikuron 200 1:1 prèviament homogeneïtzades. No es va emulsionar a temperatures superiors perquè l'Epikuron 200 a partir dels 60°C sofreix la reacció de Maillard produint-se tant l'oxidació l'enfosquiment com la descomposició del producte (apartat 3.1.1.2). La mescla dels tensioactius no s'homogeneïtzava bé a 50°C i per això es va estudiar la solubilitat d'Epikuron 200 amb diversos cotensioactius sent el Transcutol P (èter monoetílic de dietilenglicol purificat) amb el que va presentar una solubilitat més elevada.

4.3.1.1. SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL:EPIKURON 200:TRANSCUTOL P 2:1:0,5/MIGLYOL 812

El sistema seleccionat va ser aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P /Miglyol 812. En aquest la proporció entre components tensioactius Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P va ser 2:1:0,5 perquè mantenint aquesta relació la mescla tensioactiva era monofàsica. El mètode d'emulsificació va ser com en sistemes anteriors l'addició successiva d'aigua a 50°C mitjançant un agitador tipus vòrtex a mesclades oli/tensioactiu

prèviament mesclades a 50°C. Es van emulsionar composicions de diferent relació oli/tensioactiu (des de 10/90 fins 70/30) i amb un contingut del 90% d'aigua. Es va observar l'aspecte de les dispersions un cop acabades de formar (correspon a dia 0 en la Taula 4.42) així com els canvis que es van anar produint en el temps fins un total de 50 dies per a les relacions O/T entre 10/90 i 50/50 i fins a 20 dies per a les relacions O/T 60/40 i 70/30. Els resultats obtinguts es mostren en la Taula 4.42.

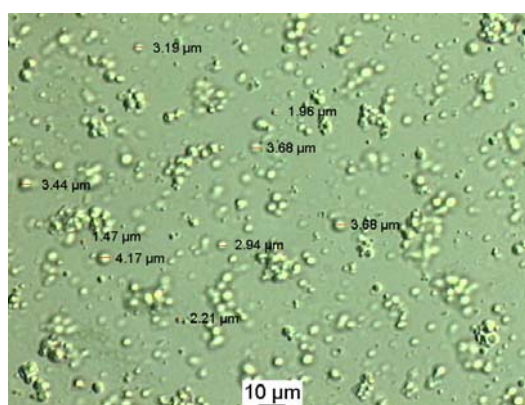
Taula 4.42. Formació de dispersions i estabilitat en funció del temps de composicions amb diferent relació O/T del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812.

COMPOSICIÓ		DIES	OBSERVACIONS (a 25°C)
%A	Relació O/T		
90	10/90	0	Dispersió translúcida, líquida
		1er	Dispersió translúcida líquida amb sediment blanc (10%)
		50è	Sense modificació.
	20/80	0	Dispersió translúcida, líquida
		2on	Dispersió translúcida líquida amb sediment blanc (5%)
		50è	Sense modificació.
	30/70	0	Dispersió translúcida, líquida
		2on	Dispersió translúcida líquida amb sediment blanc (5%)
		50è	Sense modificació
	40/60	0	Dispersió transparent-blavosa, líquida
		7è	Dispersió transparent-blavosa amb sediment blanc insignificant
		30è	Dispersió transparent-blavosa amb cremat i sediment blanc insignificant
		50è	Sense modificació
	50/50	0	Dispersió transparent-blavosa, líquida
		5è	Dispersió transparent-blavosa amb sediment blanc insignificant
		30è	Dispersió transparent-blavosa amb cremat i sediment blanc insignificant
		50è	Sense modificació
	60/40	0	Dispersió opaca, líquida
		2on	Dispersió opaca amb cremat (8%)/fase inferior translúcida insignificant
		20è	Dispersió opaca amb cremat (10%)/fase inferior translúcida insignificant
70/30	0	Dispersió opaca, líquida	
	2on	Dispersió opaca amb cremat (2%)/fase inferior translúcida insignificant	
	20è	Dispersió opaca amb cremat (5%)/fase inferior translúcida (2%)	

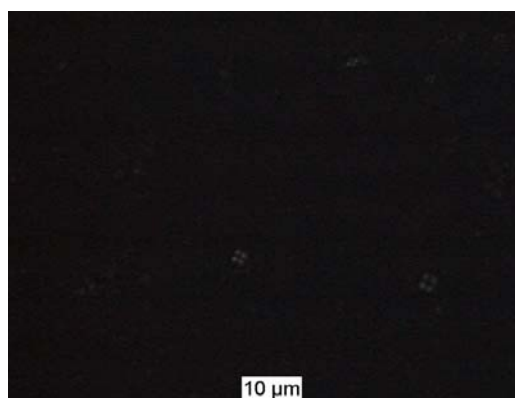
Es van formar dispersions translúcides o transparents-blavoses en aquelles composicions amb relacions 10/90 fins a 50/50 O/T (en blau). Per a relacions oli/tensioactiu superiors a les dispersions presentaven un aspecte opac. Les dispersions translúcides o transparents van sedimentar després de pocs dies de preparar-se (d'un a set dies, depenent de la composició) i algunes van presentar un cremat a partir d'un mes d'observació. Les dispersions d'aspecte opac, enlloc de sedimentar van separar-se a partir del segon de dia de la seva formació en una fase d'aspecte translúcid (en gris).

Caracterització de les dispersions mitjançant microscopia òptica

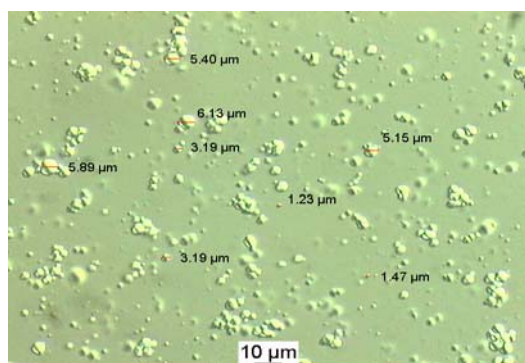
Es van caracteritzar les dispersions amb relacions O/T 20/80, 30/70 i 40/60 i amb un contingut del 90% en aigua mitjançant microscopia òptica. Les imatges observades es mostren en la Figura 4.43.



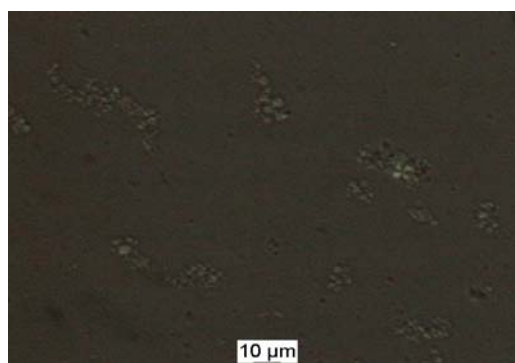
(a)



(b)



(c)



(d)

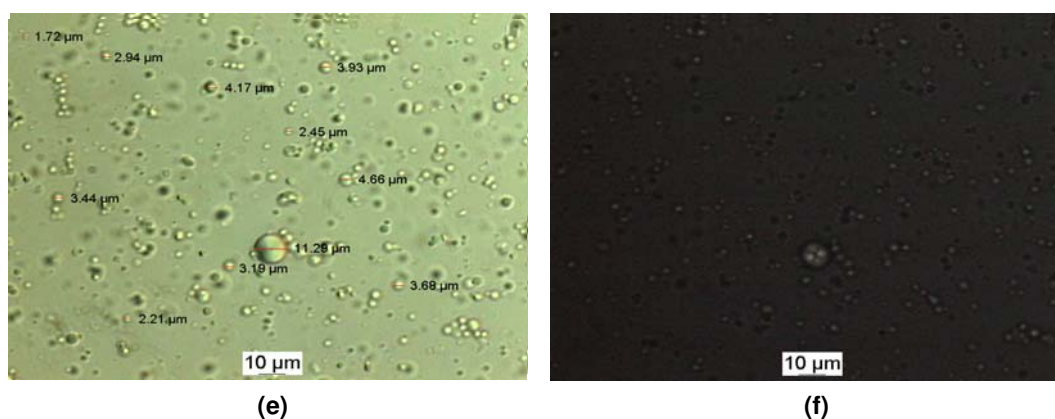


Figura 4,43. Imatges observades en microscopi òptic a través de llum normal (a), (c) i (e) i polaritzada de composicions (b), (d) i (f) i amb relacions O/T 20/80 (a) i (b), 30/70 (c) i (d) i 40/60 (e) i (f) 90% d'aigua del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812.

En la Figura 4.43 s'observa per a totes les composicions estudiades una mescla de dispersions de gotes juntament amb la presència de gotes amb anisotropia amb llum polaritzada probablement deguda a estructures de cristall líquid laminar (creus de malta observades amb les imatges a través de llum polaritzada). Les mostres observades són força polidisperses de l'ordre de micres fins mides de gota més petites (menors a una micra).

Es va observar també per microscopia òptica el sediment format en les composicions amb relacions O/T 20/80 i 30/70 i 40/60 i amb un contingut del 90% en aigua. Les imatges captades per microscopia òptica a través de llum polaritzada es mostren en la Figura 4.44. Les observacions van permetre identificar creus de malta (vesícules) de diferents mides (des de l'ordre de micres fins mides menors).

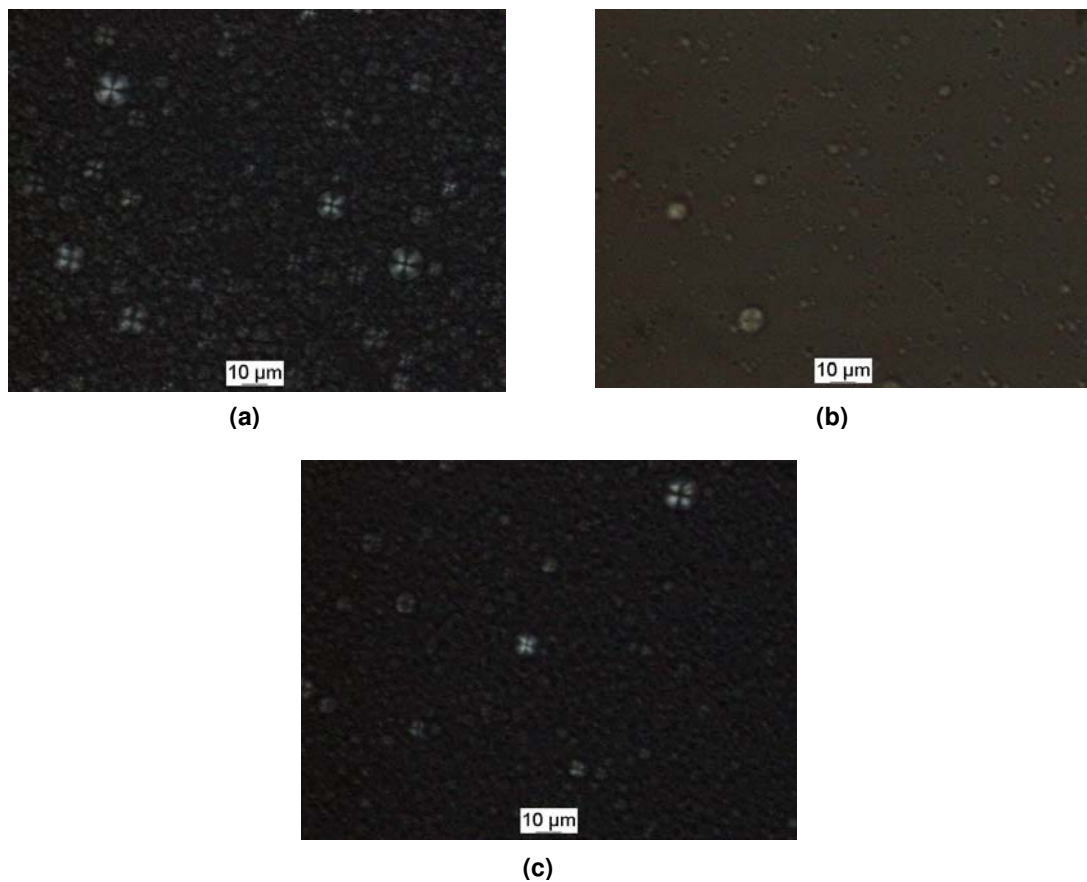


Figura 4.44. Imatges observades en microscopi òptic a través de llum polaritzada del sediment de les composicions amb relacions O/T 20/80 **(a)**, 30/70 **(b)** i 40/60 **(c)** i amb un contingut del 90% en aigua del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812.

Per tal d'obtenir gotes amb mida més petita i monodisperses (per tal d'evitar el sediment de les mostres) es van formar les dispersions combinant un mètode de baixa energia amb un mètode d'alta energia com l'ús d'un homogeneïtzador d'elevada pressió en el sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812.

Formació de nano-emulsions mitjançant mètodes de baixa i d'alta energia

En una primera etapa es van formar dispersions addicionant aigua a 50°C a mesclures oli/tensioactiu mitjançant un vòrtex. Seguidament la dispersió formada es va homogeneïtzar mitjançant un Microfluidizer (homogeneïtzador

d'alta pressió). La pressió de procés utilitzada va ser de 5000 psi i cada mostra va recircular pel Microfluidizer un total de 8 cicles.

Les composicions estudiades i l'aspecte de les dispersions un cop formades i després d'un temps en observació en un bany termostatitzat a 25°C així com la mida de gota i índex de polidispersitat obtinguts mitjançant DLS es mostren a la següent taula. El contingut en aigua per a totes les composicions va ser del 90%.

Taula 4.43. Descripció macroscòpica, estabilitat, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812. Condicions de treball del Microfluidizer: **5000psi** de pressió, **8 cicles** de recirculació.

COMPOSICIÓ		CARACTERITZACIÓ		
Relació O/T	Dies	OBSERVACIONS (25°C)	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
20/80	0	Dispersió transparent-blava, líquida	30,5	0,433
	14è	Dispersió transparent-blava, líquida	32,1	0,441
30/70	0	Dispersió transparent-blava, líquida	31,9	0,318
	12è	Dispersió transparent-blava, líquida, amb sediment blanc insignificant	33,0	0,406
40/60	0	Dispersió transparent-blava, líquida	31,9	0,307
	10è	Dispersió transparent-blava líquida amb sediment blanc insignificant	31,4	0,365
50/50	0	Dispersió transparent-blava, líquida	39,6	0,336
	10è	Dispersió transparent-blava líquida amb sediment blanc insignificant	38,0	0,426

Com s'observa a la Taula 4.43 i totes les dispersions formades tenen un aspecte transparent-blavós. Després d'un determinat nombre de dies (de 7 a 12 dies i dependent de la composició) apareix un sediment blanc però insignificant. Es van obtenir mides de gota de 30 a 40nm per aquelles dispersions amb relacions O/T de 20/80 a 50/50 i respectivament. Tot i obtenir un diàmetre mig de gota petit i els índexs de polidispersitat van ser elevats i entre 0,30 i 0,46. En el temps d'observació (de 10 a 14 dies i dependent de la mostra) el diàmetre de gota de les dispersions gairebé no

varia mentre que els índexs de polidispersitat augmenten en funció del temps. Això pot atribuir-se a que tot i que la mida de gota promig es mantigui constant la seva distribució varii.

Per tal de disminuir la polidispersitat de les mostres es van variar les condicions de treball del Microfluidizer utilitzant una pressió de procés de 10000 psi i 8 cicles de recirculació de les mostres. Com a estudi preliminar la composició estudiada tenia una relació O/T 30/70 i un 90% de contingut en aigua. L'aspecte de les dispersions un cop formades i després d'un temps en observació en un bany termostatitzat a 25°C així com la mida de gota i índex de polidispersitat es mostren en la següent taula.

Taula 4.44. Descripció macroscòpica, estabilitat, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi** de pressió, **8 cicles** de recirculació.

COMPOSICIÓ		OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
Relació O/T	Dies		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
30/70	0	Dispersió transparent-blava, líquida	20,1	0,12
	1er	Sense modificació	19,8	0,13
	10è	Sense modificació	18,5	0,16

El diàmetre de gota obtingut després de formar-se va ser de 20 nm i l'índex de polidispersitat de 0,12. Aquests valors són més petits que els obtinguts anteriorment per la mateixa composició (31,9 nm i P:0,32). Així doncs es va considerar aquest mètode com el més adequat per a preparar nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812.

4.3.2. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /CREMOPHOR EL : EPIKURON 200 : TRANSCUTOL P 2:1:0,5/MIGLYOL 812

A continuació es va procedir a realitzar un estudi sistemàtic sobre la formació de nano-emulsions en el sistema aigua / Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5 / Miglyol 812 combinant els mètodes de baixa i alta energia variant la pressió de procés de l'homogeneïtzador d'alta pressió el

nombre de cicles i la temperatura d'emulsificació per tal d'optimitzar el mètode de formació.

4.3.2.1. INFLUÈNCIA DEL MÈTODE DE PREPARACIÓ (ADDICIÓ D'AIGUA I TIPUS D'AGITACIÓ)

Es van formar nano-emulsions en el sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0.5/Miglyol 812 mitjançant tres mètodes que s'han anomenat Mètode 1, Mètode 2 i Mètode 3. El Mètode 1 consisteix en afegir la quantitat total d'aigua a 50°C en una sola addició a mescles O/T prèviament homogeneïtzades a 50°C mitjançant un agitador tipus vòrtex. Posteriorment la dispersió s'homogeneïtza mitjançant el Microfluidizer amb unes condicions de treball determinades (pressió de procés de 10000psi i 8 cicles). El Mètode 2 consisteix en addicions successives d'aigua a 50°C a mescles O/T prèviament homogeneïtzades també a 50°C mitjançant un agitador tipus vòrtex. Després com en el Mètode 1 la dispersió es homogeneïtzada mitjançant el Microfluidizer amb les mateixes condicions de treball que el mètode anterior. El Mètode 3 consisteix també en l'addició d'aigua a 50°C de manera successiva a mescles O/T homogeneïtzades prèviament a 50°C mitjançant un agitador estàndard amb vareta de pala. Posteriorment la dispersió s'homogeneïtza amb el Microfluidizer seguint les mateixes condicions de treball. Un cop acabat el procés d'emulsificació les mostres es van emmagatzemar en tubs d'assaig sota atmosfera de nitrogen i protegides de la llum i es van dipositar en un bany termostatitzat a 25°C. La Taula 4.45 resumeix els tres mètodes utilitzats.

Taula 4.45. Descripció dels **Mètodes 1, 2 i 3** utilitzats en la formació de nano-emulsions en el sistema aigua / Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5 / Miglyol 812

MÈTODE	1ª ETAPA		2ª ETAPA	TEMPERATURA (°C)	
	Addició d'aigua	Tipus agitació d'aigua	Tipus homogeneïtzació	Formació	Emmagatzemament
1	Tota a la vegada	Vòrtex	Microfluidizer (10000psi, 8 cicles)	50	25
2	Successiva	Vòrtex	Microfluidizer (10000psi, 8 cicles)	50	25
3	Successiva	Agitador estàndard de pala	Microfluidizer (10000psi, 8 cicles)	50	25

Es van estudiar composicions amb diferent relació O/T□ de la 20/80 a la 70/30□ i un mateix contingut en aigua□ el 90%. La descripció macroscòpica del tipus de dispersió formada així com el diàmetre de les gotes de la dispersió i l'índex de polidispersitat obtinguts mitjançant DLS a 25°C□ acabada de formar es mostren a la Taula 4.46.

Taula 4.46. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pels Mètodes 1, 2 i 3.

MÈTODE 1			
COMPOSICIÓ Relació O/T	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
20/80	Dispersió transparent-blava, líquida	23,4	0,283
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	33,3	0,555
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	31,1	0,343
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	36,0	0,232
60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	55,0	0,167
70/30	Dispersió opaca, líquida	–	–
MÈTODE 2			
COMPOSICIÓ Relació O/T	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
20/80	Dispersió transparent-blava, líquida	27,3	0,303
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	18,6	0,055
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	21,8	0,255
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	36,9	0,225
60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	51,1	0,120
70/30	Dispersió opaca, líquida	–	–
MÈTODE 3			
COMPOSICIÓ Relació O/T	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	21,8	0,226
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	31,6	0,287
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	37,1	0,255
60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	60,5	0,170
70/30	Dispersió opaca, líquida	–	–

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

Tal com s'indica a la Taula 4.46 s'han obtingut dispersions transparents-blavoses líquides mitjançant tots tres mètodes de preparació (Mètode 1 □ 2 i

3) fins a la relació 50/50 O/T. La composició amb una relació O/T 60/40 presenta un aspecte translúcid-blau mentre que per relacions O/T superiors les dispersions són opaques. L'aspecte macroscòpic de les dispersions és independent del mètode de preparació. Això no passa amb la mida de gota i l'índex de polidispersitat obtingut. Les dispersions amb un diàmetre de gota i un índex de polidispersitat més petits són les obtingudes mitjançant el Mètode 2 és a dir addicionant aigua de manera successiva a mescles O/T amb l'ajut d'un agitador de tipus vòrtex mentre en una segona etapa s'homogeneïtza la dispersió mitjançant el Microfluidizer (10000psi 8cicles). Les dispersions preparades pels mètodes 1 i 3 no presenten diferències significatives pel que fa a l'aspecte macroscòpic i la mida de gota exceptuant la composició amb la relació O/T més petita (30/70). En canvi els índexs de polidispersitat obtinguts són més petits amb el mètode 3 que amb el mètode 1.

L'emulsificació amb l'agitador mecànic estàndard amb vareta de pala és menys efectiva que el vòrtex alhora d'homogeneïtzar les fases viscoses que es formen durant l'addició d'aigua a la mescla O/T.

Les transicions de fases produïdes durant l'emulsificació per baixa energia sembla ser un factor clau en la formació de nano-emulsions de mida petita i uniforme.

En la Figura 4.45 s'ha representat el diàmetre de gota de les dispersions obtingudes en funció de la relació O/T pels diferents mètodes de formació per tal d'evidenciar la diferència entre mides de gota.

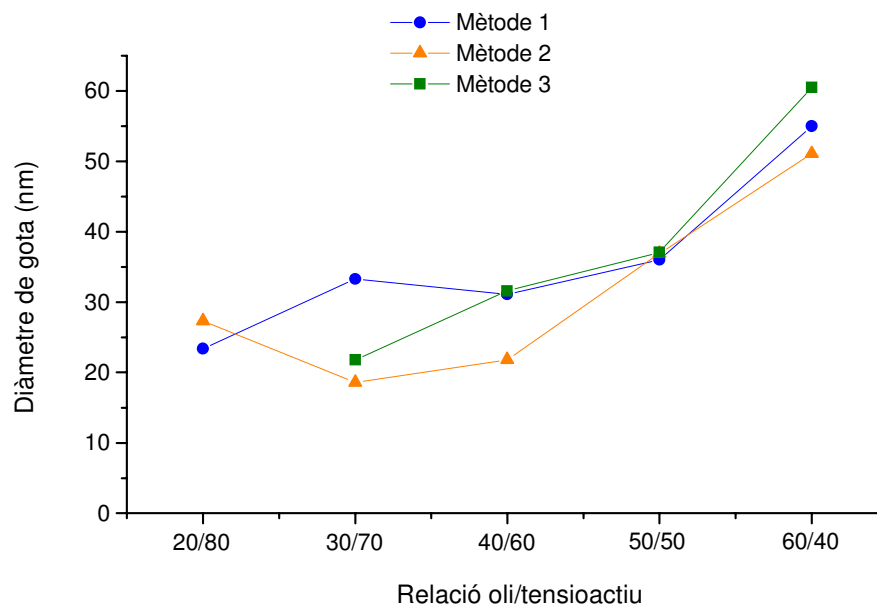


Figura 4.45. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 amb un 90% de contingut en aigua formades per diferents mètodes (**Mètode 1, 2 i 3**) en funció de la relació O/T, a 25°C.

Les mides de gota obtingudes per nano-emulsions estabilitzades amb un fosfolípid i un tensioactiu no iònic (Cremophor EL) i un cotensioactiu (Transcutol P) formades mitjançant la combinació d'un mètode de baixa energia i un mètode d'elevada energia són més petites en comparació amb els valors de mida de gota trobats en la bibliografia emprant mètodes d'alta energia amb sistemes tensioactius similars (encara que les quantitats de tensioactiu i component oliós són diferents).

Trotta et al. han obtingut nano-emulsions mitjançant mètodes d'elevada energia i l'ultraturax (8000rpm durant 5min.) o l'homogeneitzador d'alta pressió (6 cicles i 2900psi) amb una mida de gota de 150 a 325nm. Les nano-emulsions contenen un 88% d'aigua i un 2% d'una mescla de tensioactius (Epikuron 200 i fosfolípids modificats) i un 10% de triglicèrids de cadena mitja (Trotta 2001).

Lundberg et al. van estudiar la formació de nano-emulsions en el sistema solució aquosa de glicerina al 2%/fosfatidilcolina d'ou purificada:Tween 80/oli de ricí (la mescla tensioactiva i el component oliós estan en una

proporció 0,4:0,2:1,6 respectivament) mitjançant la incorporació d'un dissolvent i l'ús d'ultrasons. El dissolvent és posteriorment evaporat. Les nano-emulsions obtingudes tenien una mida de gota de 50nm (Lundberg 1994).

Kan et al. han estudiat la formació de nano-emulsions en sistemes aigua/tensioactiu no iònic:fosfatidilcolina d'ou/triglicèrids de cadena mitja mitjançant la dissolució de la mescla tensioactiva i el component oliós en hexà. Un cop addicionada l'aigua la dispersió es va sonicar durant 30min. I es va evaporar l'hexà. Per al sistema amb Cremophor EL com a tensioactiu no iònic es van obtenir nano-emulsions amb mida de gota de 160nm que correspon a la composició amb 40mL de solució aquosa de glicerina al 2,25% 0,4g de fosfatidilcolina 0,3g de Cremophor EL i 1mL d'oli (Kan 1999).

4.3.2.2. INFLUÈNCIA DEL NOMBRE DE CICLES DE RECIRCULACIÓ DE LA MOSTRA DURANT L'HOMOGENEÏZACIÓ AMB EL MICROFLUIDIZER

Per tal d'estudiar la influència del nombre de cicles en la formació i la mida de gota de nano-emulsions es van preparar composicions de diferent relació O/T i un 90% de contingut en aigua mitjançant el Mètode 1 i 2 i utilitzant un nombre diferent de cicles de recirculació de mostres. D'aquesta manera també es van poder comparar els diferents mètodes de preparació en la formació de nano-emulsions. Durant l'homogeneïtzació a elevada pressió es va utilitzar una pressió de 10000psi i diferent nombre de cicles de recirculació (2 i 4). Els resultats obtinguts es mostren en les Taules 4.47 i 4.48.

Taula 4.47. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 1** i el **Mètode 2**. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi** de pressió, **4 cicles** de recirculació.

COMPOSICIÓ		CARACTERITZACIÓ			
Relació O/T	OBSERVACIONS (25°C)	Mètode 1		Mètode 2	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp.	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp.
20/80	Dispersió transparent-blava, líquida	26,0	0,423	28,5	0,317
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	43,4	0,521	20,0	0,186
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	59,2	0,513	26,4	0,189
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	41,2	0,321	42,0	0,306
60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	60,6	0,171	62,3	0,182
70/30	Dispersió opaca, líquida	–	–	–	–

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

Quan el nombre de cicles és de 4 (Taula 4.47) es formen dispersions transparents-blaves líquides per ambdós mètodes de preparació en composicions amb relacions O/T 20/80–50/50. Per a la relació 60/40 O/T les dispersions tenen aspecte translúcid-blau mentre que per relacions O/T més elevades es formen dispersions opaques. Aquests resultats són comparables amb els obtinguts mitjançant 8 cicles de recirculació de mostra durant l'homogeneïtzació a elevada pressió. Preparant les dispersions mitjançant el mètode 2 les mides de gota són més petites per a les relacions O/T 30/70 i 40/60 que si es preparen amb el mètode 1. Per la resta de relacions no hi ha diferències significatives en la mida de gota. Els índexs de polidispersitat obtinguts són més petits quan les dispersions estan preparades pel mètode 2.

Taula 4.48. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pels **Mètodes 1 i 2**. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi** de pressió, **2 cicles** de recirculació.

MÈTODE 1			
COMPOSICIÓ	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
Relació O/T		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
30/70	Dispersió translúcida-blava, líquida	66,8	0,691
40/60	Dispersió translúcida-blava, líquida	89,9	0,423
50/50	Dispersió translúcida-blava, líquida	74,5 ¹	0,258 ¹
60/40 ¹	Dispersió opaca, líquida	71,9 ²	0,211 ²
70/30 ²	Dispersió opaca, líquida	–	–
MÈTODE 2			
COMPOSICIÓ	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
Relació O/T		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	20,0	0,185
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	27,4	0,230
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	36,8	0,271
60/40 ¹	Dispersió opaca, líquida	78,4	0,200
70/30 ²	Dispersió opaca, líquida	–	–

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

² La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 1 gota de mostra en 4ml d'aigua.

Quan el nombre de cicles és de 2 (Taula 4.48) s'observen variacions en l'aspecte macroscòpic de les mostres en preparar-les pels diferents mètodes. Mitjançant la preparació pel mètode 1 es van obtenir dispersions translúcides-blaves des de la composició amb una relació O/T 30/70 fins la relació O/T 50/50. En canvi per a les mateixes composicions s'han obtingut dispersions d'aspecte transparent-blau en preparar-les pel mètode 2. Per relacions O/T superiors s'han obtingut dispersions opaques per ambdós mètodes de preparació. Tant els diàmetres de gota obtinguts com els índexs de polidispersitat són més petits mitjançant la preparació de dispersions pel mètode 2 que pel mètode 1.

Amb la finalitat de comparar les mides de gota de les dispersions obtingudes pels dos mètodes de preparació i amb diferents nombres de cicles de recirculació (2, 4 i 8 cicles) s'han representat els resultats en la Figura 4.46.

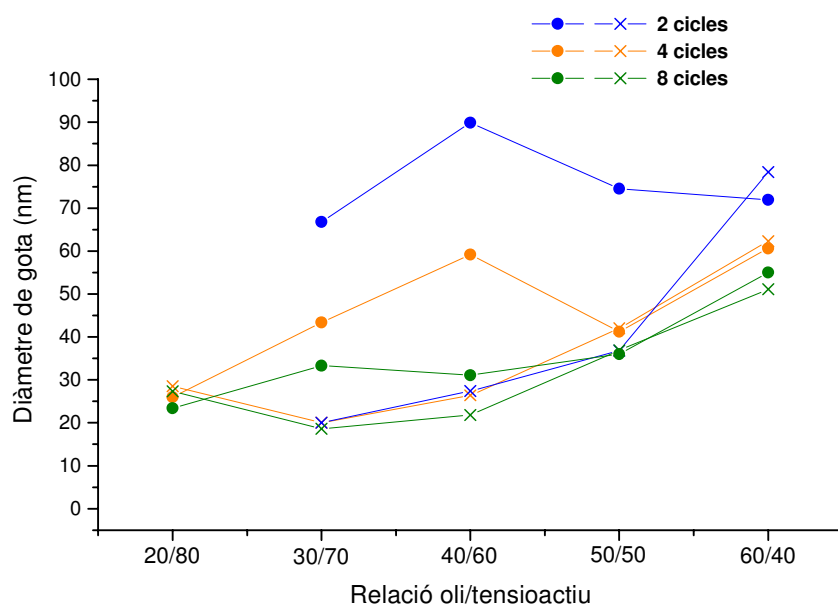


Figura 4.46. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 amb un 90% de contingut en aigua formades per diferents mètodes: (-•-) **Mètode 1**; (-x-) **Mètode 2** i homogeneïtzades durant **2, 4 i 8 cicles**.

En la Figura 4.46 s'observa com independentment del nombre de cicles de recirculació de la mostra les mides de gota de les dispersions són molt similars quan són preparades segons el mètode 2 exceptuant la composició amb la relació O/T més elevada. En canvi quan les nano-emulsions es preparen segons el mètode 1 el nombre de cicles sí que influeix en la mida de gota sent més petita quan el nombre és 8. Les mides de gota més grans s'obtenen quan el nombre és 2. No obstant les mostres preparades pel mètode 1 presenten una polidispersitat elevada tal com s'observa en les Taules 4.47 i 4.48 la qual cosa podria explicar que la variació del diàmetre de gota en funció de la relació O/T (sobretot amb 2 i 4 cicles de recirculació) no sigui lineal.

La mida de gota de les nano-emulsions preparades pel mètode 1 és pròxima o inclús similar a la de les nano-emulsions preparades pel mètode 2

quan el nombre de cicles és 8 i per algunes relacions O/T (20/80 i 50/50 i la 60/40) quan és de 4.

4.3.2.3. INFLUÈNCIA DE LA PRESSIÓ DE PROCÉS DURANT L'HOMOGENEÏTZACIÓ

Per tal d'estudiar la influència en la pressió de treball durant l'homogeneïtzació amb el Microfluidizer es van preparar nano-emulsions amb diferent relació O/T i un 90% d'aigua mitjançant el mètode 2 i amb unes condicions de treball durant l'homogeneïtzació determinades. Aquestes van ser: 5000 i 15000psi de pressió i un nombre diferent de cicles de recirculació de la mostra (8 i 6). L'aspecte macroscòpic i així com el diàmetre de gota i l'índex de polidispersitat obtinguts es mostren en la Taula 4.49.

Taula 4.49. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2**. Condicions de treball del Microfluidizer: **5000, 10000 i 15000 psi** de pressió, **8 i 6 cicles** de recirculació.

Pressió: 5000 psi					
COMPOSICIÓ	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ			
Relació O/T		8 Cicles		6 Cicles	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	30,2	0,381	28,2	0,298
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	39,1	0,404	48,7	0,445
50/50 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	51,2	0,333	54,5	0,278

Pressió: 10000 psi					
COMPOSICIÓ	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ			
Relació O/T		8 Cicles		6 Cicles	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	27,3	0,303	23,3	0,211
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	18,6	0,0546	25,2	0,220
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	21,8	0,255	39,7	0,314

Pressió: 15000 psi					
COMPOSICIÓ	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ			
Relació O/T		8 Cicles		6 Cicles	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
30/70	Dispersió transparent-blava, líquida	22,5	0,242	32,1	0,399
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	27,1	0,241	29,8	0,277
50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	36,5	0,276	37,4	0,283

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

 Resultats presentats en l'apartat 4.3.2.1.

S'han format nano-emulsions transparents o translúcides-blaves en les composicions estudiades mitjançant les tres condicions de treball del Microfluidizer estudiades tant a 5000-10000 com a 15000psi i a 6 i 8 cicles de recirculació de la mostra. Les nano-emulsions amb una mida de gota més petita s'han obtingut mitjançant la homogeneïtzació a 10000psi (Taula 4.49 i Figura 4.47). Les mides de gota més grans s'han obtingut en aquelles dispersions homogeneïtzades a 5000psi. Com ja s'havia vist en l'apartat anterior en augmentar el nombre de cicles de recirculació de la mostra la mida de gota disminueix.

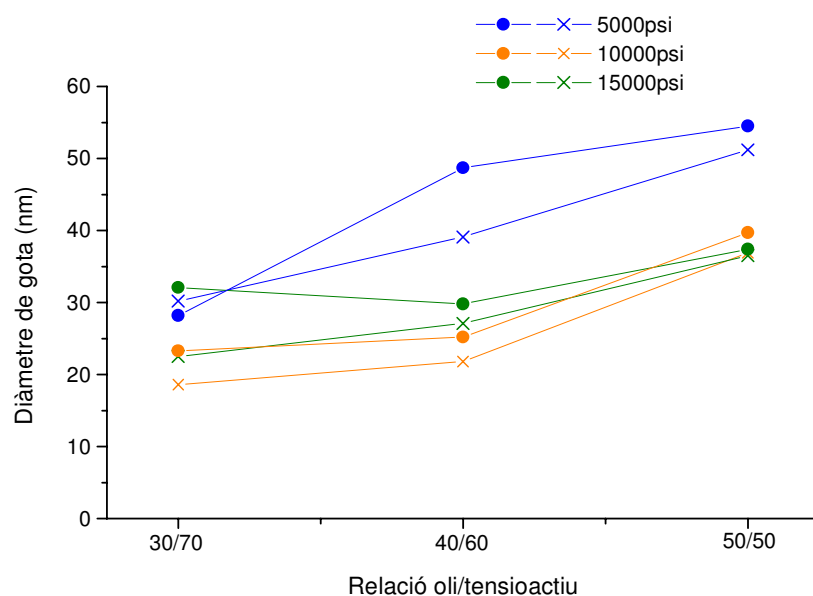


Figura 4.47. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 amb un 90% de contingut en aigua formades pel **Mètode 2** a diferents condicions de treball del Microfluidizer: a (-•-) **6 cicles** i (-x-) **8 cicles** de recirculació de la mostra i a **5000**, **10000** i **15000psi** de pressió.

Jumaa i Müller han estudiat la formació de nano-emulsions mitjançant mètodes d'alta energia (ultraturrax i homogeneïtzador d'alta pressió) en el sistema sol. aquosa de glicerina/lecitina de soja/oli de ricí:triglicèrids de cadena mitjana 1:1. Els autors van observar que les condicions òptimes d'ús de l'homogeneïtzador d'alta pressió aquelles en que es van obtenir mides de gota més petites i homogènies van ser de 8 cicles i una pressió de procés de 5000psi. Amb aquests condicions la mida de gota obtinguda per la composició amb 15% de tensioactiu i un 30% de component oliós va ser de 135 a 145nm (Jumaa 1998) molt superior a les obtingudes en el present treball.




4.3.2.4. INFLUÈNCIA DE LA TEMPERATURA EN LA FORMACIÓ

Per tal d'estudiar la influència de la temperatura durant el procés d'homogeneïtzació es van formar dispersions mitjançant el Mètode 2 però variant la temperatura durant l'homogeneïtzació. L'assaig es va realitzar per a una mateixa composició (relació O/T 40/60 i 90% d'aigua).

Es van realitzar dos assaigs amb les següents condicions de treball durant l'homogeneïtzació. En el primer es va utilitzar una pressió de 10000psi i 8 cicles de recirculació de la mostra a 45°C de temperatura. En el segon assaig es va mantenir la mateixa pressió i el mateix nombre de cicles però es va desconnectar el bany termostàtic del Microfluidizer (la temperatura de treball mesurada en aquestes condicions va ser de 37°C). La descripció macroscòpica del tipus de dispersions formades així com el diàmetre de les gotes i l'índex de polidispersitat mesurats mitjançant DLS a 25°C acabades de formar es mostren en la Taula 4.50. Els resultats es comparen amb els obtinguts quan es forma la dispersió a 50°C (apartat 4.3.2.1.)

Taula 4.50. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2**. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi** de pressió, **8 cicles** de recirculació.

COMPOSICIÓ Relació O/T	OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ	
		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	21.8	0.255
	Dispersió transparent-blava, líquida	27.9	0.194
	Dispersió transparent-blava, líquida	29.0	0.298

	50°C (resultats presentats en l'apartat 4.3.2.1.)
	45°C
	37°C

Com s'observa en la Taula 4.50 s'han format nano-emulsions transparents-blavoses a les tres temperatures. A mesura que augmenta la temperatura de preparació de les dispersions la mida de gota disminueix des de 29nm (obtinguda a 37°C) fins a 22nm (obtinguda a 50°C).

4.3.2.5. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS A 25°C

Es va estudiar l'estabilitat a 25°C de nano-emulsions del sistema aigua/ Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0.5)/Miglyol 812 en funció del temps. L'experiment es va realitzar en aquelles nano-emulsions formades mitjançant el Mètode 2 però amb diferents pressions i nombre de cicles de recirculació per tal d'estudiar la influència de l'homogeneïtzació en l'estabilitat.

Els resultats dels estudis d'estabilitat a 25°C de nano-emulsions preparades segons les condicions de treball del Microfluidizer que proporcionen mides de gota i índexs de polidispersitat més baixos (10000 psi de pressió i 8 cicles de recirculació) es mostren en la Taula 4.51.

Taula 4.51. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2** amb diferent relació O/T i 90% d'aigua. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi i 8 cicles**.

COMPOSICIÓ		Dies	OBSERVACIONS (25°C)	ESTABILITAT CINÈTICA (25°C)	
%Aigua	Relació O/T			10000 psi/8 cicles	
				Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
90	20/80	0	Dispersió transparent-blava, líquida	21,3	0,303
		8	Sense modificació	20,4	0,240
		30	Sense modificació	20,8	0,218
		136	Sediment blanc insignificant	21,0	0,257
	30/70	0	Dispersió transparent-blava, líquida	18,6	0,055
		7	Sense modificació	18,3	0,076
		28	Sense modificació	18,9	0,073
		67	Sense modificació	18,8	0,083
		180	Sediment blanc insignificant	20,9	0,106
		376	Sense modificació	20,8	0,108
	40/60	0	Dispersió transparent-blava, líquida	21,8	0,255
		8	Sense modificació	20,9	0,249
		30	Sense modificació	39,5	0,241
		141	Sediment blanc insignificant	20,5	0,195
		390	Sediment blanc (3%)	53,4	0,544
	50/50	0	Dispersió transparent-blava, líquida	36,9	0,225
		17	Sense modificació	41,2	0,233
		38	Sense modificació	38,0	0,186
		150	Sediment blanc insignificant	46,5	0,193
	60/40 ¹	0	Dispersió translúcida-blava, líquida	51,1	0,120
8		Sense modificació	52,3	0,101	
32		Sense modificació	52,8	0,125	
153		Sediment blanc insignificant	58,6	0,120	

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

En general les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812 tenen una estabilitat cinètica molt

elevada en el temps d'estudi experimental que ha estat de 4 mesos i mig i en alguns casos de més d'un any. La composició amb la relació O/T 30/70 presenta la mida de gota i l'índex de polidispersitat més petits durant el temps d'estudi experimental (376 dies) de 186 nm i 0,055 (temps=0) a 208 nm i 0,108 nm (temps=376) respectivament en comparació amb la resta de composicions. L'índex de polidispersitat de les mostres tendeix a ser pràcticament constant en funció del temps.

El mateix experiment es va realitzar en nano-emulsions del sistema aigua / Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 formades mitjançant el Mètode 2 amb una pressió de 10000 psi i 4 cicles de recirculació de la mostra. Els resultats es mostren en la Taula 4.52.

Taula 4.52. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2** amb diferent relació O/T i 90% d'aigua. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000psi** i **4 cicles**.

COMPOSICIÓ		Dies	OBSERVACIONS (25°C)	ESTABILITAT CINÈTICA (25°C)	
%Aigua	Relació O/T			10000 psi/4 cicles	
				Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
90	20/80	0	Dispersió transparent-blava, líquida	20,5	0,317
		9	Sense modificació	20,9	0,281
		28	Sense modificació	19,5	0,285
		141	Sense modificació	19,6	0,269
	30/70	0	Dispersió transparent-blava, líquida	20,0	0,186
		8	Sense modificació	20,5	0,206
		30	Sense modificació	24,4	0,269
		139	Dispersió opaca, líquida	–	–
	40/60	0	Dispersió transparent-blava, líquida	26,4	0,189
		10	Sense modificació	29,2	0,184
		30	Sense modificació	30,8	0,191
		145	Dispersió translúcida-blava, líquida	67,4 ¹	0,189 ¹
	50/50	0	Dispersió transparent-blava, líquida	42,0	0,306
		17	Sense modificació	40,0	0,319
		38	Sense modificació	42,7	0,329
		137	Dispersió opaca, líquida	90,6 ²	0,220 ²
	60/40 ¹	0	Dispersió translúcida-blava, líquida	62,3	0,182
		8	Sense modificació	63,4	0,184
		32	Sediment blanc insignificant	60,0	0,100
		153	Dispersió opaca, líquida	98,9	0,170

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

² La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 1 gota de mostra en 4ml d'aigua.

La mida de gota de les nano-emulsions és pràcticament constant durant un mes d'estudi. Després de 4–5 mesos les nano-emulsions augmenten de

mida gota però sense superar els 100 nm. Durant aquest temps l'aspecte de les mostres també canvia tornant-se translúcides o bé opaques. La mida de gota es manté constant per la composició amb una relació O/T 20/80. Els índexs de polidispersitat tendeixen a mantenir-se constants o fins i tot disminuir en funció del temps.

L'estabilitat cinètica de nano-emulsions del sistema amb unes condicions de treball del Microfluidizer de 10000psi i 4 cicles de recirculació de la mostra és inferior en comparació amb la Taula anterior (10000 psi i 8 cicles de recirculació) sobretot per composicions amb relacions O/T elevades.

Finalment es va dur a terme un estudi similar per a nano-emulsions preparades també pel Mètode 2 però augmentant la pressió de procés del Microfluidizer a 15000 psi. El nombre de cicles va ser de 8. Els resultats es mostren en la Taula 4.53.

Taula 4.53. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5/Miglyol 812 preparades pel Mètode 2 amb diferent relació O/T i 90% d'aigua. Condicions de treball del Microfluidizer: **15000psi i 4 cicles.**

COMPOSICIÓ		Dies	OBSERVACIONS (25°C)	ESTABILITAT CINÈTICA (25°C)	
%Aigua	Relació O/T			15000 psi/8 cicles	
				Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
90	30/70	0	Dispersió transparent-blava, líquida	22,5	0,242
		10	Sense modificació	21,4	0,253
		29	Sense modificació	20,7	0,216
		116	Dispersió translúcida-blava, líquida, Sediment blanc insig,	66,4	0,351
	40/60	0	Dispersió transparent-blava, líquida	27,1	0,241
		10	Sense modificació	27,8	0,229
		30	Sense modificació	27,8	0,248
		118	Sense modificació	30,1	0,262
	50/50	0	Dispersió transparent-blava, líquida	36,5	0,276
		10	Sense modificació	37,3	0,273
		30	Sense modificació	39,0	0,298
		118	Sense modificació	42,5	0,323

Durant un temps d'estudi experimental de gairebé 4 mesos la mida de gota de les nano-emulsions del sistema augmenta lleugerament excepte en la composició amb una relació O/T més petita (30/70) on la mida de gota augmenta de 20 a 66 nm. Els índexs de polidispersitat també augmenten lleugerament en funció del temps.

L'estabilitat cinètica de les nano-emulsions és més elevada quan aquestes són preparades pel Mètode 2 i utilitzant una pressió de treball del Microfluidizer de 10000 psi i 8 cicles de recirculació de la mostra.

4.3.3. ESTUDI DE NANO-EMULSIONS EN EL SISTEMA AIGUA /SOLUTOL HS15 : EPIKURON 200 : TRANSCUTOL P 2:1:0.5/MIGLYOL 812

En l'apartat 4.2.7.2 es descriu la formació de nano-emulsions en el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 les quals s'obtenen des de relacions O/T petites fins la relació 40/60 O/T igual que en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812. Com s'ha mostrat en l'apartat 4.3.2 s'han obtingut dispersions de mida nanomètrica en addicionar lecitina de soja i Transcutol P en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb la combinació d'un mètode de baixa i d'alta energia. Per tal de comprovar si es podien obtenir el mateix tipus de dispersions es va estudiar la formació de nano-emulsions en el sistema aigua /Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0.5/Miglyol 812.

4.3.3.1. FORMACIÓ DE NANO-EMULSIONS

Es van formar nano-emulsions en el sistema mitjançant el mètode de preparació 2 i unes condicions d'homogeneïtzació determinades. Aquestes van ser: 8 cicles de recirculació de la mostra i diferents valors de pressió (10000 i 15000psi). Es van estudiar composicions amb diferents relacions O/T i amb un 90 i un 95% d'aigua. Els resultats obtinguts en quant a aspecte macroscòpic diàmetre de gota i índexs de polidispersitat es mostren a la Taula 4.54.

Taula 4.54. Descripció macroscòpica, diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2**. Condicions de treball del Microfluidizer: **8 cicles** de recirculació, pressió de **10000** i **15000psi**.

COMPOSICIÓ		OBSERVACIONS (25°C)	CARACTERITZACIÓ			
%Aigua	Relació O/T		10000psi		15000psi	
			Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp,
90	40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	26,0	0,098	28,3	0,167
	50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	35,2	0,178	36,0	0,197
	60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	42,5	0,206	51,4	0,144
95	40/60	Dispersió transparent-blava, líquida	27,7	0,097	29,0	0,187
	50/50	Dispersió transparent-blava, líquida	39,8	0,186	41,8	0,235
	60/40 ¹	Dispersió translúcida-blava, líquida	48,1	0,217	56,4	0,153

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

S'han obtingut dispersions d'aspecte transparent-blavós en les composicions amb una relació O/T 40/60 i 50/50 i translúcides-blaves per la relació 60/40 O/T independentment del contingut en aigua i del tipus de pressió utilitzada durant l'homogeneïtzació.

Pel que fa a la pressió utilitzada mitjançant l'homogeneïtzació a 10000psi s'obtenen nano-emulsions de mida de gota lleugerament més petita que amb una pressió de 15000psi. Aquests resultats coincideixen amb els obtinguts per al sistema aigua / Cremophor EL:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0,5 / Miglyol 812.

En general en augmentar el contingut en aigua incrementa lleugerament la mida de gota de les nano-emulsions.

En la Figura 4.48 es representa la mida de gota de les nano-emulsions en funció de la relació O/T per a les diferents condicions de treball utilitzades.

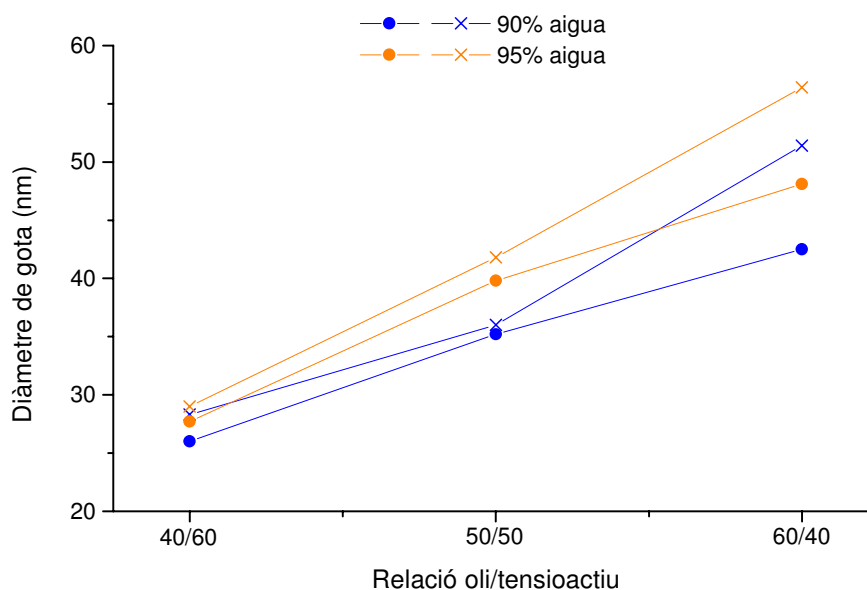


Figura 4.48. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua formades pel **Mètode 2** a diferents condicions de treball del Microfluidizer: a (-•-) **10000psi** i (-x-) **15000psi** de pressió i la mostra recircula durant 8 cicles.

Les mides de gota obtingudes combinant un mètode de baixa energia amb un mètode d'elevada energia en el sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 són bastant més petites en relació a valors de mida de gota extrets de la bibliografia per un sistema similar. Així Buszello et al. van estudiar la influència de la mida de gota de nano-emulsions en incorporar 15µmol/mL de Solutol HS15 al sistema aigua/Phospholipon® 80 (lecitina de soja)/àc. araquídic. L'emulsificació es va dur a terme mitjançant l'ultraturrax i un homogeneïtzador d'alta pressió (7 cicles 4300psi). La mida de gota promig obtinguda per la composició amb un 1,5% de lecitina de soja 15µmol/mL de Solutol HS15 i un 20% d'àcid araquídic després de ser esterilitzada per autoclau va ser de 450nm (Buszello 1999).

4.3.3.2. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS A 25°C

S'ha estudiat l'estabilitat de les nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel mètode 2 en funció del temps a 25°C i amb les condicions

d'homogeneïtzació utilitzades en l'apartat 4.3.3.1. (10000 i 15000 psi de pressió i 8 cicles de recirculació). El temps de durada de l'experiment ha estat de 2 mesos. Els resultats es mostren en la Taula 4.55.

Taula 4.55. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P (2:1:0,5)/Miglyol 812 preparades pel **Mètode 2** amb diferent relació O/T i 90 i 95% d'aigua. Condicions de treball del Microfluidizer: **10000 i 15000psi, 8 cicles.**

COMPOSICIÓ		Dies	ESTABILITAT CINÈTICA (25°C)			
%Aigua	Relació O/T		10000psi		15000psi	
			Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp.	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidisp.
90	40/60	0	26,0	0,098	28,3	0,167
		10	26,3	0,104	28,7	0,177
		48	27,0	0,119	28,5	0,198
		60	27,4	0,122	28,7	0,199
	50/50	0	35,2	0,178	36,0	0,197
		8	35,4	0,193	38,0	0,196
		49	36,8	0,183	39,2	0,191
		60	36,9	0,189	39,4	0,195
	60/40 ¹	0	55,7	0,121	57,4	0,144
		10	58,9	0,159	53,8	0,130
		48	54,9	0,113	56,0	0,128
		60	54,9	0,113	56,0	0,128
95	40/60	0	27,7	0,097	29,0	0,187
		7	27,4	0,118	31,1	0,194
		51	31,3	0,151	34,6	0,215
		60	32,5	0,153	35,1	0,217
	50/50	0	39,8	0,186	41,8	0,235
		8	40,4	0,184	43,6	0,237
		49	41,5	0,205	46,7	0,225
		60	42,1	0,210	47,4	0,232
	60/40 ¹	0	48,1	0,217	56,4	0,153
		10	56,9	0,109	56,3	0,134
		48	57,4	0,130	57,7	0,094
		60	58,1	0,139	58,1	0,112

¹ La mesura de la mida de gota d'aquesta dispersió ha estat realitzada diluint la mostra: 2 gotes de mostra en 4ml d'aigua.

Les nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15:Epikuron 200:Transcutol P 2:1:0.5/Miglyol 812 (preparades pel mètode 2) van presentar una elevada estabilitat durant un temps d'estudi de 2 mesos independentment de les condicions d'homogeneïtzació i de la concentració d'aigua. Durant l'estudi de l'estabilitat cinètica totes les mostres van mantenir el seu aspecte inicial i no va aparèixer cap sediment. El diàmetre de gota de les mostres augmenta lleugerament en funció del temps. Els índexs de polidispersitat obtinguts augmenten en funció del temps però en la majoria de mesures són inferiors a 0.2.

Jumaa et al. han posat de manifest mitjançant l'estudi de les propietats superficials de monocapes de fosfolípid després d'addicionar Solutol HS15 utilitzant una balança de Langmuir que el Solutol HS15 forma una pel·lícula mixta en la que les molècules de Solutol s'intercalen amb molècules de fosfolípid de manera que els autors prediuen una estabilització estèrica quan s'incorpora Solutol HS15 (Jumaa 1999). Aquests resultats explicarien l'elevada estabilitat cinètica de les nano-emulsions del sistema aigua /Solutol HS15 : Epikuron 200 : Transcutol P 2:1:0.5/Miglyol 812.

4.4. SOLUBILITZACIÓ DE PRINCIPIS ACTIUS EN NANO-EMULSIONS

Les nano-emulsions formulades en el present treball d'investigació amb excipients adequats per a l'administració per via cutània, oral o parenteral presenten aspecte transparent o translúcid, mida de gota petita i elevada estabilitat cinètica. Aquestes propietats els hi confereixen un gran interès com a possibles sistemes d'alliberació de principis actius. Per això es necessari estudiar la seva capacitat de solubilització de compostos insolubles o pràcticament insolubles en aigua degut a la natura de la fase interna de les dispersions. S'han escollit per aquest motiu dos principis actius pràcticament insolubles en aigua, la lidocaïna, anestèsic local, i el flurbiprofè, antiinflamatori no esteroïdic (Farmacopea europea, 2005), l'estructura dels quals es representa en la Figura 4.49.

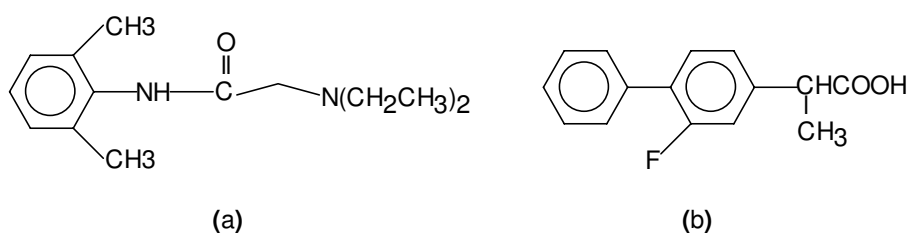


Figura 4.49. Estructura química dels principis actius lidocaïna (a) i flurbiprofè (b).

Ambdós principis actius tenen un pes molecular similar, 234 g/mol en el cas de la lidocaïna i 244 g/mol en el cas del flurbiprofè. El pKa de la lidocaïna és de 7,86 i el del flurbiprofè de 4,2.

4.4.1. ESTUDI DE LA SOLUBILITZACIÓ DE LIDOCAÏNA EN NANO-EMULSIONS O/W

4.4.1.1. ESTUDIS PRELIMINARS

Per estudiar la solubilització de lidocaïna es van escollir els sistemes en que es van formar nano-emulsions d'una mida de gota més petita i elevada estabilitat cinètica, els quals s'indiquen a la Taula 4.56:

Taula 4.56. Sistemes escollits per a l'estudi de la solubilització de la lidocaïna en nano-emulsions.

SISTEMES
Aigua/Cremophor EL/Miglyol 812
Aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1
Aigua/Cremophor EL/oli de ricí
Aigua/Solutol HS15/Miglyol 812

Es va estudiar en primer lloc la solubilitat de la lidocaïna en els excipients de les nano-emulsions a 25°C. Els resultats es mostren a la Taula 4.57:

Taula 4.57. Solubilitat de la lidocaïna en els excipients de les nano-emulsions emprats com a medi de solubilització, a 25°C.

EXCIPIENTS	QUANTITAT LIDOCAÏNA SOLUBILITZADA (%)
Aigua Milli-Q	0,4
Cremophor EL	24,7
Miglyol 812	30,5

4.4.1.2. SOLUBILITZACIÓ MÀXIMA DE LIDOCAÏNA EN NANO-EMULSIONS

Els estudis de solubilització màxima de lidocaïna en nano-emulsions es van realitzar mitjançant la incorporació del principi actiu a la mescla oli/tensioactiu abans de la formació de la nano-emulsió. La metodologia seguida es descriu en l'apartat 3.3.6.1. Degut a que la lidocaïna es degrada a 2,6-dimetilanilina i àcid N,N-dietilaminoacètic a partir de 80°C no es va utilitzar el mètode E per la formació de nano-emulsions contenint el principi actiu ja que la temperatura utilitzada en aquest mètode és de 70°C.

El mètode d'elecció per al sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 va ser el D. Aquest consisteix en l'incorporació de la quantitat total d'aigua a la mescla oli/tensioactiu d'una vegada a 50°C. El mètode C (addicions successives d'aigua a 50°C) es va descartar perquè la regió de formació de nano-emulsions per aquest mètode era més petita (fins la relació O/T 30/70) que l'obtinguda mitjançant el mètode E (Taula 4.12). La utilització del mètode B (addició d'aigua d'una sola vegada a 25°C) també es va desestimar

perquè el diàmetre de gota de les nano-emulsions és lleugerament més gran que si es preparen a 50°C.

La concentració màxima de lidocaïna solubilitzada a 25°C en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua en funció de la relació O/T es mostra a la Figura 4.50. A efectes comparatius s'ha determinat també la concentració màxima de lidocaïna solubilitzada en la relació O/T 0/100 que correspon a una solució micel·lar.

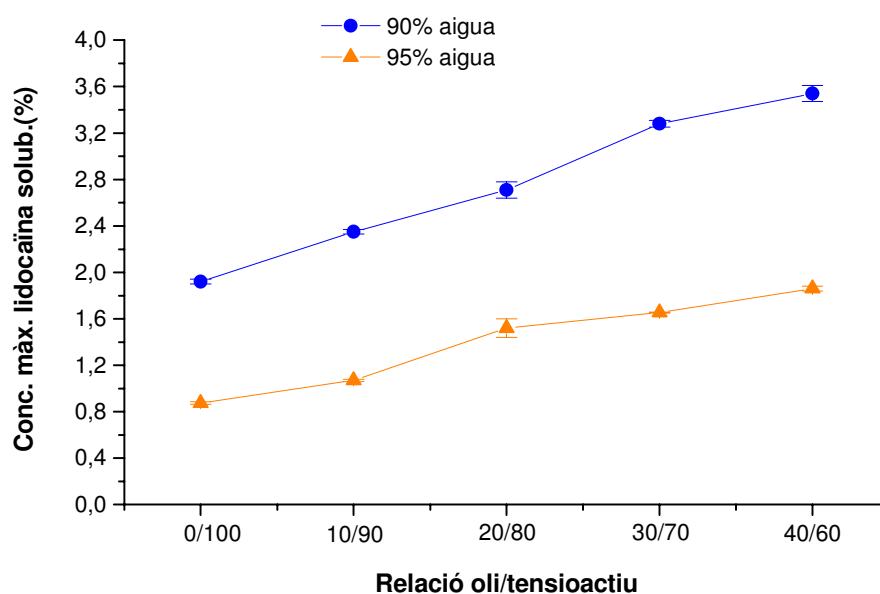


Figura 4.50. Concentració màxima de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 en funció de la relació O/T, a 25°C.

Independentment de la relació O/T les nano-emulsions amb un contingut en aigua més elevat van solubilitzar una menor concentració de lidocaïna tal i com s'espera per un principi actiu pràcticament insoluble en aigua.

Per ambdós percentatges d'aigua la concentració màxima de lidocaïna solubilitzada augmenta en funció de la relació O/T. Els valors més grans corresponen a les nano-emulsions amb una relació O/T 40/60 i són per un contingut del 90 i del 95% d'aigua de 3,54 i 1,86% respectivament. Es van calcular els valors teòrics de 'solubilització' de lidocaïna per cada nano-emulsió tenint en compte la seva solubilitat en els excipients i la

concentració d'aquests en les nano-emulsions. A efectes comparatius en la Figura 4.51 es mostren els valors teòrics obtinguts i els experimentals enfront la relació O/T en nano-emulsions amb un 90 i un 95% de contingut en aigua.

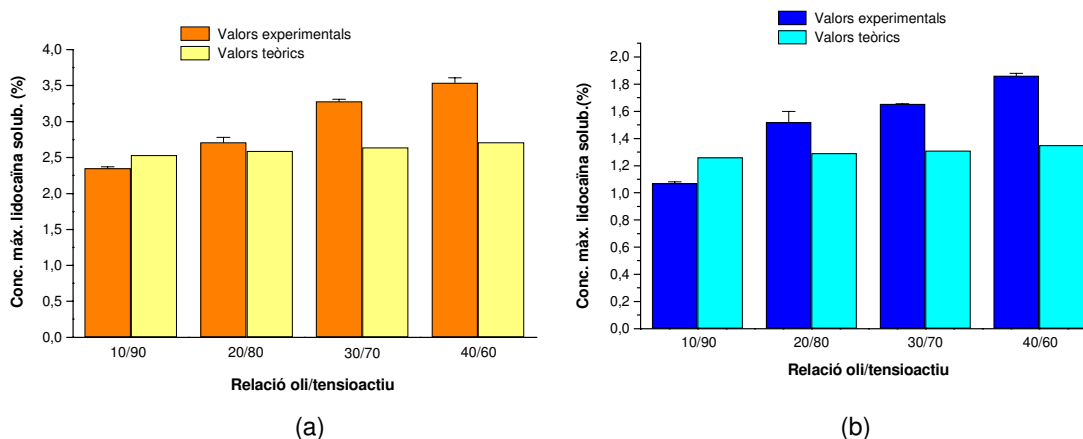


Figura 4.51. Valors experimentals de concentració màxima de lidocaïna solubilitzada i valors teòrics de lidocaïna 'solubilitzada' en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un (a) 90 i un (b) 95% d'aigua, a 25°C.

Els valors teòrics més elevats de solubilització de lidocaïna van ser 2,71 i 1,35 que corresponen a les nano-emulsions amb una relació O/T 40/60 i un 90 i 95% d'aigua respectivament. En comparació amb els experimentals aquests són més petits. De fet la tendència general en totes les nano-emulsions a excepció de les relacions O/T més petites és que els valors experimentals de solubilització màxima de lidocaïna són més grans que els teòrics confirmant-se l'elevada capacitat de solubilització dels sistemes tensioactius (Florence 1981). Les nano-emulsions de fase externa aquosa ofereixen dos possibles 'locus' de solubilització als compostos insolubles o poc solubles en aigua: per una banda la fase interna oliosa de les nano-gotes i d'altra banda la pel·lícula interfacial que separa la fase contínua de la dispersa.

Les nano-emulsions amb un 90% d'aigua solubilitzen concentracions terapèutiques de lidocaïna que en la seva aplicació en anestèsia local són del 2 al 10%.

De la mateixa manera s'ha determinat la solubilització màxima de lidocaïna en els sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 □ aigua/Cremophor EL/oli de ricí i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812. El mètode de formació de nano-emulsions ha estat també el D (incorporació d'aigua d'una sola vegada a mescles oli/tensioactiu a 50°C). La metodologia seguida per la determinació de la concentració màxima de principi actiu solubilitzada és la mateixa que en l'anterior i està descrita en l'apartat 3.3.5.

La concentració màxima de lidocaïna solubilitzada □ a 25°C □ en nano-emulsions i en solucions micel.lars dels diferents sistemes amb un contingut del 90% en aigua en funció de la relació O/T es mostra a la Figura 4.52. A efectes comparatius □ s'han inclòs els resultats de solubilització màxima en nano-emulsions amb un 90% d'aigua del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

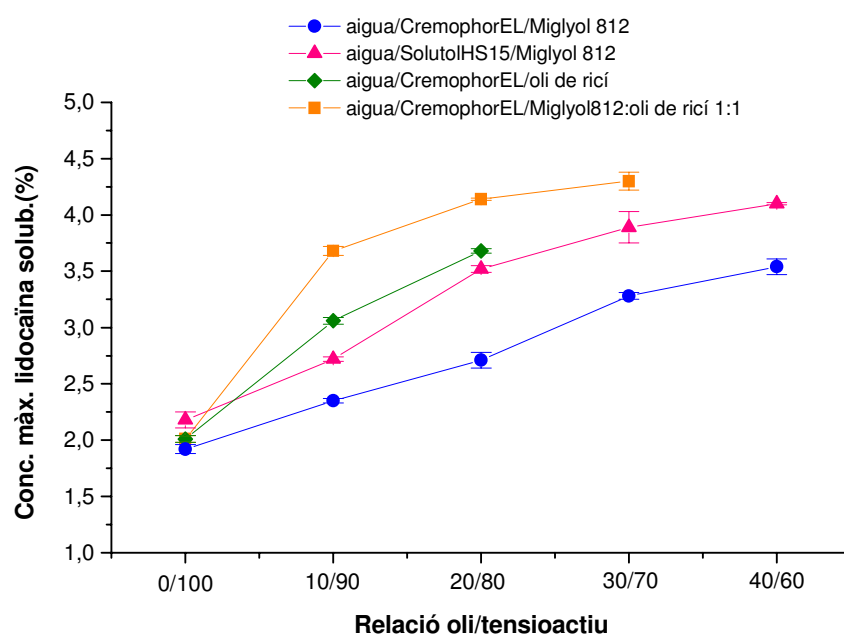


Figura 4.52. Concentració màxima de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions de diferents sistemes amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T, a 25°C.

S'han solubilitzat concentracions terapèutiques de lidocaïna per al seu ús en anestèsia local també en nano-emulsions amb un 90% d'aigua dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 □ aigua/Cremophor EL/oli de ricí i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812. Per a tots els sistemes estudiats □ la

concentració màxima de lidocaïna solubilitzada augmenta en funció de la relació O/T.

El sistema en que es solubilitza una major concentració de lidocaïna (3,68 fins 4,3% per a nano-emulsions amb relacions O/T 10/90 i 30/70) respectivament és el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1. S'observa doncs una sinèrgia entre la utilització dels dos solvents (Miglyol 812 i oli de ricí) en proporció 1:1 respecte la capacitat de solubilització de la lidocaïna.

4.4.1.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS AMB LIDOCAÏNA SOLUBILITZADA

Es va estudiar l'efecte de la incorporació de lidocaïna en la mida de gota de les nano-emulsions caracteritzant nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 de diferent relació O/T i un 90 i 95% d'aigua que contenen un 1% de lidocaïna solubilitzada mitjançant mesures de DLS. Les nano-emulsions es van preparar segons el mètode D (addició d'aigua en una sola vegada a 50°C a barrejes O/T). Els diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts es mostren en la Taula 4.58.

Taula 4.58. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 1% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D. Els valors indicats en la Taula són la mitjana aritmètica dels triplicats realitzats per mesurar l'error d'instrument i els triplicats realitzats per mesurar l'error del mètode.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota promig (nm)	Índex de polidisp. promig
%A	Relació O/T		
90	0/100	9,67	0,122
	10/90	14,3	0,214
	20/80	16	0,236
	30/70	20,3	0,268
	40/60	40,3	0,364
95	0/100	10,0	0,139
	10/90	11,5	0,148
	20/80	15,6	0,205
	30/70	18,9	0,204
	40/60	35,5	0,345

S'han obtingut diàmetres de gota compresos entre 14 i 40 nm per nano-emulsions amb un 90% de contingut en aigua i entre 11 i 35 nm per nano-emulsions amb un 95% d'aigua per a relacions O/T 10/90 i 40/60 respectivament. No s'observen diferències significatives en els diàmetres de gota en funció del contingut d'aigua exceptuant les relacions O/T més elevades (40/60 O/T). No obstant per aquestes mesures es van obtenir índexs de polidispersitat elevats (superiors a 0,3).

A efectes comparatius en la Figura 4.53 es representa el diàmetre de gota en funció de la relació O/T mesurat en nano-emulsions amb un 90 i un 95% de d'aigua sense lidocaïna incorporada (línia discontinua) i amb un 1% de lidocaïna solubilitzada (línia contínua).

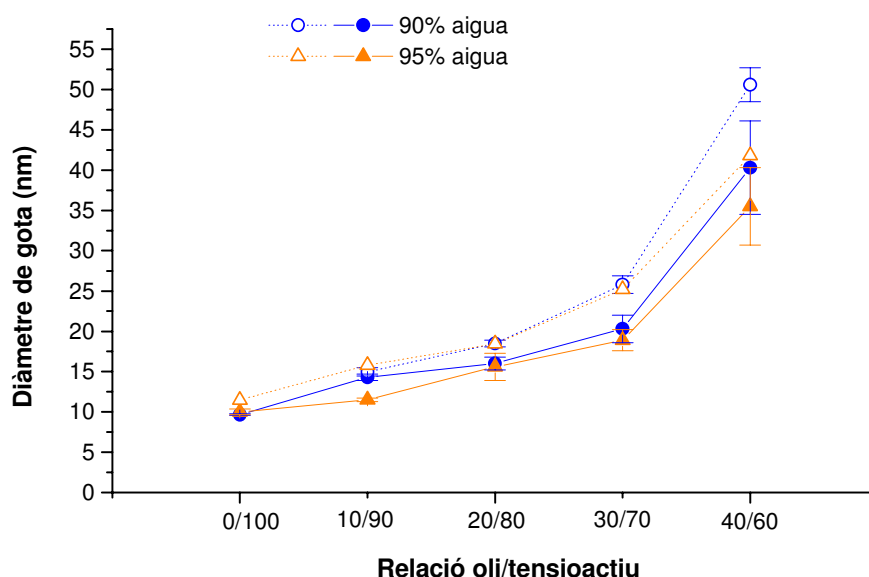


Figura 4.53. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua en funció de la relació O/T sense lidocaïna (línia discontinua) i amb un 1% de lidocaïna solubilitzada (línia contínua), a 25°C.

La variació del diàmetre de gota de les nano-emulsions amb principi actiu incorporat en funció de la relació O/T segueix la mateixa tendència que sense principi actiu és a dir la mida de gota augmenta en augmentar la relació O/T. Els valors obtinguts de diàmetre de gota són lleugerament més petits que els obtinguts sense principi actiu solubilitzat. En relacions O/T elevades la diferència en la mida de gota es fa més evident. Aquests

resultats estan d'acord amb els obtinguts per emulsions de fase externa aquosa on la mida de gota va disminuir lleugerament de 400 a 390nm en solubilitzar un 0,5% de lidocaïna (Gopal 1999). Contràriament, altres autors han observat un augment en la mida de gota d'emulsions que contenen propofol quan s'ha solubilitzat lidocaïna (Park et al. 2003). No obstant, la causa de l'augment en la mida de gota no queda prou clara podent-se atribuir a una desestabilització de l'emulsió.

La lidocaïna amb un pKa de 7,86 és una base dèbil. En medi àcid la lidocaïna estarà majoritàriament en la seva forma ionitzada mentre que en medi bàsic predominarà la forma no ionitzada. Mesures del pH de les nano-emulsions dels sistemes estudiats amb un 90% d'aigua i diferents relacions O/T han donat valors compresos entre 5,2 i 5,8. Si s'aplica l'equació de Henderson-Hasselbach referida per a bases (Equació 4.1) s'obté un valor del percentatge de la forma ionitzada comprés entre 99 i 99,8%. La lidocaïna està majoritàriament ionitzada en les nano-emulsions estudiades podent actuar com un co-tensioactiu iònic. Així doncs, la disminució de la mida de gota de les dispersions en addicionar lidocaïna en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 s'atribueix a l'activitat amfifílica de la molècula en solubilitzar-se en les nano-emulsions.

$$\% \text{ forma ionitzada} = \frac{100}{1 + \text{anti log}(pH - pKa)}$$

Equació 4.1. Equació Henderson-Hasselbach per calcular el percentatge de la forma ionitzada d'un compost.

De la mateixa manera es va estudiar l'efecte de la incorporació d'un 2% de lidocaïna en la mida de gota de nano-emulsions preparades pel mètode D del sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1, aigua/Cremophor EL/oli de ricí i aigua/Solutol HS15/Miglyol de diferent relació O/T i un 90 % d'aigua mitjançant mesures de DLS.

A efectes comparatius es va determinar el diàmetre de gota de les nano-emulsions sense principi actiu actiu solubilitzat acabades de preparar pel

mètode D. Els diàmetres de gota obtinguts i els índexs de polidispersitat de les mesures realitzades a 25°C es mostren a la Taula 4.59.

Taula 4.59. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat mesurats a 25°C de nano-emulsions preparades pel mètode D de diferents sistemes tensioactius.

SISTEMA TENSIOACTIU	COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
	%A	Relació O/T		
Aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1	90	0/100	11,09	0,084
		10/90	14,43	0,131
		20/80	20,2	0,185
		30/70	26,6	0,209
Aigua/Cremophor EL/oli de ricí	90	0/100	11,09	0,084
		10/90	15,3	0,190
		20/80	19,5	0,215
Aigua/Solutol HS15/Miglyol 812	90	0/100	12,07	0,079
		10/90	16,0	0,103
		20/80	20,0	0,092
		30/70	29,2	0,106
		40/60	42,5	0,195

Es van caracteritzar nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 (amb un 2% de lidocaïna solubilitzada i preparades pel mètode D) mitjançant mesures de DLS. En la Taula 4.60 es mostren els diàmetres de gota i els índex de polidispersitat obtinguts per nano-emulsions amb un 90% d'aigua i diferent relació O/T.

Taula 4.60. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb un 2% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	0/100	10,8	0,0928
	10/90	13,7	0,293
	20/80	20,4	0,268
	30/70	26,8	0,249

Els diàmetres de gota obtinguts estan compresos entre 10 μ m i 26 μ m per a composicions amb relacions O/T entre 0/100 i 30/70 respectivament. La mida de gota augmenta a mesura que augmenta la relació O/T. Els índexs de polidispersitat—exceptuant la dispersió corresponent a una solució micel·lar (relació O/T 0/100)—són superiors a 0,2. Amb la solubilització de lidocaïna al sistema es produeix un augment de la polidispersitat.

La mida de gota de nano-emulsions del sistema sense lidocaïna i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada en funció de la relació O/T s'ha representat a Figura 4.55.

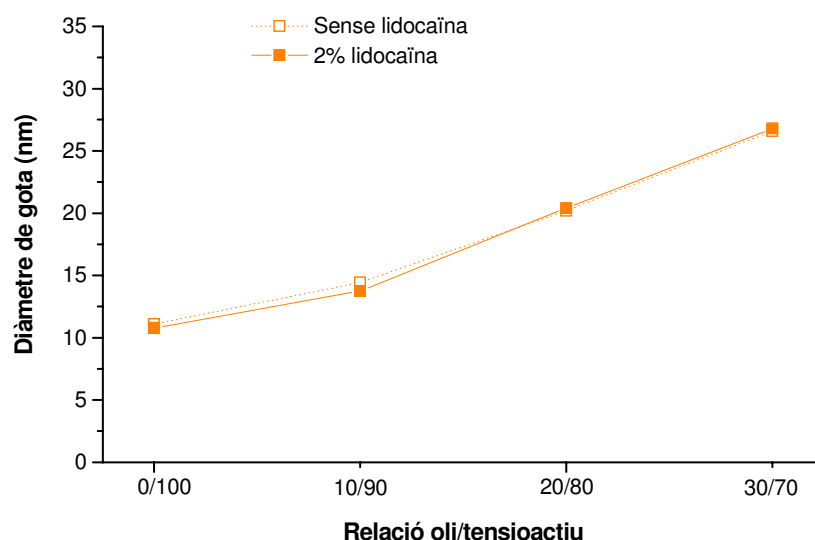


Figura 4.54. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T sense lidocaïna (línia discontinua) i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada (línia contínua), a 25°C.

Els diàmetres de gota en funció de la relació O/T de les nano-emulsions amb i sense lidocaïna solubilitzada segueixen la mateixa tendència. No hi ha diferències significatives en la mida de gota de les nano-emulsions amb i sense lidocaïna solubilitzada. El fet que en solubilitzar un 2% de lidocaïna en les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 no disminueixi la mida de gota—com ocorre amb la incorporació d'un 1% de lidocaïna en el sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812—podria atribuir-se a que aquest principi actiu està majoritàriament ionitzat actuant com a co-tensioactiu. Per tant—es podrien formar pel·lícules interfacials mixtes

(tensioactiu–lidocaïna). D'aquesta manera en addicionar una major concentració de principi actiu la mida de gota augmenta.

El mateix estudi es va realitzar per al sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí. En la Taula 4.61 es mostren les mides de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts mitjançant mesures de DLS en nano-emulsions del sistema amb un 90% d'aigua i diferent relació O/T.

Taula 4.61. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/ oli de ricí amb un 2% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	0/100	10,8	0,093
	10/90	13,3	0,163
	20/80	20,9	0,252

S'obtenen mides de gota amb valors entre 10,8 i 20,9 nm per a dispersions amb relacions O/T entre 0/100 i 20/80 respectivament. El diàmetre de gota augmenta en funció de la relació O/T. Els índexs de polidispersitat són lleugerament més grans que els obtinguts per les mateixes nano-emulsions sense principi actiu solubilitzat indicant l'augment de polidispersitat en les formulacions en addicionar el principi actiu.

A la Figura 4.55 s'ha representat el diàmetre de gota enfront la relació O/T de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí sense i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada.

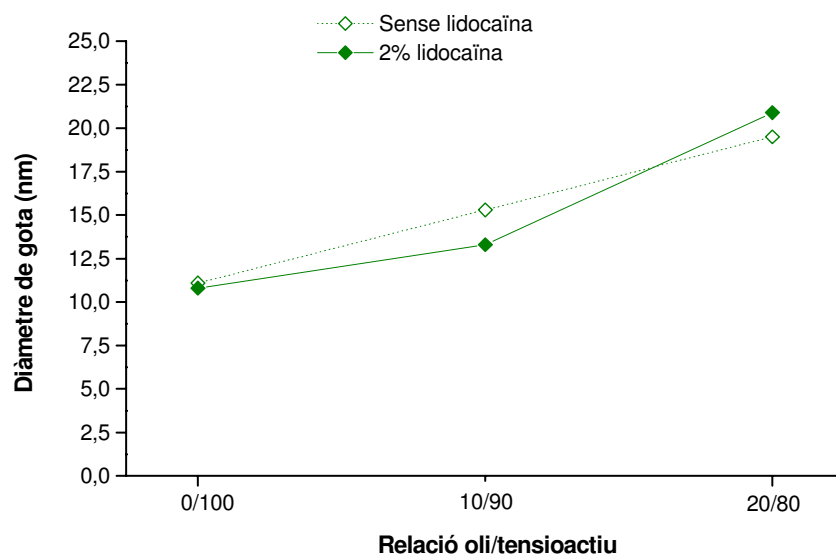


Figura 4.55. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T sense lidocaïna (línia discontinua) i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada (línia contínua), a 25°C.

Com en el sistema anterior, la mida de gota de les nano-emulsions sense i amb lidocaïna incorporada segueixen la mateixa tendència enfront la relació O/T. No s'observen diferències significatives en la mida de gota respecte la solubilització de lidocaïna en nano-emulsions del sistema.

Finalment, es va realitzar el mateix estudi per al sistema aigua/Solutol HS15/Milgyol 812. En la Taula 4.62 es mostren els diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts en les mesures mitjançant DLS de nano-emulsions amb 90% d'aigua i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada.

Taula 4.62. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 2% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	0/100	12,7	0,137
	10/90	17,1	0,169
	20/80	22,5	0,243
	30/70	26,8	0,161
	40/60	37,2	0,202

Els diàmetres de gota obtinguts amb valors entre 12 i 37 nm per a relacions O/T entre 0/100 i 40/60 respectivament augmenten en incrementar-se el contingut en oli. La polidispersitat de les formulacions també augmenta en addicionar el principi actiu.

A efectes comparatius s'ha representat el diàmetre de gota en funció de la relació O/T de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua sense principi actiu i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada (Figura 4.56).

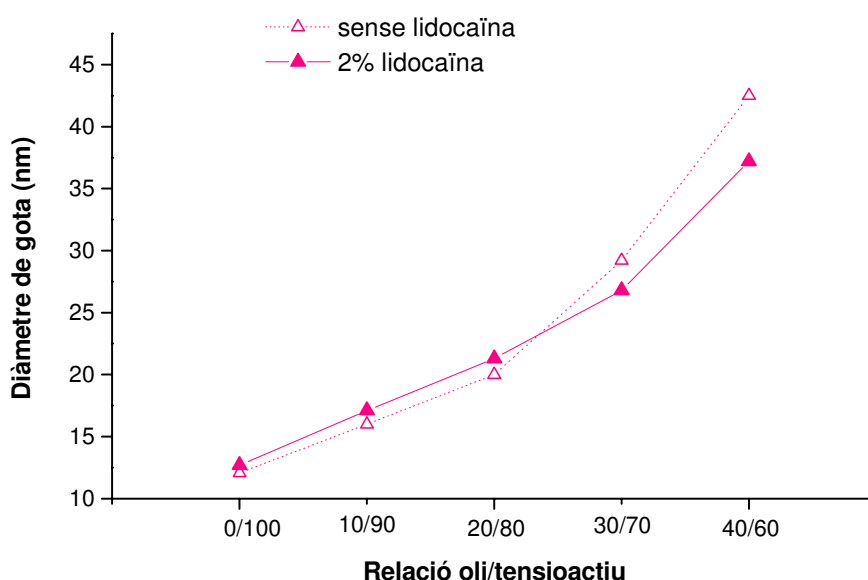


Figura 4.56. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua en funció de la relació O/T sense lidocaïna (línia discontinua) i amb un 2% de lidocaïna solubilitzada (línia contínua), a 25°C.

Els diàmetre de gota de les nano-emulsions amb i sense lidocaïna solubilitzada segueixen la mateixa tendència en funció de la relació O/T. Per a relacions O/T baixes no hi ha diferències significatives en la mida de gota de les nano-emulsions enfront la solubilització de lidocaïna. En canvi per relacions O/T elevades la mida de gota de les nano-emulsions amb principi actiu solubilitzat és lleugerament més petita que sense principi actiu.

4.4.1.4. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS AMB LIDOCAÏNA SOLUBILITZADA

Es va estudiar l'efecte de la incorporació de lidocaïna en l'estabilitat de les nano-emulsions mitjançant mesures de DLS en funció del temps a 25°C. El temps experimental d'estudi per tots els sistemes va ser d'un mes.

Els valors dels diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts en les mesures per DLS per les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua i les relacions O/T 10/90 i 40/60 estan indicats en la Taula 4.63. Les nano-emulsions es van preparar segons el mètode D i es va solubilitzar un 1% de lidocaïna.

Taula 4.63. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 1% de lidocaïna solubilitzada.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT		
%Aigua	Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
90	10/90	0	14,3	0,175
		1	14,5	0,180
		12	13,7	0,189
		30	13,2	0,213
	40/60	0	40,3	0,292
		1	40,2	0,291
		12	43,1	0,305
		30	47,6	0,318
95	10/90	0	11,5	0,095
		1	11,5	0,114
		12	12,7	0,069
		30	14,8	0,058
	40/60	0	35,5	0,312
		1	36,1	0,325
		12	38,6	0,264
		30	41,8	0,286

A la Figura 4.57 es mostra la mida de gota en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua i les relacions O/T 10/90 i 40/60.

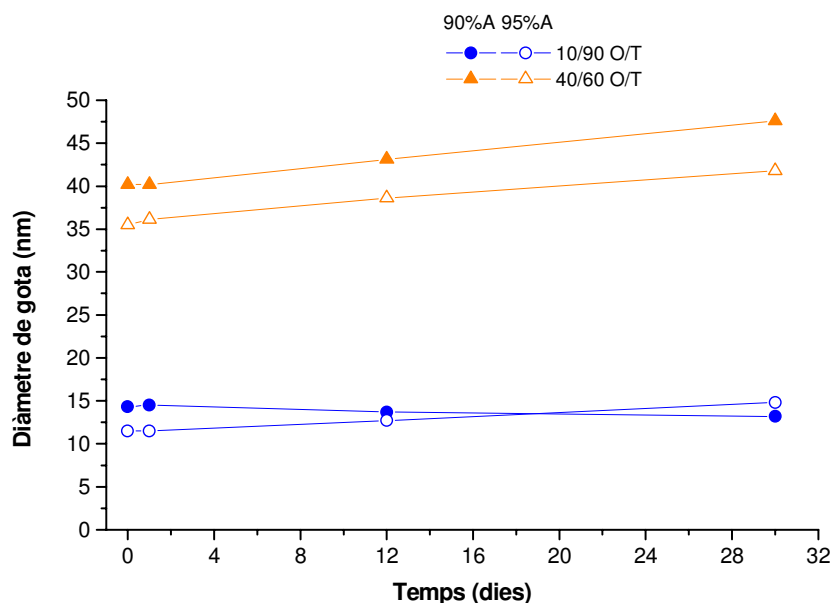


Figura 4.57. Diàmetre de gota de nano-emulsions amb 90 (símbols plens) i 95% d'aigua (símbols buits) i les relacions O/T 10/90 i 40/60 del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 1% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D en funció del temps, a 25°C.

Independentment del contingut d'aigua per a les nano-emulsions amb una relació O/T baixa (10/90) gairebé no hi variacions de la mida de gota en funció del temps. Els índexs de polidispersitat obtinguts són inferiors a 0,2. Per a les nano-emulsions amb la relació O/T 40/60 la mida de gota augmenta lleugerament durant el temps d'estudi experimental d'un mes presentant una elevada estabilitat cinètica durant el temps d'estudi.

S'observa com per a les nano-emulsions amb relacions O/T baixes el diàmetre de gota és independent del contingut d'aigua. No obstant per a relacions O/T elevades el diàmetre de gota de la nano-emulsió amb un 95% d'aigua és lleugerament inferior al diàmetre de gota amb un 90%.

De la mateixa manera es va estudiar l'estabilitat cinètica de nano-emulsions amb lidocaïna solubilitzada del sistema aigua/Cremophor EL/Milgyol 812:oli de ricí 1:1. Els valors dels diàmetres de gota i dels índexs de polidispersitat obtinguts en les mesures de DLS per les nano-emulsions del sistema preparades pel mètode D i la solució micel·lar amb un 90% d'aigua i un 2% de lidocaïna solubilitzada es mostren a la Taula 4.64.

Taula 4.64. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb diferents relacions O/T i de la solució micel.lar amb un 90% d'aigua amb un 2% de lidocaïna incorporada, a 25°C.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT		
	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
0/100	0	10,8	0,093
	1	11,2	0,073
	15	11,14	0,068
	30	11,06	0,078
10/90	0	13,3	0,163
	1	13,5	0,175
	15	15,8	0,195
	30	16,6	0,231
20/80	0	20,9	0,252
	1	21,2	0,254
	15	22,8	0,257
	30	24,8	0,198

A la Figura 4.58 es representa la mida de gota en funció del temps.

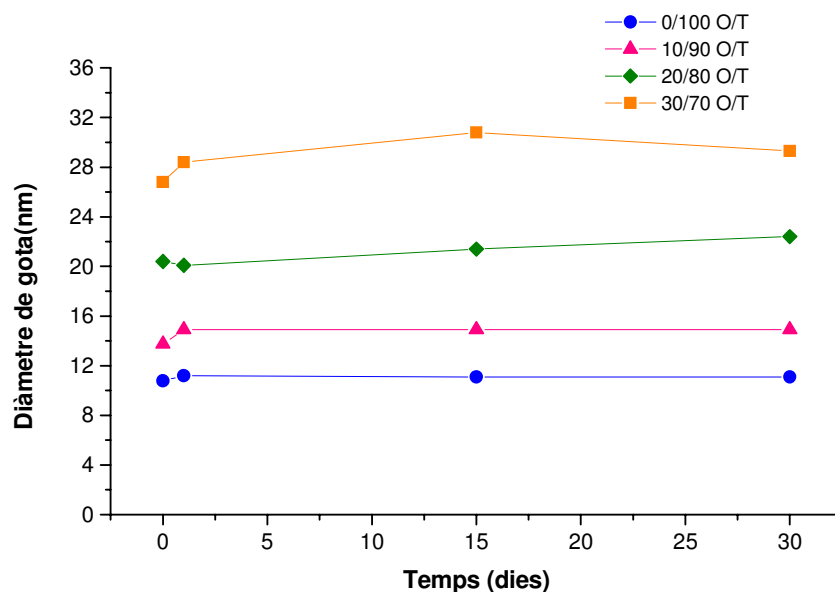


Figura 4.58. Diàmetre de gota de nano-emulsions amb 90% diferents relacions O/T i de la solució micel.lar amb un 90% d'aigua del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812:oli de ricí 1:1 amb un 2% de lidocaïna incorporada, preparades pel mètode D en funció del temps, a 25°C.

La mida de gota de les nano-emulsions amb principi actiu solubilitzat va augmentar lleugerament durant el temps d'estudi experimental d'un mes. En la solució micel·lar la mida de gota es manté pràcticament constant enfront el temps. Els índexs de polidispersitat obtinguts en les mesures en funció del temps no van augmentar. Per tot això es pot concloure que aquestes nano-emulsions mostren una elevada estabilitat cinètica.

Els resultats obtinguts per al sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí es mostren a la Taula 4.65. El mètode de preparació de les nano-emulsions va ser el D i es va solubilitzar un 2% de lidocaïna en composicions amb un 90% d'aigua i diferent relació O/T. Els diàmetres de gota en funció del temps es mostren a la Figura 4.59.

Taula 4.65. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí amb diferents relacions O/T i de la solució micel·lar amb un 90% d'aigua amb un 2% de lidocaïna solubilitzada, a 25°C.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT		
	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
0/100	0	10,8	0,093
	1	11,2	0,073
	15	11,14	0,068
	30	11,06	0,078
10/90	0	13,7	0,293
	1	14,85	0,240
	15	14,9	0,240
	30	14,9	0,238
20/80	0	20,4	0,268
	1	20,1	0,279
	15	21,4	0,231
	30	22,4	0,236
30/70	0	26,8	0,249
	1	28,4	0,232
	15	30,8	0,238
	30	29,3	0,215

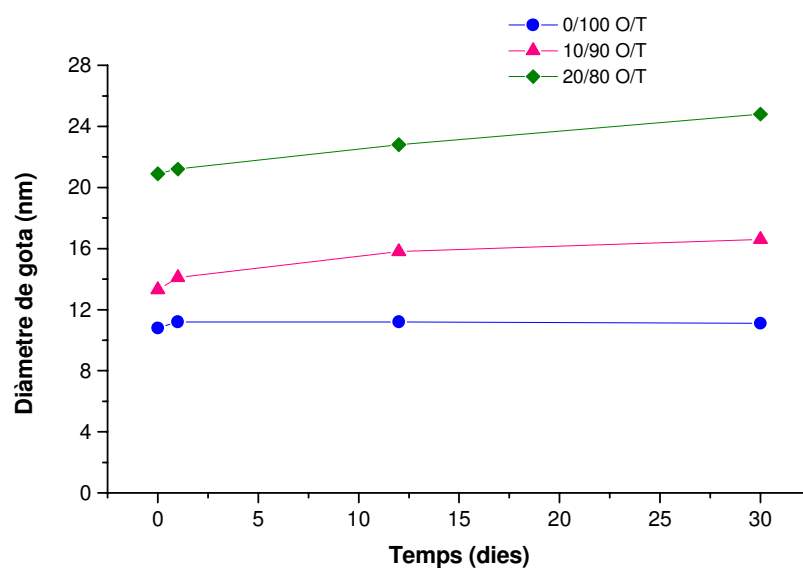


Figura 4.59. Diàmetre de gota de nano-emulsions amb diferents relacions O/T i de la solució micel·lar amb un 90% d'aigua del sistema aigua/Cremophor EL/oli de ricí amb un 2% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D en funció del temps, a 25°C.

Durant el temps d'estudi experimental d'un mes, la mida de gota de les nano-emulsions va augmentar lleugerament, per tant, aquestes nano-emulsions amb lidocaïna solubilitzada presenten també una elevada estabilitat cinètica.

Finalment, es va estudiar l'estabilitat cinètica de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua i diferents relacions O/T, juntament amb la solució micel·lar. El mètode d'emulsificació va ser el D i es va solubilitzar un 2% de lidocaïna. Els resultats obtinguts s'indiquen a la Taula 4.66. Els diàmetres de gota en funció del temps s'han representat a la Figura 4.60.

Taula 4.66. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb diferents relacions O/T i de la solució micel·lar amb un 90% d'aigua amb un 2% de lidocaïna solubilitzada, a 25°C.

COMPOSICIÓ	ESTABILITAT		
	Relació O/T	Dies	Índex de polidispersitat
0/100	0	12,7	0,137
	4	13,6	0,070
	15	13,5	0,090
	30	12,9	0,123
10/90	0	17,1	0,169
	4	16,9	0,093
	15	16,2	0,089
	30	16,2	0,096
20/80	0	22,5	0,243
	4	23,1	0,250
	15	25,4	0,295
	30	27,6	0,441
30/70	0	26,8	0,161
	4	27,9	0,190
	15	29,5	0,204
	30	32,3	0,207
40/60	0	37,2	0,202
	4	37,7	0,205
	15	38,9	0,210
	30	39,9	0,211

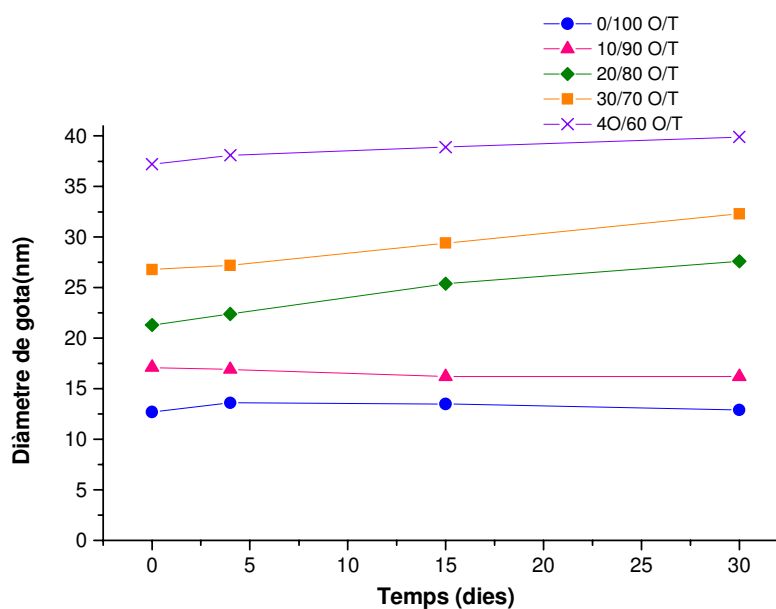


Figura 4.60. Diàmetre de gota de nano-emulsions amb diferents relacions O/T i de la solució micel·lar amb un 90% d'aigua del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 2% de lidocaïna solubilitzada preparades pel mètode D en funció del temps, a 25°C.

El diàmetre de gota augmenta molt poc durant el temps d'estudi experimental d'un mes. Per relacions O/T baixes la mida de gota es manté pràcticament constant. Per tant, les nano-emulsions d'aquest sistema amb lidocaïna solubilitzada també presenten una bona estabilitat cinètica.

4.4.2. ESTUDI DE LA SOLUBILITZACIÓ DE FLURBIPROFÈ EN NANO-EMULSIONS O/W

4.4.2.1. ESTUDIS PRELIMINARS

Es va estudiar la solubilització de flurbiprofè en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

En primer lloc es va determinar experimentalment la solubilitat de lidocaïna en cadascun dels excipients de les nano-emulsions a 25°C. Els resultats es mostren en la Taula 4.67:

Taula 4.67. Solubilitat del flurbiprofè en els excipients de les nano-emulsions, a 25°C.

EXCIPIENTS	QUANTITAT LIDOCAÏNA SOLUBILITZADA (%)
Aigua Milli-Q	< 0,01
Cremophor EL	31,5
Miglyol 812	9,1

El flurbiprofè és gairebé insoluble en aigua i és 3 vegades més soluble en el tensioactiu que en el component oliós.

4.4.2.2. SOLUBILITZACIÓ MÀXIMA DE FLURBIPROFÈ EN NANO-EMULSIONS

La solubilització màxima de flurbiprofè en nano-emulsions es va determinar mitjançant la incorporació del principi actiu a la mescla oli/tensioactiu abans de la formació de la nano-emulsió tal com es descriu a l'apartat 3.3.6.1. El mètode utilitzat per la formació de nano-emulsions va ser el D és a dir la incorporació de la quantitat total d'aigua en una sola vegada a 50°C. Es va escollir aquest mètode per que va ser el mètode utilitzat en els estudis de

solubilització de lidocaïna en el mateix sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

A la Figura 4.61 es representa la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat a 25°C en nano-emulsions amb un 90 i un 95% d'aigua en funció de la relació O/T. També es va estudiar la solubilització de flurbiprofè en les solució micel·lars que contenen un 90 i un 95% d'aigua i un 10 i 5% de tensioactiu respectivament.

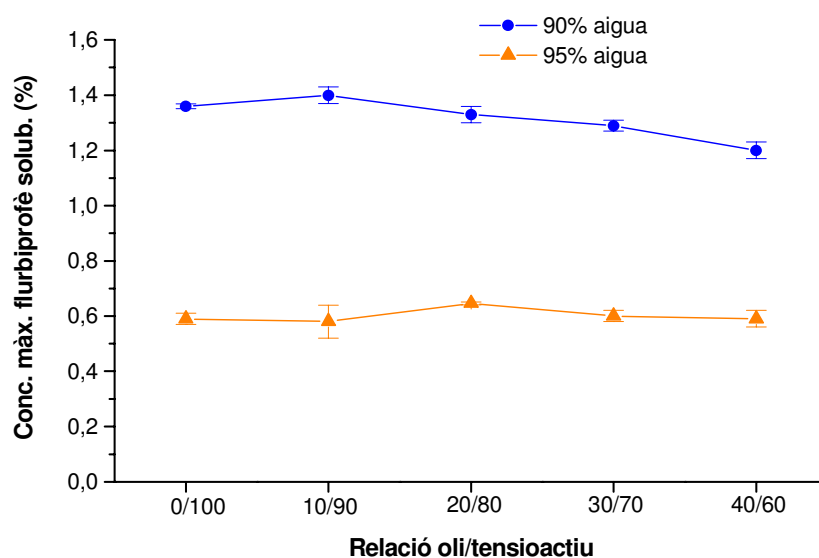


Figura 4.61. Concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua en funció de la relació O/T, a 25°C. Les barres d'error són indicatives tant d'errors d'instrument com d'errors del mètode.

Independentment de la relació O/T les dispersions amb menor contingut d'aigua (90%) i per tant major contingut en tensioactiu i component oliós solubilitzen més principi actiu que les dispersions amb major contingut d'aigua (95%). Aquests resultats són coherents tenint en compte la baixa solubilitat del flurbiprofè en aigua.

Per aquelles nano-emulsions amb un 90% d'aigua la solubilització de flurbiprofè disminueix lleugerament en augmentar la relació O/T d'1 a 1,2% per les relacions O/T 10/90 i 40/60 respectivament. No hi ha

diferències significatives en la concentració de flurbiprofè solubilitzada entre la solució micel·lar i en la nano-emulsió amb una relació O/T 10/90.

Per aquelles dispersions amb un 95% d'aigua no s'observen diferències significatives en la concentració de flurbiprofè solubilitzat que està dins l'interval 0,59–0,64% en funció de la relació O/T.

Els valors teòrics calculats tenint en compte la solubilitat de flurbiprofè en cada component de les dispersions són superiors als valors experimentals de solubilització màxima determinats. Sembla que les nano-gotes del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 no potencien la capacitat de solubilització de flurbiprofè. No obstant, les nano-emulsions amb un 90% de contingut en aigua solubilitzen concentracions terapèutiques de flurbiprofè que en formes farmacèutiques líquides és de l'1%.

El principi actiu és tres vegades més soluble en el tensioactiu que en el component oliós amb el que un augment de la quantitat de Miglyol 812 en les composicions en detriment del Cremophor EL afecta a la solubilització de flurbiprofè en les dispersions disminuint-la.

4.4.2.3. CARACTERITZACIÓ DE NANO-EMULSIONS AMB FLURBIPROFÈ SOLUBILITZAT

Es va estudiar l'efecte de la incorporació de flurbiprofè en la mida de gota de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 mitjançant la mesura de la mida de gota de nano-emulsions amb principi actiu solubilitzat per DLS.

A la Taula 4.68 es mostren els diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts de nano-emulsions amb un 90 i un 95% d'aigua que contenen la concentració màxima de lidocaïna solubilitzada. Les nano-emulsions es van preparar mitjançant el mètode D.

Taula 4.68. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzada preparades pel mètode D.

COMPOSICIÓ		Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
%A	Relació O/T		
90	10/90	12,1	0,132
	20/80	13,4	0,165
	30/70	16,1	0,272
	40/60	19,5	0,378
95	10/90	12,2	0,202
	20/80	13,1	0,221
	30/70	14,02	0,157
	40/60	22,8	0,287

Els diàmetres de gota obtinguts per a les nano-emulsions amb un 90 i un 95% d'aigua augmenten en funció de la relació O/T. Per a les dispersions amb un 90% de contingut en aigua estan compresos entre 12 i 19 nm mentre que per aquelles nano-emulsions amb un 95% d'aigua entre 12 i 22 nm. No s'observen diferències significatives en els diàmetres de gota en funció del contingut en aigua a excepció de les relacions O/T més elevades tot i que en aquests casos els índexs de polidispersitat són també elevats.

En la Figura 4.62 s'ha representat el diàmetre de gota de les nano-emulsions amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat (línia contínua) i sense flurbiprofè (línia discontinua) en funció de la relació O/T per tal de comparar els resultats obtinguts.

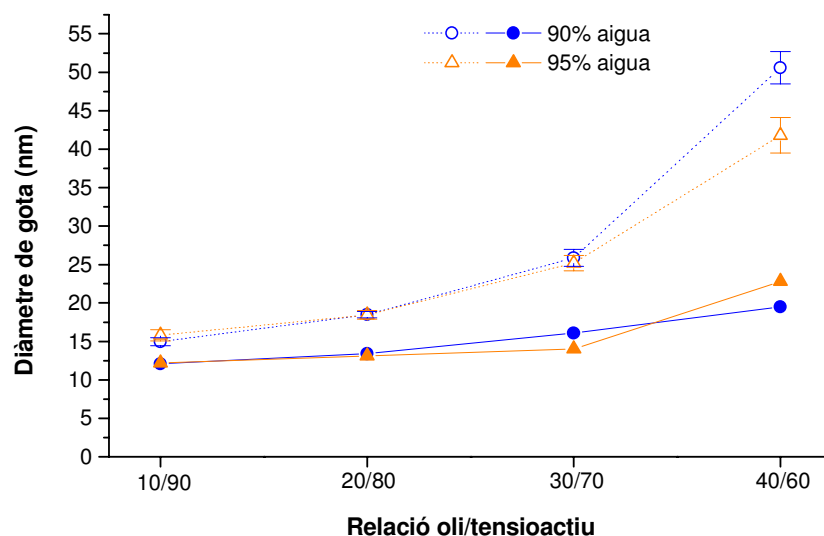


Figura 4.62. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua en funció de la relació O/T sense flurbiprofè (línia discontinua) i amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat (línia contínua), a 25°C.

La variació del diàmetre de gota de les nano-emulsions amb principi actiu incorporat en funció de la relació O/T segueix la mateixa tendència que sense principi actiu. Els diàmetres de gota obtinguts per a les nano-emulsions amb flurbiprofè incorporat són més petits que els obtinguts sense principi actiu solubilitzat, fent-se més evident aquesta diferència per relacions O/T elevades. Aquests resultats coincideixen amb els trobats en la solubilització de flurbiprofè en microemulsions de fase externa aquosa on el tensioactiu utilitzat és el Tween 20 i l'oli és l'oleat d'etil (Park 1999). La disminució en la mida de gota deguda a la incorporació de flurbiprofè es pot atribuir a les propietats amfifíliques del principi actiu.

En aplicar l'equació de Henderson-Hasselbach per conèixer el percentatge de flurbiprofè ionitzat quan està incorporat en les nano-emulsions del sistema, tenint en compte que els valors de pH d'aquestes són de l'ordre de 5,2 a 5,8, el flurbiprofè es troba majoritàriament en forma no ionitzada.

4.4.2.4. ESTUDI DE LES PROPIETATS AMFIFÍL·QUES DEL FLURBIPROFÈ

Amb l'objectiu d'esbrinar si el flurbiprofè presentava activitat amfifílica es va determinar la temperatura HLB mitjançant conductimetria del sistema sol. aquosa NaCl 10^{-2} M/ $C_{12}E_5$ /decà amb diferents concentracions de flurbiprofè solubilitzat. L'emulsió escollida per l'assaig tenia una proporció de fase aquosa/ fase oliosa 1/1 i un 5% de tensioactiu. En la Figura 4.63 es representa la conductivitat mesurada enfront la temperatura amb diferents concentracions de flurbiprofè.

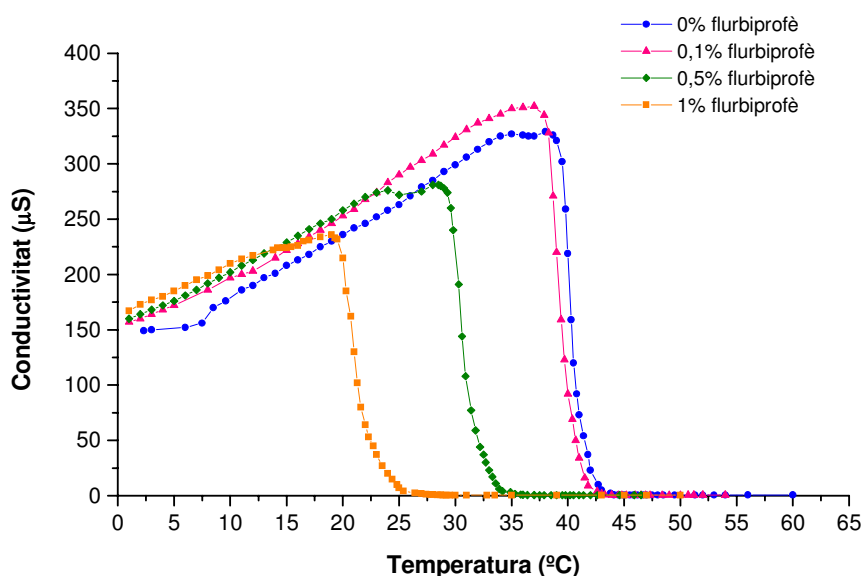


Figura 4.63. Conductivitat d'emulsions del sistema sol. aquosa NaCl 10^{-2} M/ $C_{12}E_5$ /decà amb diferents concentracions de lidocaïna solubilitzada enfront la temperatura (sol. aquosa/decà 1/1; 5% tensioactiu).

Com s'observa en la Figura 4.64 a mesura que augmenta la concentració de flurbiprofè en l'emulsió la temperatura HLB del sistema disminueix. El flurbiprofè actua doncs com a cotensioactiu aportant lipofilitat al sistema.

Es va determinar la tensió superficial a 25°C d'una solució aquosa de flurbiprofè $1,63 \cdot 10^{-5}$ M i la de l'aigua (aigua Milli- Ω) per comparar resultats. La tensió superficial de l'aigua va ser de 71 ± 1 mN/m mentre que la de la solució aquosa de flurbiprofè va ser de 67 ± 2 mN/m. La lleugera disminució de la tensió superficial a l'addicionar flurbiprofè és indicatiu de presentar propietats amfifíliques.

4.4.2.5. ESTABILITAT CINÈTICA DE NANO-EMULSIONS AMB FLURBIPROFÈ SOLUBILITZAT

Amb l'objectiu d'estudiar l'efecte de la incorporació de flurbiprofè en l'estabilitat de les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 a 25°C es van determinar els diàmetres de gota de nano-emulsions amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat mitjançant mesures de DLS en funció del temps. El temps experimental d'estudi va ser de dos mesos.

En la Figura 4.64 es mostra la mida de gota en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90 i un 95% d'aigua i diferents relacions O/T. Els valors dels diàmetres de gota i els índexs de polidispersitat obtinguts en les mesures per DLS estan indicats en la Taula 4.69.

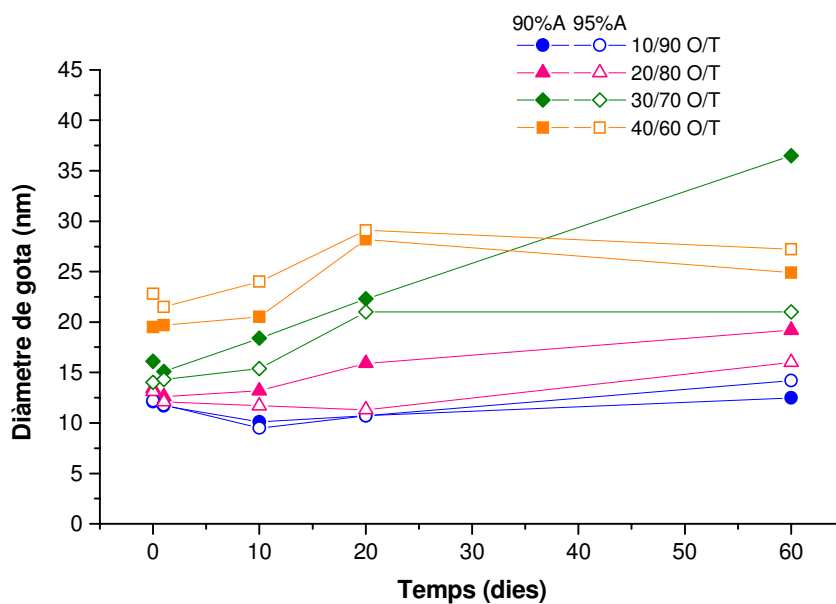


Figura 4.64. Diàmetre de gota de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzada, amb 90 (símbols plens) i 95% d'aigua (símbols buits) i diferents relacions O/T preparades en funció del temps, a 25°C.

Taula 4.69. Diàmetre de gota i índex de polidispersitat en funció del temps de nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb la concentració màxima de flurbiprofè solubilitzat.

COMPOSICIÓ		ESTABILITAT		
%Aigua	Relació O/T	Dies	Diàmetre de gota (nm)	Índex de polidispersitat
90	10/90	0	12,1	0,132
		1	11,7	0,104
		10	10,1	0,149
		20	10,7	0,195
		60	12,5	0,243
	20/80	0	13,4	0,165
		1	12,6	0,127
		10	13,2	0,119
		20	15,9	0,101
		60	19,2	0,100
	30/70	0	16,1	0,272
		1	15,1	0,255
		10	18,4	0,316
		20	22,3	0,386
		60	36,5	0,235
	40/60	0	19,5	0,378
		1	19,7	0,321
		10	20,5	0,439
		20	28,2	0,242
		60	24,9	0,246
95	10/90	0	12,2	0,202
		1	11,8	0,200
		10	9,5	0,125
		20	10,7	0,14
		60	14,2	0,0804
	20/80	0	13,1	0,221
		1	12,1	0,152
		10	11,7	0,226
		20	11,3	0,167
		60	16	0,167
	30/70	0	14,02	0,157
		1	14,3	0,171
		10	15,4	0,172
		20	21,0	0,248
		60	21,0	0,215
	40/60	0	22,8	0,287
		1	21,5	0,380
		10	20,5	0,439
		20	29,1	0,275
		60	27,2	0,256

Les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb flurbiprofè solubilitzat presenten una elevada estabilitat cinètica en el temps d'estudi experimental de dos mesos a 25°C. Independentment del contingut

d'aigua□la mida de gota de dispersions amb relacions O/T petites (10/90 O/T) augmenta només lleugerament. A mesura que augmenta la relació O/T de les dispersions els índexs de polidispersitat obtinguts de les mesures també augmenten. Durant el temps d'estudi experimental els diàmetres de gota de les dispersions no van ser superiors a 365 nm.

4.5. ESTUDIS DE LA IDONEÏTAT DE NANO-EMULSIONS O/W COM A VEHICLES PER APLICACIÓ CUTÀNIA

Es va estudiar la idoneïtat *in vivo* de nano-emulsions O/W en ser aplicades sobre la pell concretament sobre l'avantbraç de voluntaris. Les nano-emulsions sotmeses a estudi van ser les utilitzades com a vehicles en els assajos de permeació *in vitro*.

Per aquest motiu es van fer dues determinacions. Es va mesurar la pèrdua transepidermica d'aigua en funció del temps per tal de detectar la possible destrucció de l'estructura de la capa còrnia. Així mateix es va mesurar el canvi de color de la superfície de la pell en funció del temps amb la finalitat de detectar la possible aparició d'eritemes després de l'aplicació de les formulacions.

4.5.1. ESTUDI DE L'EFECTE DE LES NANO-EMULSIONS EN LA INTEGRITAT DE L'ESTRUCTURA DE LA CAPA CÒRNIA

S'ha determinat la pèrdua transepidermica d'aigua (TEWL) mitjançant un evaporímetre en funció del temps segons el procediment descrit en l'apartat 3.3.9 abans i després de l'aplicació de nano-emulsions O/W sobre l'avantbraç de 4 voluntaris d'edats compreses entre 23 i 28 anys. Les mesures posteriors a l'aplicació de les formulacions de manera oclusiva es van realitzar després de 2 hores i un cop retirades de la pell. Les nano-emulsions sotmeses a estudi pertanyen als sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812. El motiu pel qual es van escollir aquests dos sistemes va ser perquè la regió de nano-emulsions formada s'estén fins a la relació 40/60 O/T per als dos. Per a cada sistema s'han seleccionat les composicions amb les relacions O/T 10/90 i 40/60 i un 90% d'aigua igual que en els assajos de permeació *in vitro*.

A la Figura 4.65 es representen els valors de TEWL normalitzats (relació entre una mesura determinada i el valor obtingut abans d'aplicar la formulació) en funció del temps. Es va aplicar aigua Milli- \square com a mesura control.

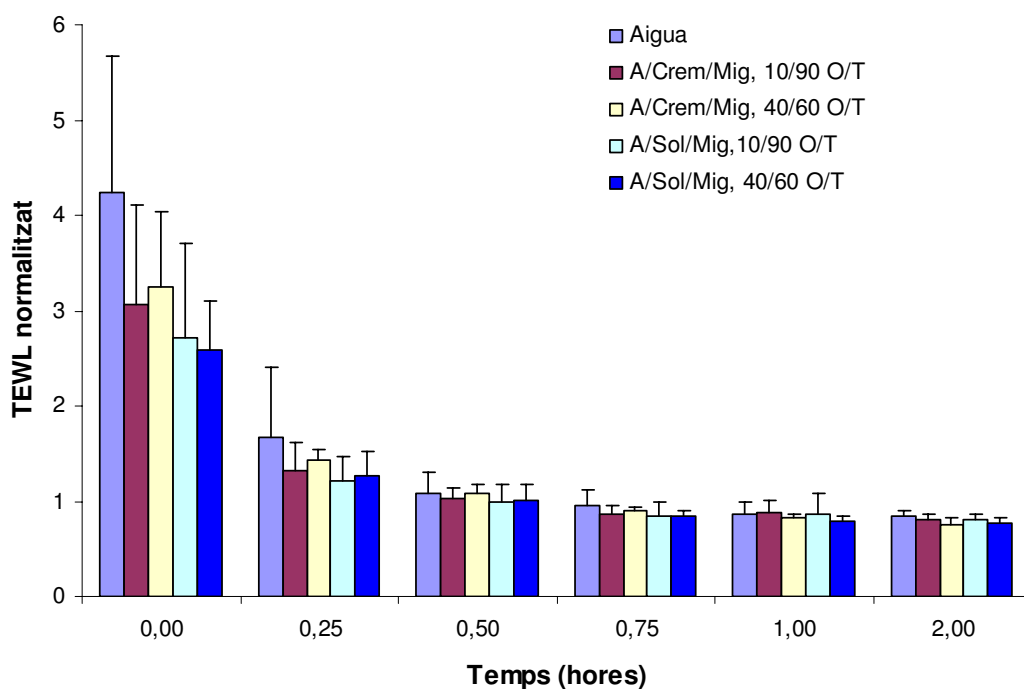


Figura 4.65. Valors de TEWL normalitzats en funció del temps post-aplicació d'aigua i de nano-emulsions amb un 90% d'aigua dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812.

Immediatament després de retirar de la pell tant l'aigua com les nano-emulsions els valors normalitzats de TEWL són elevats. Aquests resultats indiquen que les nano-emulsions estudiades no són oclusives i no oferint resistència a la difusió de l'aigua. Els resultats coincideixen amb els trobats per d'altres autors (Delgado-Charro i 1997; Curdy i 2004).

Curdy et al. van realitzar mesures de TEWL després de 6 hores d'aplicació oclusiva sobre l'avantbraç de voluntaris i la posterior retirada d'una emulsió O/W d'un ungüent i un control (mesura sense vehicle). Els valors obtinguts immediatament després de retirar els vehicles van ser elevats per l'emulsió O/W i per al control. No obstant, els valors per l'ungüent van ser propers als valors de TEWL bassals. L'emulsió conté un 25% d'oli de cacahuet, un 15% de miristat d'isopropil, un 5% de propilenglicol, un 0,05% de palmitat d'ascorbil, un 0,10% d'àcid sòrbic, un 4% d'alcohol cetílic, un 6,0% de Tween 60, un 1,9% de Span 60, un 2% de palmitat cetílic i un 36,5% d'aigua. L'ungüent conté un 73% d'alcohol lanolínic, un 3,45% de triglicèrids de cadena mitja, un 2,25% d'alcohol gras, un 9% d'un glicol i un 5% de cera microcristal·lina. Els

autors consideren que els valors de TEWL mesurats immediatament després de la retirada de formulacions O/W de la pell són elevats degut a que no ofereixen resistència a la difusió de l'aigua i en la formulació a més no hi havia cap excipient que alterés el nivell d'hidratació de l'estrat corni com seria el cas dels humectants. Els valors elevats de TEWL amb i sense emulsió coincideixen amb la hipòtesi formulada per aquests (Curdy 2004).

Delgado-Charro et al. postulen que els valors elevats de TEWL mesurats immediatament després de retirar els vehicles de la pell cinc microemulsions O/W de tipus sol. aquosa de NaCl i sucrosa/Labrasol:plurol isosteàric 3:1/oleat d'etil i aigua propilenglicol i un 5% d'àcid oleic en propilenglicol com a control són deguts probablement a l'elevat nivell d'evaporació d'aigua provocat per la hidratació de la pell deguda a l'oclusió (Delgado-Charro 1997).

En el present treball als 45 minuts de durada de l'assaig els valors normalitzats de TEWL van arribar aproximadament a la unitat indicant que els valors mesurats en aquest temps són iguals als valors obtinguts abans d'aplicar la formulació (valors bassals). Els resultats obtinguts suggereixen que les nano-emulsions dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb relacions O/T 10/90 i 40/60 i un 90% d'aigua no alteren l'estructura de la capa còrnia fent-ho almenys en un grau comparable a l'aplicació d'aigua.

Els valors normalitzats de TEWL en funció del temps (3 hores) obtinguts per Delgado-Charro et al. mesurats després de retirar de la pell cinc microemulsions O/W d'aigua i el propilenglicol van arribar a la unitat després de 2 hores. En canvi només per al 5% d'àcid oleic en propilenglicol els valors de TEWL van romandre significativament elevats respecte els altres vehicles durant les 3 hores de durada de l'assaig (Delgado-Charro 1997). Les microemulsions contenien entre un 25 i un 44 (%vol.) de mescla tensioactiva (Labrasol:plurol isosteàric 3:1) i entre un 14 i un 49% (%vol.) d'oleat d'etil.

Uson et al. van estudiar la idoneïtat d'una nano-emulsió O/W en el sistema aigua (85%)/Cremophor EL:Cremophor WO7 3:1 (10%)/miristat d'isopropil

(5%) i d'una nano-emulsió W/O del sistema aigua (5%)/Cremophor EL:Cremophor WO7 1:7 (10%)/miristat d'isopropil (85%) per ser administrades per via cutània mitjançant la mesura de la TWEL en funció del temps. Les formulacions es van aplicar de manera oclusiva durant 2 hores abans de ser retirades per realitzar les mesures. Els resultats van mostrar que els valors normalitzats de TEWL van ser propers a la unitat després de 2 a 3 hores per a les dues formulacions i per al control □l'aigua□ indicant que les nano-emulsions eren adequades per ser administrades per via cutània (Uson □2003).

4.5.2. ESTUDI DE LA INFLUÈNCIA DE LES NANO-EMULSIONS EN L'APARICIÓ DE D'ERITEMES

S'han determinat els canvis de color de la superfície de pell situada en l'avantbraç mitjançant mesures de la reflectància de la llum amb un espectrofotòmetre en funció del temps. Les mesures han estat realitzades abans i després de l'aplicació de les nano-emulsions O/W (les mateixes a les utilitzades en els assaigs de permeació *in vitro* i de la pèrdua transepidermica d'aigua). L'experiment s'ha realitzat en 4 voluntaris d'edats compreses entre 23 i 28 anys. Les mesures es van realitzar després de 2 hores d'aplicació oclusiva de les formulacions i un cop retirades de la pell.

A la Figura 4.66 es representen els valors de la coordenada cromàtica a* (direcció del vermell) normalitzats (relació entre una mesura determinada i el valor obtingut abans d'aplicar la formulació) en funció del temps. Es va aplicar aigua Milli-□ com a mesura control.

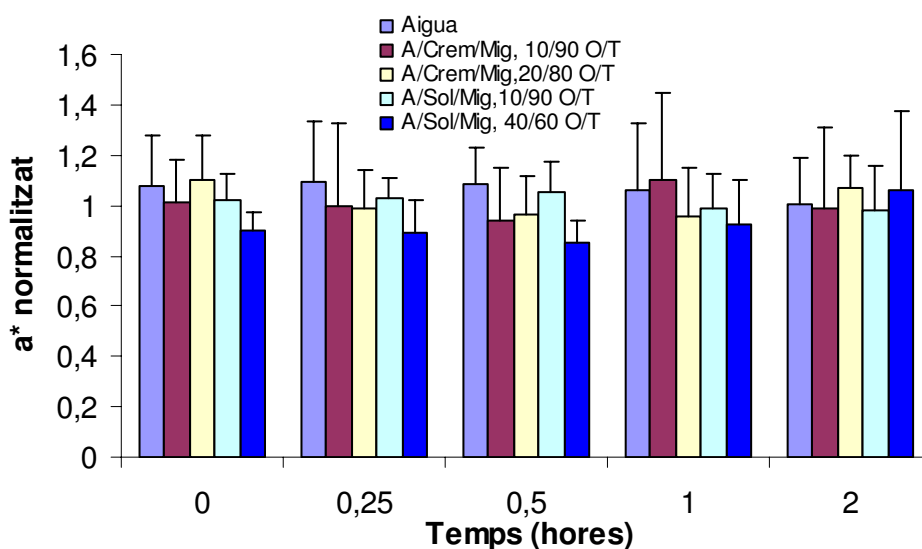


Figura 4.66. Valors d'a* normalitzats en funció del temps post-aplicació d'aigua i de nano-emulsions amb un 90% d'aigua dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812.

Com s'observa en la Figura 4.66 els valors de la coordenada cromàtica a* normalitzats romanen constants durant el temps de durada de l'assaig per a totes les formulacions assajades tenint en compte les elevades desviacions estàndard obtingudes. No es poden establir diferències entre els valors d'a* de les diferents nano-emulsions estudiades dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 sent aquests valors similars als obtinguts per a l'aigua.

Així les nano-emulsions dels sistemes aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 no donen lloc a variacions significatives dels valors d'a* (que són la direcció del vermell en el diagrama cromàtic Figura 1.9). Aquests resultats indiquen que el color de la pell de l'avantbraç no varia durant el temps d'estudi de manera que les nano-emulsions dels sistemes estudiats contenen concentracions de component oliós (Miglyol 812) i tensioactiu (Cremophor EL o Solutol HS15) de l'1 i el 9% i el 4 i el 6% respectivament i un 90% d'aigua no donen lloc a l'aparició d'eritemes.

No obstant en un estudi realitzat per Lahti et al. es va observar un augment progressiu en el valor relatiu de la coordenada cromàtica a* en funció del temps després de l'aplicació no oclusiva per via tòpica durant només 15 minuts d'àcid benzoic 250mM i de nicotinat de metil 10 mM en mesclades

d'hidrocarburs derivats de petroli i de la irradiació de 0.2 J/cm^2 de llum ultraviolada (UVB). L'assaig es va dur a terme en la part superior de l'esquena de 15 voluntaris. Les mesures de reflectància de la llum es van realitzar mitjançant un espectrofotòmetre després de 20, 40 i 60 minuts de l'extracció de les substàncies i de la irradiació amb UVB (Lahti 1993).

4.6. PERMEACIÓ *IN VITRO* DE PRINCIPIS ACTIUS

Es va estudiar la permeació *in vitro* de lidocaïna en les nano-emulsions amb les relacions oli/tensioactiu 10/90 i 40/60 O/T de diferents sistemes i un mateix contingut d'aigua. Els sistemes escollits van ser l'aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 i aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 ja que en ambdós sistemes es van formar nano-emulsions fins a la relació 40/60 O/T. D'aquesta manera es volia relacionar la composició de les nano-emulsions (efecte de la quantitat d'oli i de tensioactiu i del sistema) amb la velocitat de permeació.

4.6.1. ESTUDI DE LA PERMEACIÓ *IN VITRO* DE LIDOCAÏNA EN NANO-EMULSIONS O/W DEL SISTEMA AIGUA/CREMOPHOR EL/MIGLYOL 812

Es va estudiar la permeació *in vitro* de lidocaïna mitjançant la tècnica de cel·les de difusió en nano-emulsions de fase externa aquosa del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua.

En el compartiment donador es van incorporar 2mL de nano-emulsió amb la concentració màxima de principi actiu solubilitzat per tal d'assolir una activitat termodinàmica del principi actiu en la formulació igual a la unitat i per tant potenciar al màxim la permeació del principi actiu a través de la pell (Moser 2001). En el compartiment receptor s'incorpora una solució salina amb un tampó fosfat (pH 7.4). El procediment que es va dur a terme es descriu en l'apartat 3.3.11. Es van realitzar com a mínim quatre replicats per a cada formulació.

Els resultats obtinguts quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps es mostren en les Figures 4.67 i 4.68.

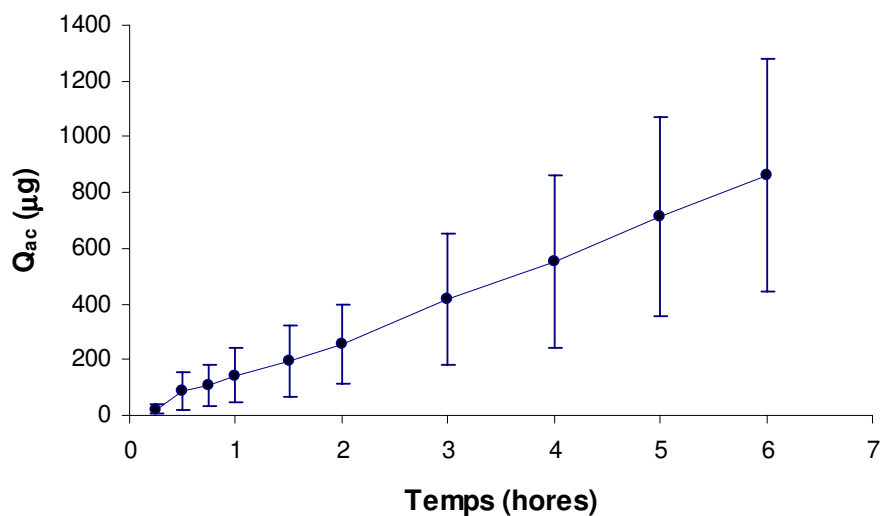


Figura 4.67. Quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps des de la nano-emulsió del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb una relació 10/90 O/T i un 90% d'aigua a través de pell d'orella de porc.

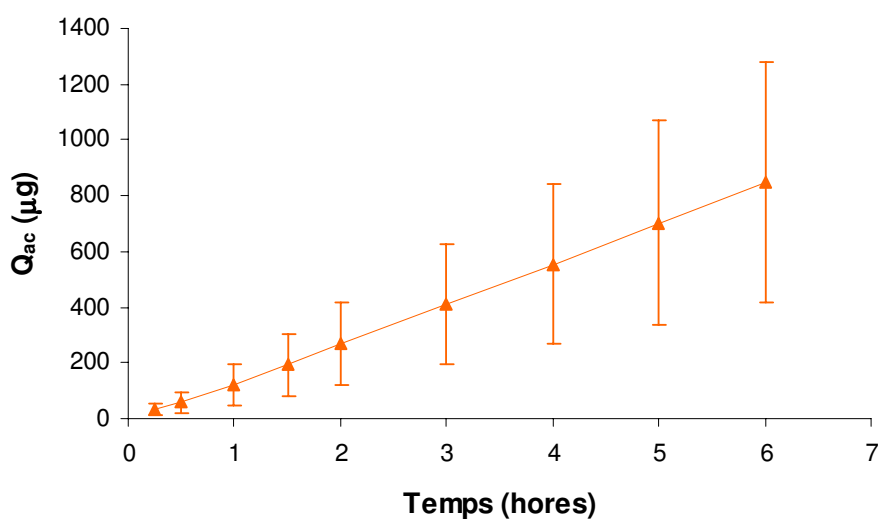


Figura 4.68. Quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps des de la nano-emulsió del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb una relació 40/60 O/T i un 90% d'aigua a través de pell d'orella de porc.

La quantitat de principi actiu acumulat en la solució receptora augmenta progressivament al llarg de l'experiment. Malgrat es desviacions estàndards dels valors de quantitat de lidocaïna acumulada dels diferents replicats són molt elevades (d'uns 50 a un 60%) aquestes desviacions són del mateix ordre que les que s'obtenen en altres estudis de permeació in vitro de fàrmacs a través de la pell (Delgado-Charro 1997; Sintov 2004).

Les velocitats de permeació a l'estat estacionari i els temps de latència per ambdues formulacions s'han calculat a partir de la primera llei de difusió de Fick. Aquest tractament de les dades ha estat possible ja que la concentració de principi actiu en la solució donadora es considera constant en haver solubilitzat la concentració màxima de principi actiu. A més en la solució receptora s'han donat condicions *sink*.

Les fraccions lineals de les corbes obtingudes en els assajos de permeació considerades per als càlculs dels paràmetres de permeació es mostren en la Figura 4.69 juntament amb la recta de regressió obtinguda i el coeficient de determinació lineal R^2 .

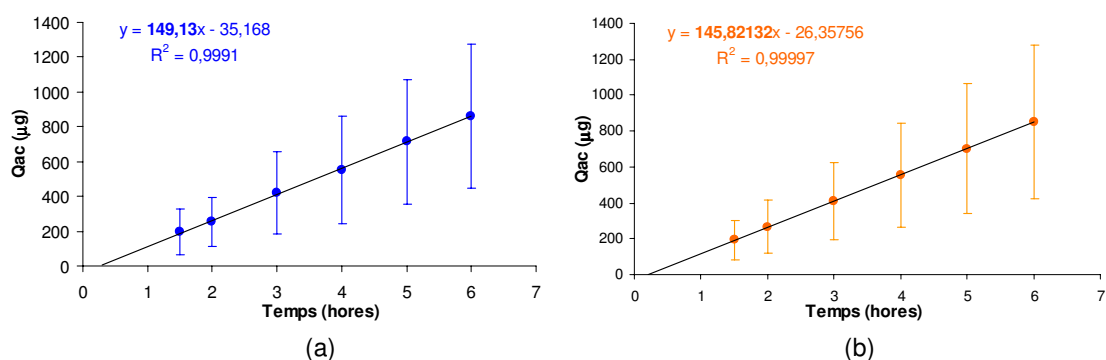


Figura 4.69. Equacions de la recta i coeficients de correlació de la fracció lineal de les corbes obtingudes en els assajos de permeació de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 amb una relació O/T 10/90 (a) i 40/60 (b) i un 90% d'aigua.

Les velocitats de permeació en l'estat estacionari (pendent de la part lineal de la corba) i el temps de latència (extrapolació de la part lineal de la corba a l'eix d'abscisses) es mostren a la Taula 4.70.

Taula 4.70. Velocitats de permeació en l'estadi estacionari i temps de latència de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 nano-emulsions calculats segons la primera llei de Fick de la difusió.

Relació O/T	Velocitat de permeació en l'estat estacionari ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$)	Temps de latència (h)
10/90	149,13	0,24
40/60	145,82	0,17

El test combinat de comparació de les dues rectes de regressió (Mead 2003) segueix una F de Snedecor amb 2 i 15 graus de llibertat de 0,785. Segons aquest valor no hi ha diferències significatives entre les dues nano-emulsions i per tant tampoc entre els paràmetres de permeació calculats.

Les velocitats de permeació de lidocaïna obtingudes mitjançant assajos *in vitro* amb cel·les de difusió de Franz a través de pell d'orella de porc són força elevades tenint en compte els valors trobats en la bibliografia. Sintov *et al.* van estudiar la permeació *in vitro* per la tècnica de cel·les de difusió de Franz de lidocaïna solubilitzada en microemulsions O/W del sistema aigua/tetraglicol/oleat de gliceril:estearat de polietilenglicol-40/miristat d'isopropil (Sintov *et al.* 2004). La velocitat de difusió màxima obtinguda mitjançant la primera llei de difusió de Fick en solubilitzar un 2,5% de lidocaïna en una microemulsió composta per un 30% d'aigua un 10% de component oliós i una relació cotensioactiu:tensioactiu d'1:8 va ser de $68,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$. Tot i que els assajos es van realitzar a través de pell de ratolí s'ha trobat que les velocitats de permeació obtingudes en pell de ratolí són fins i tot més grans que en pell d'orella de porc (Roberts 1990; Pendlington 1998).

Els temps de latència obtinguts per ambdues formulacions són extraordinàriament baixos 0,24 i 0,17 h per a les relacions 10/90 i 40/60 O/T respectivament. Un temps de latència baix és un factor crític en el cas de formulacions amb acció anestèsica i analgèsica aplicades per via tòpica. En les formulacions comercials que contenen lidocaïna es necessari un temps d'aplicació de la formulació llarg per a causar l'acció anestèsica i analgèsica desitjada (Miller 2001).

4.6.2. ESTUDI DE LA PERMEACIÓ *IN VITRO* DE LIDOCAÏNA EN NANO-EMULSIONS O/W DEL SISTEMA AIGUA/SOLUTOL HS 15/MIGLYOL 812

Es va dur a terme un estudi equivalent amb lidocaïna solubilitzada fins la seva concentració màxima en nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb les relacions O/T 10/90 i 40/60 i un 90% d'aigua. Es van realitzar com a mínim quatre replicats per a cada formulació.

La quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps es mostra en la Figura 4.71.

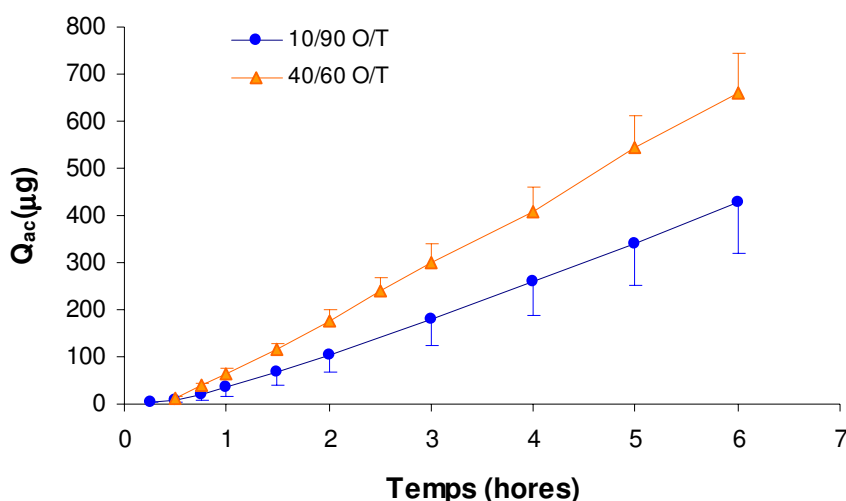


Figura 4.71. Quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps, des de nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb un 90% d'aigua a través de pell d'orella de porc.

Igual que en el sistema anterior la quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora augmenta progressivament al llarg del temps. Les quantitats acumulades de lidocaïna solubilitzada en la nano-emulsió amb una relació O/T 40/60 són superiors a les de la nano-emulsió amb una relació O/T 10/90.

Les fraccions lineals de les corbes obtingudes en els assajos de permeació considerades per als càlculs dels paràmetres es mostren en la Figura 4.72

juntament amb la recta de regressió obtinguda i el coeficient de de determinació lineal R^2 .

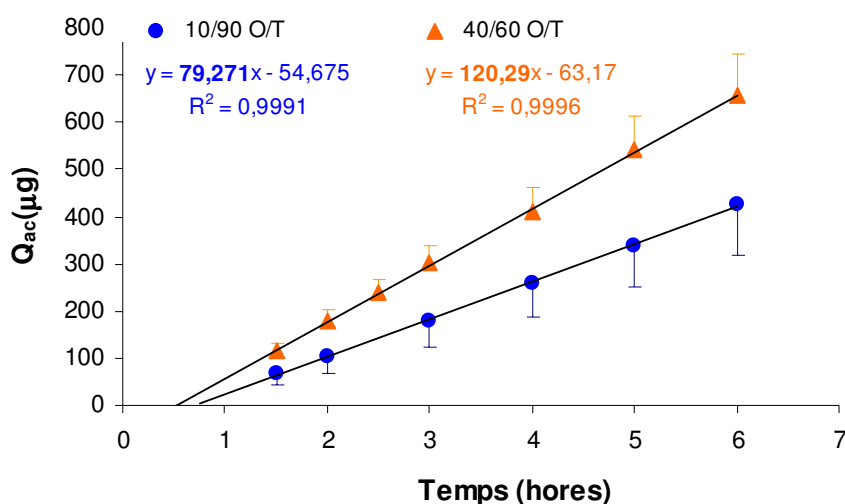


Figura 4.72. Equacions de la recta i coeficients de correlació de la fracció lineal de les corbes obtingudes en els assajos de permeació de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 amb una relació O/T 10/90 (a) i 40/60 (b) i un 90% d'aigua.

Les velocitats de permeació en l'estat estacionari i els temps de latència es mostren en la Taula 4.71.

Taula 4.71. Velocitats de permeació en l'estat estacionari i temps de latència de lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 calculats segons la primera llei de Fick de la difusió.

Relació O/T	Velocitat de permeació en l'estat estacionari ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$)	Temps de latència (h)
10/90	79,27	0,69
40/60	120,29	0,52

El test combinat de comparació de les dues rectes de regressió (Mead 2003) segueix una F de Snedecor amb 2 i 16 graus de llibertat de 481. Segons aquest valor les diferències entre les dues nano-emulsions són molt significatives (al nivell 0%) sent els paràmetres de permeació calculats diferents.

Mitjançant la permeació *in vitro* de lidocaïna solubilitzada en el sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 es poden establir diferències entre les velocitats de permeació obtingudes per ambdues formulacions de manera que la nano-emulsió amb una relació O/T més elevada presenta la velocitat també més elevada (120/29). Tot i que la nano-emulsió amb una relació O/T 40/60 té una mida de gota superior a la nano-emulsió amb la relació O/T 10/90. Alguns autors consideren que una mida de gota petita potencia la penetració del principi actiu quan es administrat per via tòpica (Friedman (1993-1995; Schwarz et al (1995)). Estudis recents sobre la penetració de tetracaïna solubilitzada en una emulsió i una nano-emulsió d'igual composició no van mostrar diferències significatives entre la mida de gota i la velocitat de permeació del principi actiu a través de la pell (Izquierdo *enviat a publicar*). Cal tenir en compte la composició de l'estrat corni i la via principal de permeació dels principis actius a través seu la intercel.lular (Potts (1992)). Així és d'esperar que la lidocaïna solubilitzada en la interfície o en l'interior de la fase dispersa oliosa travessi més ràpidament l'estrat corni quan la relació oli/tensioactiu és mes elevada doncs l'espai intercel.lular es de naturalesa lipídica (Elias (1983)).

Les velocitats de permeació de la lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions del sistema aigua/Solutol HS15/Miglyol 812 són inferiors a les obtingudes quan els vehicles són les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812.

Els temps de latència obtinguts són baixos i molt similars per ambdues formulacions encara que quan els vehicles són les nano-emulsions del sistema aigua/Cremophor EL/Miglyol 812 els temps de latència obtinguts són menors. Aquests resultats indiquen que la lidocaïna permea ràpidament solubilitzada en les nano-emulsions estudiades a través de la pell.

4.6.3. ESTUDI DE LA PERMEACIÓ *IN VITRO* DE LIDOCAÏNA EN UNA PREPARACIÓ COMERCIAL

Es va estudiar la permeació *in vitro* de lidocaïna a través de la pell d'orella de porc d'un gel comercialitzat que contenia un 2% d'hidroclorur de lidocaïna, hidròxid sòdic, àcid clorhídric, carbònemers, glicerina i aigua purificada. El gel està indicat per al tractament i extracció de berrugues i s'aplica per via tòpica.

En el compartiment donador es va incorporar 1 g de gel. El compartiment receptor s'omple amb una solució salina amb un tampó fosfat (pH 7.4). El procediment que es va dur a terme es el mateix que en els assajos de permeació anteriors.

El temps experimental de l'assaig va ser de 24h. per assegurar la permeació de lidocaïna a través de la pell. Es van dur a terme quatre replicats. La quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps es mostra en la Figura 4.73.

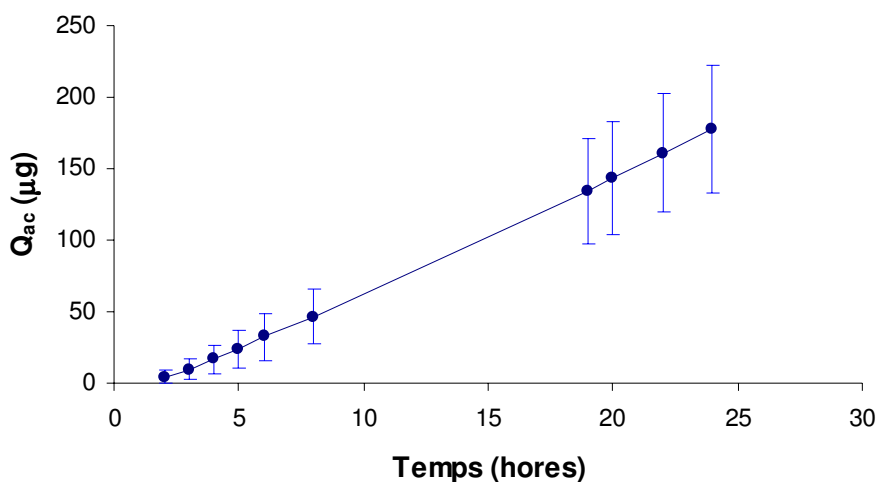


Figura 4.73. Quantitat de lidocaïna acumulada en la solució receptora en funció del temps, des d'un gel comercial amb un 2% de lidocaïna a través de pell d'orella de porc.

Com s'observa durant el temps experimental es van obtenir de manera progressiva quantitats creixents de lidocaïna acumulades en la solució receptora. El perfil de la corba obtinguda és lineal durant el temps experimental de 24h.

La fracció lineal de la corba obtinguda en l'assaig de permeació que ha estat considerada per als càlculs dels paràmetres es mostra en la Figura 4.74 juntament amb la recta de regressió obtinguda i el coeficient de determinació lineal R^2 .

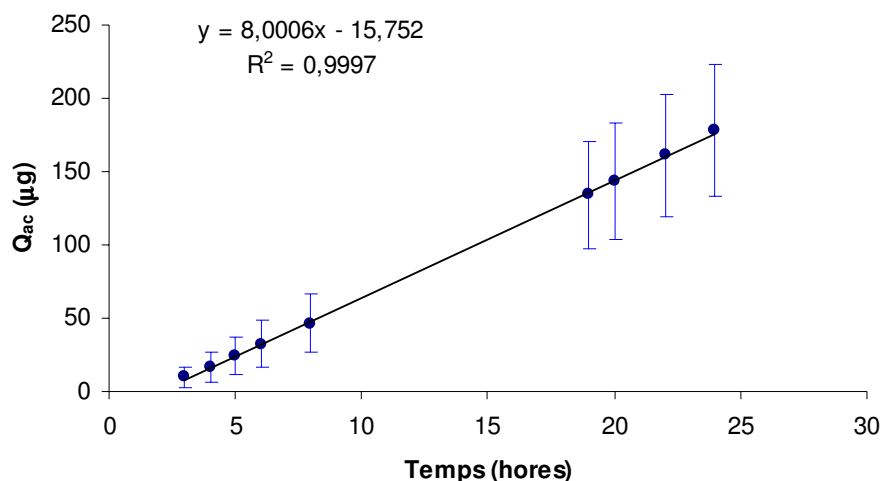


Figura 4.74. Equació de la recta i coeficient de correlació de la fracció lineal de les corbes obtinguda en l'assaig de permeació de lidocaïna incorporada en un gel comercial.

En la Taula 4.72 es mostra la velocitat de permeació en l'estat estacionari i el temps de latència obtinguts.

Taula 4.72. Velocitat de permeació en l'estat estacionari i temps de latència de lidocaïna incorporada en un gel comercial calculats segons la primera llei de Fick de la difusió.

Velocitat de permeació en l'estat estacionari ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$)	Temps de latència(h)
8,00	1,97

La velocitat de permeació obtinguda de la lidocaïna en estat estacionari és molt inferior fins a 10 vegades com a mínim a les obtingudes en els assajos de permeació *in vitro* en nano-emulsions amb un 90% d'aigua. El temps de

latència és gairebé de 2 hores—un temps 3 vegades superior com a mínim als calculats per a la lidocaïna solubilitzada en nano-emulsions.

Amselem et al. han estudiat que les variacions en la viscositat de nano-emulsions amb diclofenac mitjançant l'addició de quantitats diferents de Carbopol 940 (agent viscositzant) no afecten significativament l'activitat farmacològica (Amselem—1998). Així—es pot predir que les velocitats de permeació en l'estat estacionari trobades per a les nano-emulsions serien comparables a les que s'obtidrien en gelificar les formulacions. D'aquesta manera—es pot postular que les nanogotes d'oli de les nano-emulsions estudiades potencien la permeació de lidocaïna enfront la preparació comercial.

Les nano-emulsions O/W estudiades resulten ser prometedors vehicles per la penetració de lidocaïna—en particular— a través de la pell—i d'altres principis actius— en general. Les formulacions utilitzades són biocompatibles i contenen una elevada quantitat d'aigua. A més—estan absents de promotors de la penetració que—tot i que el seu objectiu és d'augmentar la velocitat de permeació—poden causar efectes adversos locals indesitjables.