



Estudio de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O: relación entre tamaño de gota y propiedades

M^a Carmen Lendínez Gris

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Estudio de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O: relación entre tamaño de gota y propiedades

M^a Carmen Lendínez Gris



Universitat de Barcelona



CSIC

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Programa de doctorado: “Ciència i Tecnologia de Materials”

**Estudio de emulsiones altamente concentradas de tipo
W/O: relación entre tamaño de gota y propiedades**

M^a Carmen Lendínez Gris

Directores de tesis:

Prof. Conxita Solans i Marsà
Consejo Superior de Investigaciones
Científicas (CSIC)

Dr. Albert M. Manich Bou
Consejo Superior de Investigaciones
Científicas (CSIC)

Tutora:

Dra. Carmen González Azón
Universitat de Barcelona (UB)

Barcelona, 2015

Breve historia de una tesis, multitud de agradecimientos

Todo empezó hace unos años, cuando era joven... Cuando acabé la carrera, Amalia me presentó a Conxita, y ella a su vez, el apasionante mundo de las emulsiones altamente concentradas. Conxita me dio la oportunidad de realizar un máster, y recuerdo que me insistía en hacer los cursos de doctorado y yo por aquel entonces lo del doctorado no lo tenía muy claro. Pero cuando finalicé el máster, ya estaba atrapada irremediabilmente en el mundo de la investigación y ahí empezó esta tesis. Y hasta aquí la breve historia que no habría sido posible sin la ayuda y el apoyo de muchas personas, así que mis más sinceros agradecimientos a:

Als meus directors, la Professora Conxita Solans i el Dr. Albert Manich.

Conxita, gràcies per donar-me l'oportunitat d'aprendre, per recolzar-me, per mantenir la porta sempre oberta, per la teva dedicació i sobretot, gràcies per haver entès la meva situació, sens dubte, sense el teu suport, aquesta tesi no hagués estat possible.

Albert, ja sé que ens coneixem des de fa menys temps, però també et voldria donar les gràcies per haver acceptat ser el meu director, per la teva dedicació i per la teva ajuda amb els dissenys d'experiments.

Al Dr. Jordi Esquena per haver estat el meu director de tesi durant els primers anys, pel seu suport amb els raigs X i sobretot, per haver entès la necessitat del canvi de director de tesi.

A mi tutora, la Dra. Carmen González, por aceptar ser mi tutora y por ayudarme siempre con los trámites burocráticos.

A la Dra. Núria Llorca per la seva ajuda en tots els tràmits que han acompanyat a la realització d'aquesta tesi.

No voldria deixar de donar les gràcies a una persona que malauradament ja no es troba entre nosaltres. Voldria agrair tot el suport que la Núria Azemar em va oferir durant els anys que vam compartir.

Núria, et vaig dir que no llegia la tesi si no venies però no ho podré complir. Gràcies per tots els teus consells, les estonetes tan agradables que vam compartir, gràcies per la teva amistat.

Agradecimientos

A tots els companys dels grups de Química Col·loïdal i Química de Superfícies, de l'Institut de Química Avançada de Catalunya (M^a José, Laura, Maria, Rodrigo, Ferran, Jérémie, Adaris, Montse, Míriam, Marta, Aurora, Natàlia, Romà, José Luis, Rebeca, Eduard, Susana, Yoran, Tirso) i als que van passar per aquí (Amalia, Pilar, Paqui, Carmen, Dani, Jonathan, Cristina, Elena, Silvia, Neus, Txell, María). Gràcies a tots pels moments compartits.

Particularmente, quisiera dar las gracias a Susana y Maria, que siempre están dispuestas a ayudar en lo que haga falta y con las que más he compartido el día a día de esta tesis.

Gracias por todo lo que habéis hecho por mí durante este tiempo, sin lugar a dudas, me habéis facilitado el camino.

A la Laura, per la seva ajuda amb la burocràcia i el suport moral.

A la Marta, que encara que ens coneixem fa poc, sempre està disposada a donar un cop de mà pel que faci falta. A qui s'assemblarà....

A Amalia, ya que si no me hubiese presentado a Conxita esta tesis no hubiese sido posible.

A Lúdia, a las cuatro "Isabeles" y Francesc, con los que he compartido unas cuantas "xerradetes".

A María José Bleda por su significativa disponibilidad para resolver dudas de estadística.

Llegados a este punto, también quisiera dar las gracias a toda la familia (y aquí está incluida la familia política) y amigos, que siempre están ahí, tanto para las fiestas como para ayudar cuando se necesita. Y sobre todo, quiero agradecerles que no se hayan quejado demasiado porque en los últimos meses no les he podido dedicar mucho tiempo. ¡¡Tranquilos, que lo recuperaremos!!

A Tere, una fan indiscutible de las emulsiones altamente concentradas.

A mis compañeros del cuarteto, Lydia, Héctor y Miguel Ángel, por soportar mi falta de estudio en los ensayos durante la etapa final de esta tesis.

A Mónica y Rafa, Ana y Manel, Isabel y Luis, sin duda tres parejas geniales que ofrecen soporte incondicional garantizado para lo que sea. En definitiva, personas maravillosas.

Por último, y no por ello menos importante, quisiera dar las gracias a:

Mis hermanos, Ana y Pedro, y mi padre, Ildefonso:

¿Qué os voy a decir que no sepáis ya? La vida nos dio un golpe muy duro, pero conseguimos levantarnos y yo sin vosotros no hubiese podido recuperar las fuerzas para seguir adelante. Así que esta tesis también es vuestra. Mil gracias por ser como sois, no cambiéis nunca.

Miguel Ángel, amigo, compañero y desde hace poco, ¡¡marido!!

Gracias por saber entender la necesidad que tenía de finalizar este proyecto y por apoyarme incondicionalmente durante todo este tiempo a pesar de las dificultades.

A M^a Carmen Gris Bautista, madre y amiga.

Mama, estés donde estés, quiero que sepas que esta tesis también es tuya. Gracias por todo lo que me enseñaste en los años que pudimos compartir y por cuidar tan bien de mí cuando lo necesitaba.

Índice

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	7
2.1. Emulsiones.....	9
2.1.1. Introducción.....	9
2.1.2. Formación.....	10
2.1.3. Estabilidad.....	17
2.2. Emulsiones altamente concentradas.....	23
2.2.1. Propiedades.....	23
2.2.2. Aplicaciones.....	32
2.3. Liberación de moléculas activas desde emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras.....	34
3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	37
4. EXPERIMENTAL.....	43
4.1 Materiales.....	45
4.1.1. Componentes de la fase oleosa de las emulsiones.....	45
4.1.2. Componentes tensioactivos.....	47
4.1.3. Componentes de la fase acuosa de las emulsiones.....	51
4.1.4. Moléculas activas.....	52
4.1.5. Otros productos.....	53
4.2. Equipos.....	54
4.3. Métodos.....	60
4.3.1. Determinación de la temperatura HLB o PIT.....	60
4.3.2. Formación de emulsiones altamente concentradas.....	61
4.3.3. Determinación del tamaño de gota.....	62
4.3.4. Estabilidad de las emulsiones.....	66
4.3.5. Propiedades reológicas.....	67
4.3.6. Cuantificación de moléculas activas.....	72
4.3.7. Liberación de moléculas activas.....	78
4.3.8. Diseño de experimentos.....	79
4.3.9. Escalado.....	88

4.3.10. Métodos estadísticos.....	89
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	91
5.1 Selección de componentes y del método de emulsificación.....	93
5.1.1. Selección de los componentes oleosos y tensioactivos.....	93
5.1.2. Selección de las moléculas activas modelo.....	100
5.1.3. Selección del método de emulsificación.....	104
5.1.4. Resumen de la selección de componentes y del método de emulsificación.....	111
5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas del tipo W/O en sistemas agua/tensioactivo no iónico/aceite.....	112
5.2.1. Formación.....	112
5.2.1.1. Sin parabenos.....	112
5.2.1.2. Con parabenos.....	116
5.2.2. Caracterización.....	121
5.2.2.1. Tamaño de gota.....	121
5.2.2.2. Estabilidad.....	124
5.2.2.3. Propiedades reológicas.....	132
5.2.3. Resumen de los resultados de formación y caracterización.....	136
5.3. Estudios de liberación de moléculas activas desde emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras.....	137
5.3.1. Emulsiones con metilparabeno.....	137
5.3.2. Emulsiones con etilparabeno.....	139
5.3.3. Emulsiones con propilparabeno.....	141
5.3.4. Emulsiones con una mezcla de los tres parabenos.....	142
5.3.5. Resumen de los resultados de liberación.....	146
5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas.....	147
5.4.1. Selección de las composiciones a estudiar.....	147
5.4.2. Tamaño de gota.....	158
5.4.3. Propiedades reológicas.....	162

5.4.4. Liberación de moléculas a soluciones receptoras.....	177
5.4.5. Optimización del sistema modelo.....	189
5.4.6. Escalado de la formulación optimizada.....	195
5.4.7. Variación del componente oleoso y tensioactivo en la formulación optimizada.....	199
5.4.8. Resumen de la modelización de emulsiones altamente concentradas.....	205
6. CONCLUSIONES.....	207
7. BIBLIOGRAFÍA.....	213
8. GLOSARIO.....	229
9. ANEXOS.....	233
A51.2.1. Estabilidad de las soluciones de parabenos.....	235
A51.2.2. Comparación de tamaño de gota con y sin parabenos....	240
A52.2.1. Distribuciones de tamaño.....	242
A52.2.2. Test de Kruskal-Wallis.....	243
A52.2.3. Espectros de retrodifusión de luz o “backscattering”	246
A52.2.4. Disminución backscattering (BS) vs tiempo.....	250
A52.2.5. Distribuciones de tamaño antes de la desestabilización.	251
A52.2.6. Tamaños de gota y polidispersidad respecto al tiempo...	252
A52.2.7. Evolución de las distribuciones de tamaño de gota con el tiempo.....	253
A54.1.1. Matriz de un diseño de experimentos factorial 2^{6-2}	256
A54.2.1. Distribuciones de tamaño.....	257
A54.3.1. Reogramas: barridos de deformación.....	259
A54.3.2. Reogramas: barridos de frecuencia.....	261
A54.3.3. Reogramas: ensayos de fluencia.....	263
A54.4.1. Curvas de liberación.....	265
A54.4.2. Valores de significación en los modelos de liberación de metilparabeno.....	267
A54.4.3. Valores de significación en los modelos de liberación de etilparabeno.....	268
A54.4.4. Valores de significación en los modelos de liberación de propilparabeno.....	269

ÍNDICE

A54.6.1. Distribuciones de tamaño, barridos de deformación y frecuencia de los escalados.....	270
A54.7.1. Comparación de la distribución de tamaño de la formulación óptima con otras formulaciones.....	271
A54.7.2. Comparación de las propiedades reológicas de la formulación óptima con otras formulaciones.....	272
A54.7.3. Comparación de la liberación de metilparabeno de la formulación óptima con otras formulaciones.....	274

1. Resumen

Las emulsiones son dispersiones de dos líquidos inmiscibles, generalmente estabilizadas por moléculas tensioactivas. Cuando la fracción en volumen de fase dispersa es superior o igual a 0,74 (valor que corresponde al máximo empaquetamiento de gotas esféricas indeformables y monodispersas) se denominan altamente concentradas. Dichas emulsiones tienen una elevada relación superficie/volumen y propiedades reológicas viscoelásticas. Además, al ser sistemas dispersos, poseen regiones hidrófilas y lipófilas bien definidas que permiten la incorporación de moléculas de diferente naturaleza. Por todo ello, tienen aplicaciones en el campo cosmético, alimentario, farmacéutico, en síntesis de materiales, etc. Por ejemplo, se pueden utilizar como vehículos de moléculas activas en formulaciones farmacéuticas, como medios de reacción para la obtención de moléculas de valor añadido, y como plantillas en la síntesis de materiales.

En la mayoría de aplicaciones, los procesos de difusión desempeñan un papel importante y por este motivo, se han estudiado los mecanismos de difusión para determinar la influencia de las propiedades de las emulsiones en dichos mecanismos. Sin embargo, no se ha estudiado de forma simultánea la influencia que los factores de composición y formación podrían ejercer sobre los procesos de liberación. Por este motivo, el objetivo principal de esta tesis, ha sido el de modelizar la formulación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O estudiando la relación entre el tamaño de gota, sus propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas, incorporadas en la fase dispersa, a soluciones receptoras.

Para alcanzar dicho objetivo, se realizó un estudio bibliográfico para seleccionar componentes biocompatibles y biodegradables para formar emulsiones altamente concentradas, así como, determinar las metodologías más adecuadas para su formación, caracterización y estudio de propiedades. De este modo, se seleccionaron tensioactivos derivados de ésteres como el poligliceril-2 diisoestearato (IS-202P), el monooleato de sorbitán (Span80) y un polioxietileno de sorbitán (Tween80), un alcohol graso etoxilado (Brij52), un derivado del aceite de ricino etoxilado (CremophorWO7), y dos tensioactivos poliméricos de bloque o copolímeros (SynperonicL2 y PluronicL121). Como componentes oleosos, se seleccionaron hidrocarburos alifáticos (aceite de parafina y escualano), un éster derivado del ácido oleico (decil oleato) y un triglicérido derivado de los ácidos grasos caprílico/cáprico (triglicéridos de cadena media).

Se realizaron estudios preliminares de formación de emulsiones altamente concentradas con el objetivo de determinar los sistemas más adecuados con

1. RESUMEN

los componentes seleccionados. Así se seleccionaron los sistemas solución acuosa/Span80/aceite de parafina, solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano. También se estudiaron distintos métodos de formación de emulsiones altamente concentradas, como el método de concentración de una emulsión diluida por centrifugación, el método de agitación de los componentes en su composición final, el método de inversión de fases o método PIT, así como el método convencional de adición del componente acuoso a la mezcla del componente oleoso y tensioactivo. El método de adición, resultó ser el más apropiado para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O con los componentes seleccionados.

Utilizando el método de formación previamente seleccionado, se determinaron las zonas de formación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en los sistemas seleccionados. Posteriormente se seleccionaron distintas composiciones para caracterizar tamaño de gota, estabilidad, así como, propiedades reológicas. En base a los resultados de caracterización, se seleccionó el sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina como sistema modelo, porque en dicho sistema se formaron las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O más estables y con menor tamaño de gota.

Asimismo, se seleccionaron como moléculas activas modelo metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno. Al incorporar los parabenos en la fase dispersa de emulsiones altamente concentradas seleccionadas, prácticamente no variaban ni la estabilidad, ni sus propiedades reológicas, aunque en alguna emulsión se observó un ligero aumento del tamaño de gota. Por este motivo se concluyó que dichas moléculas eran apropiadas para ser utilizadas como principios activos modelo para estudiar su liberación desde emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras. Dichos estudios, se llevaron a cabo utilizando membranas de diálisis. Mediante este estudio se confirmó que el metilparabeno se liberaba más rápidamente que el etilparabeno, y éste, a su vez, que el propilparabeno. Además se comprobó que el comportamiento era el mismo si se estudiaban los parabenos separadamente o en mezclas de los tres. Así se decidió estudiar la liberación de una mezcla de los tres parabenos caracterizando simultáneamente los tres perfiles de liberación.

Una vez seleccionados el sistema modelo (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) y las moléculas activas modelo (metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno), se aplicaron dos diseños de experimentos. El primero, un diseño central compuesto, permitió relacionar el tamaño de gota y las propiedades reológicas con variables de composición y formación de las

emulsiones en ausencia de parabenos. Después, se procedió a realizar un diseño factorial fraccionado para obtener un modelo empírico que permitiese modelizar la formulación de emulsiones altamente concentradas, estudiando el tamaño de gota, sus propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas. Para ello se formularon distintas emulsiones en el sistema modelo incorporando una mezcla de los tres parabenos en la fase dispersa. Para cada emulsión se determinó el tamaño de gota, diferentes parámetros reológicos así como las curvas de liberación de los tres parabenos en función del tiempo. Al realizar el análisis de los resultados, se obtuvieron modelos empíricos para todas las propiedades determinadas así como su relación con los factores de composición y formación. Por ello, también se pudo relacionar la variación de las distintas propiedades respecto a la variación del tamaño de gota. En una segunda etapa, se realizó una selección de las propiedades determinadas para proceder a la optimización de la formulación mediante superficies de respuesta. Se seleccionaron, como variables a optimizar, el tamaño de gota de la emulsión, la deformación crítica o “critical strain”, el “melting strain” y el módulo elástico. Además, con el objetivo de comprobar si se podrían optimizar las curvas de liberación mediante la utilización de diseños de experimentos, se escogieron dos puntos de dichas curvas, el porcentaje liberado a 8 horas y a 24 horas. Así se obtuvo un modelo que permitió formular emulsiones altamente concentradas de tipo W/O “a medida”, optimizando el tamaño de gota y sus propiedades reológicas, así como modulando la liberación de las moléculas activas incorporadas.

Se realizó un estudio comparativo de la formulación optimizada variando el aceite y el componente tensioactivo. Al variar el componente oleoso, se observó una ligera disminución de tamaño de gota pero no se detectaron diferencias significativas en las propiedades reológicas. Al modificar el tensioactivo, se observó que el tamaño de gota aumentaba significativamente, y que las propiedades reológicas variaban. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la liberación de metilparabeno ni con la modificación del aceite ni con la modificación del tensioactivo. Comparando todas las variables a la vez, se determinó que influía más la variación del componente tensioactivo que la del aceite, influyendo más la estructura del tensioactivo que la polaridad del componente oleoso.

También se realizó un estudio preliminar de escalado de la formulación óptima. Durante el proceso de escalado se mantuvieron constantes tanto los parámetros geométricos del reactor y de las varillas de agitación, como el tiempo total de adición de fase acuosa. Sin embargo, se mantuvo la velocidad de agitación de la formulación optimizada a escala pequeña y también se

1. RESUMEN

realizó un ensayo a una velocidad inferior. Mediante un análisis estadístico se determinó que la emulsión preparada durante el escalado realizado a menor velocidad era más parecida a la formulación original. Además, es destacable que a pesar de la complejidad de los procesos de difusión que tienen lugar en las emulsiones altamente concentradas, en el escalado se obtuvieron resultados de liberación razonablemente similares.

Mediante la utilización de diseños de experimentos y seleccionado un sistema modelo de tipo componente acuoso/tensioactivo no iónico/componente oleoso, se ha optimizado la formulación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, obteniendo un modelo empírico que ha permitido optimizar el tamaño de gota, propiedades reológicas y modular el perfil de liberación de moléculas activas incorporadas en el componente acuoso de dichas emulsiones.

2. Introducción

2.1. Emulsiones

2.1.1. Introducción

Una emulsión es una dispersión de dos líquidos inmiscibles que se estabilizan generalmente con moléculas tensioactivas [Becher, 1972; Hunter, 2001]. Su tamaño de gota suele ser del orden de micras por lo que suelen presentar un aspecto lechoso. Las emulsiones son termodinámicamente inestables y por ello se requiere aplicar energía para su formación. Aunque debido a su inestabilidad termodinámica tienden a la separación de fases, puede conseguirse elevada estabilidad cinética si se estabilizan convenientemente.

Las emulsiones se clasifican según diversos criterios [Bancroft, 1911; Becher, 1972; Solans, 2004]. En la figura 21.1, se muestra un esquema de emulsiones clasificadas de acuerdo a dos criterios: la naturaleza de las fases y fracción en volumen de la fase dispersa.

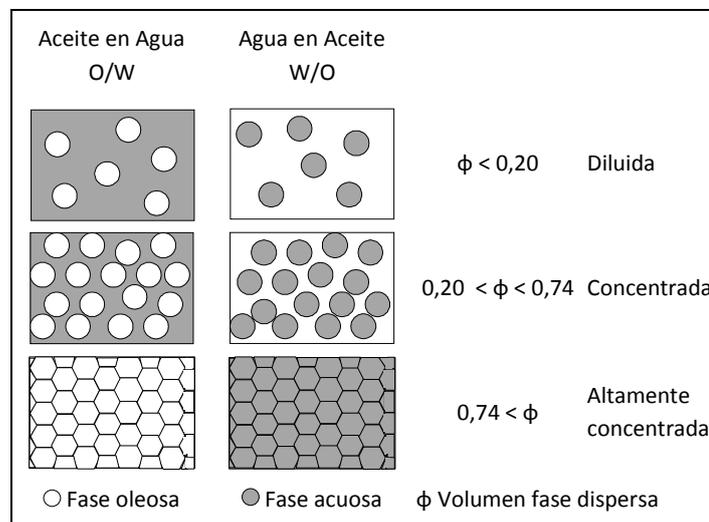


Figura 21.1. Clasificación de las emulsiones según la naturaleza de las fases y la fracción de fase dispersa.

2. INTRODUCCIÓN

Según la naturaleza de la fase dispersa, se distingue entre emulsiones:

- aceite en agua (O/W), la fase dispersa es oleosa y la fase continua es acuosa.
- agua en aceite (W/O), la fase dispersa es acuosa y la fase continua es oleosa.

Existen asimismo, emulsiones con estructuras más complejas, son las denominadas emulsiones múltiples en las que una emulsión de tipo W/O o O/W, se halla dispersa en una fase acuosa u oleosa, dando lugar a emulsiones O/W/O o W/O/W respectivamente [Florence, 1982].

Según el volumen de fase dispersa, las emulsiones se clasifican en [Lissant, 1966; Princen, 1987]:

- diluidas: el volumen de fase dispersa es igual o inferior al 20 % y su comportamiento reológico es newtoniano;
- concentradas: el volumen de fase dispersa está entre aproximadamente el 20 % y el 74 %, y su comportamiento reológico es no newtoniano;
- altamente concentradas: son emulsiones en las que el volumen de fase dispersa es igual o superior al 74 %. Dicho porcentaje corresponde a un empaquetamiento compacto de gotas esféricas indeformables y monodispersas. Su comportamiento reológico es viscoelástico.

Además, las emulsiones también se pueden clasificar según el tamaño. Así, cuando el diámetro de gota de la fase dispersa es inferior a unos 200 nm, las emulsiones reciben el nombre de nano-emulsiones [Nakajima, 1993; Solans, 2003b; Solans, 2005; Tadros, 2013b].

2.1.2. Formación

Para formar una emulsión se requiere aportación de energía debido a su inestabilidad termodinámica. Inicialmente la fase acuosa y oleosa, al ponerlas en contacto, están separadas mediante la mínima área interfacial posible, lo que implica una situación de baja energía. Al formarse la emulsión, se produce un aumento del área interfacial y, en consecuencia, un aumento de estado

energético. El cambio del estado de baja energía hacia el estado de alta energía se expresa mediante el incremento en la energía libre de Gibbs, ΔG , (ecuación 21.1):

$$\Delta G = \gamma \Delta A - T \Delta S \quad \text{Ec. 21.1}$$

Dónde γ es la tensión interfacial entre las dos fases, ΔA es el incremento de área interfacial, T es la temperatura y ΔS es el incremento de entropía del sistema.

El hecho de que la energía necesaria para formar una emulsión sea elevada, se atribuye a que, generalmente, $\gamma\Delta A$ es mucho mayor que $T\Delta S$ [Walstra, 1993; Tadros, 2013b]. Las emulsiones pueden estabilizarse creando una barrera de energía que, dependiendo de la naturaleza y concentración de sus componentes, así como, del método de preparación y la temperatura, puede retardar su desestabilización. Por este motivo pueden poseer una elevada estabilidad cinética [Hunter, 2001].

Los métodos de formación de emulsiones se pueden clasificar en métodos de alta y baja energía. Los métodos de alta energía o de dispersión, se basan en la aportación de energía externa al sistema, generalmente mecánica, y el tamaño de gota resultante depende de la magnitud de dicha aportación. Por ejemplo, utilizando equipos como agitadores, mezcladores, turbinas, homogeneizadores, sondas de ultrasonido, etc., se pueden formar emulsiones mediante este método. Los métodos de baja energía o de condensación, son métodos en los que la energía proviene de la energía interna de los propios componentes de las emulsiones, y el tamaño de gota resultante no depende de la energía aportada al sistema. Dentro de éstos métodos están los métodos de inversión de fases y los de auto-emulsificación o emulsificación espontánea. Con los métodos de baja energía o de condensación se consiguen, generalmente, tamaños de gota más pequeño y menos polidisperso, aunque actualmente se han optimizado los métodos de alta energía y, por ejemplo, la utilización de membranas ha permitido reducir la polidispersidad de las emulsiones formadas por estos métodos [Matos, 2013].

Métodos de alta energía o de dispersión

En los métodos de alta energía primero se forman las gotas y después se produce su deformación y rotura en gotas más pequeñas. Para formar una gota

2. INTRODUCCIÓN

primero se tiene que superar la presión de Laplace (Δp) expresada según la ecuación 21.2:

$$\Delta p = \gamma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad \text{Ec. 21.2}$$

dónde γ es la tensión interfacial, y r_1 y r_2 son los dos radios principales de curvatura [Walstra, 1993].

Sin embargo, cuando se trata de una gota perfectamente esférica los dos radios son iguales y la ecuación se simplifica:

$$\Delta p = \frac{2\gamma}{r} \quad \text{Ec. 21.3}$$

Como ejemplo, para formar una gota con un radio de $0,2 \mu\text{m}$ siendo la tensión interfacial de $0,01 \text{ N/m}$ (tensión más pequeña que la tensión agua-aire: $0,07 \text{ N/m}$), la presión de Laplace sería de 10^5 Pa (aproximadamente 1 atmósfera) [Walstra, 1993]. Este ejemplo muestra el elevado aporte energético que se necesita para poder formar una emulsión. Asimismo, otros factores como el régimen de flujo, las densidades de las dos fases, y la presencia de moléculas tensioactivas influyen en la formación de emulsiones.

El régimen de flujo viene determinado por el número de Reynolds (Re) [Levin, 2006] (ecuación 21.4) :

$$Re = \frac{D^2 w \rho}{\eta} \quad \text{Ec. 21.4}$$

Dónde D : el diámetro de giro del agitador, w : la velocidad rotacional, ρ , es la densidad del medio y η : la viscosidad del medio.

Para números de Re menores o iguales a 1000 se considera que el flujo es laminar y para valores mayores de 2000 se considera que el flujo es turbulento. Para un flujo laminar, la cizalla es el factor predominante y para un flujo

turbulento predominan mayoritariamente las diferencias de presión aunque también hay otros efectos a tener en cuenta como la viscosidad y la inercia [Tjaberinga, 1993]. Así, en régimen de flujo laminar al aumentar la cizalla se suelen obtener tamaños de gota menores y en régimen turbulento, si predomina el efecto de la viscosidad se suelen obtener tamaños más pequeños que si predomina el efecto de la inercia [Tjaberinga, 1993].

Las densidades de la fase continua y dispersa también afectan al proceso de formación de gotas mediante la influencia que ejercen en el tiempo necesario para deformarlas (τ_{def}). Así, como se refleja en la ecuación 21.5, un aumento en la viscosidad de la fase dispersa (η_D) a un valor determinado de cizalla (σ_{ext}), implica un aumento en el tiempo de deformación [Walstra, 1993; Tadros, 2009].

$$\tau_{def} = \frac{\eta_D}{\sigma_{ext}} \quad \text{Ec. 21.5}$$

Las moléculas tensioactivas pueden clasificarse en catiónicas, aniónicas, anfotéricas y no iónicas, y poseen una región polar o hidrófila y otra apolar o lipófila (figura 21.2). Según el balance hidrófilo-lipófilo o HLB, introducido por Griffin [Griffin, 1949], los tensioactivos con valores de HLB pequeños forman emulsiones de tipo W/O y los que poseen valores de HLB elevados, forman emulsiones de tipo O/W.

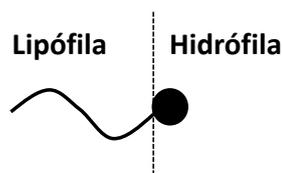


Figura 21.2. Esquema de una molécula tensioactiva con la región apolar, o lipófila, y polar, o hidrófila.

La presencia de moléculas tensioactivas provoca una disminución de la tensión interfacial facilitando el proceso de formación de gotas y además, evita la recoalescencia de éstas debido al efecto Gibbs-Marangoni (figura 21.3). Dicho

2. INTRODUCCIÓN

efecto se pone de manifiesto cuando se aproximan dos gotas que no disponen de suficientes moléculas tensioactivas para recubrir toda su superficie, produciéndose una redistribución de las moléculas tensioactivas que provoca su separación evitando así que se unan debido al mecanismo de coalescencia (este mecanismo se comenta en la sección de estabilidad).

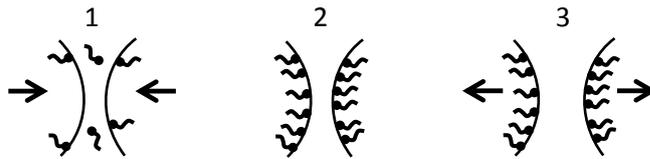


Figura 21.3. Representación del efecto Gibbs-Marangoni. 1: las gotas se aproximan; 2: las moléculas de tensioactivo se reordenan por toda la superficie de la gota; 3: se produce una separación de las gotas. (Adaptación del esquema de la página 23 de la referencia: [Tadros, 2009]).

En los métodos de alta energía, hay que distinguir entre métodos de formación de emulsiones y métodos de homogeneización (para disminuir el tamaño de gota). Uno de los métodos de formación más utilizados, es el método de adición, que consiste en añadir la que será la fase dispersa, poco a poco, a la mezcla de la fase continua (componente oleoso y tensioactivo) con agitación [Becher, 1972]. Una vez formada la emulsión, se puede disminuir el tamaño de gota utilizando, por ejemplo, homogeneizadores de alta presión. Asimismo, mediante la utilización de membranas se pueden formar emulsiones así como disminuir el tamaño de emulsiones ya formadas [Joscellyne, 2000].

Los homogeneizadores de alta presión están ampliamente implementados en la obtención de productos alimentarios. Consisten en hacer pasar una premezcla de dos líquidos de tamaño de gota grande, a través de una válvula a alta presión [Leal-Calderón, 2010]. Al pasar a través de la válvula se forman gotas más pequeñas después de una combinación de factores como elongación, deformación por cizalla, impactos, etc. De este modo, se produce un equilibrio entre dos fenómenos, la ruptura de gotas debido a la alta presión y la deformación debida a la recombinación de gotas, o coalescencia, promovida por colisiones.

En la emulsificación mediante membrana, se ejerce una elevada presión sobre la fase dispersa para conseguir que pase a través de los poros de una

membrana y se propague en la fase continua [Vladislavljevic, 2002; Van Der Graaf, 2005; Matos, 2013]. Las membranas poseen tamaños de poros uniformes, y por este motivo las emulsiones preparadas mediante este método suelen presentar baja polidispersidad [Hoppe, 2007].

Métodos de baja energía o de condensación

Uno de los métodos de baja energía más conocido y utilizado a escala industrial es el método de inversión de fases por cambio de temperatura o método PIT (Phase Inversion Temperature) introducido por Shinoda [Shinoda, 1969]. El método se basa en el cambio de solubilidad de los tensioactivos no iónicos etoxilados con la temperatura, pues al aumentar la temperatura, aumenta el carácter lipofílico de estos tensioactivos como consecuencia de la deshidratación de sus cadenas de polioxietileno.

En un sistema de tipo agua/tensioactivo no iónico etoxilado/hidrocarburo, a bajas temperaturas la curvatura espontánea del tensioactivo es positiva, es decir el tensioactivo preferentemente es soluble en agua, formándose emulsiones de tipo O/W (figura 21.4). Al aumentar la temperatura, la curvatura espontánea del tensioactivo es negativa, deja de ser soluble en agua y es soluble en el aceite, formándose emulsiones de tipo W/O. A temperaturas intermedias, la curvatura promedio del tensioactivo es prácticamente cero y las propiedades hidrofílicas y lipofílicas del tensioactivo se hallan equilibradas. Dicha temperatura intermedia, fue denominada por Shinoda como temperatura HLB [Shinoda, 1969] porque a esta temperatura, el balance hidrófilo-lipófilo de los tensioactivos etoxilados está equilibrado. Además, es en esta temperatura donde se produce la inversión de emulsiones tipo W/O a O/W y por eso también recibe el nombre de temperatura de inversión de fases o PIT [Shinoda, 1968; Shinoda, 1969].

Mediante este procedimiento de emulsificación se pueden obtener emulsiones con tamaño de gota pequeños y baja polidispersidad [Shinoda, 1969; Forgiarini, 2001; Izquierdo, 2002], y, además resulta muy útil en la formación de emulsiones O/W con tamaños de gota pequeños cuando los aceites son viscosos [Salager, 2004].

2. INTRODUCCIÓN

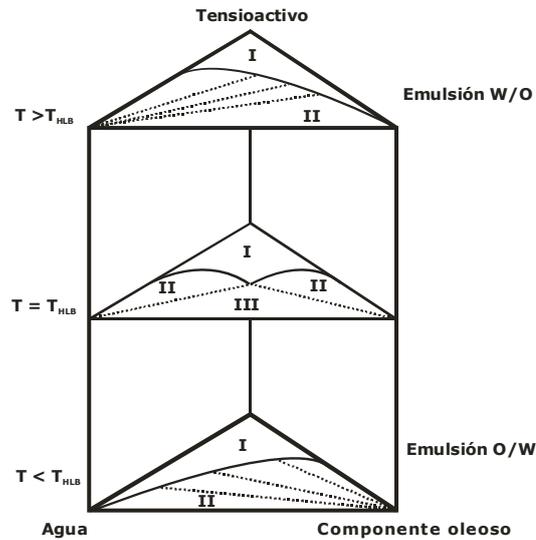


Figura 21.4. Esquema del comportamiento fásico de un sistema agua/tensioactivo no iónico etoxilado/hidrocarburo en función de la temperatura. I: zona monofásica (microemulsión); II: zona de dos fases (para $T > T_{HLB}$: microemulsión con exceso de agua, para $T < T_{HLB}$: exceso de aceite con microemulsión); III: zona de tres fases (microemulsión con exceso de agua y aceite).

En los métodos de emulsificación por inversión de fases a temperatura constante, la inversión se produce al variar la composición [Marszall, 1976; Solans, 2012]. Si la emulsión final es una emulsión O/W, el proceso se inicia, generalmente, añadiendo la fase acuosa a una la mezcla tensioactivo/fase oleosa. Durante esta etapa, el tensioactivo difunde hacia la fase acuosa formando la emulsión resultante de tipo O/W [Lin, 1975]. Además, si durante el proceso de emulsificación se forma una fase de cristal líquido, se favorece la formación de emulsiones con tamaño de gota pequeño y poca polidispersidad [Sagitani, 1981; Forgiarini, 2002].

2.1.3. Estabilidad

La estabilidad de las emulsiones depende de la naturaleza y concentración de sus componentes así como del método de preparación entre otros factores. A pesar de que las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, pueden permanecer estables desde pocos segundos hasta años, ya que pueden presentar estabilidad cinética [Becher, 1983].

Las emulsiones se pueden desestabilizar mediante diversos mecanismos. Los principales son: cremado o sedimentación, floculación, maduración de Ostwald y coalescencia [Harusawa, 1975] (figura 21.5). Dichos mecanismos pueden actuar individualmente o conjuntamente, tanto secuencialmente como dándose más de un mecanismo a la vez.

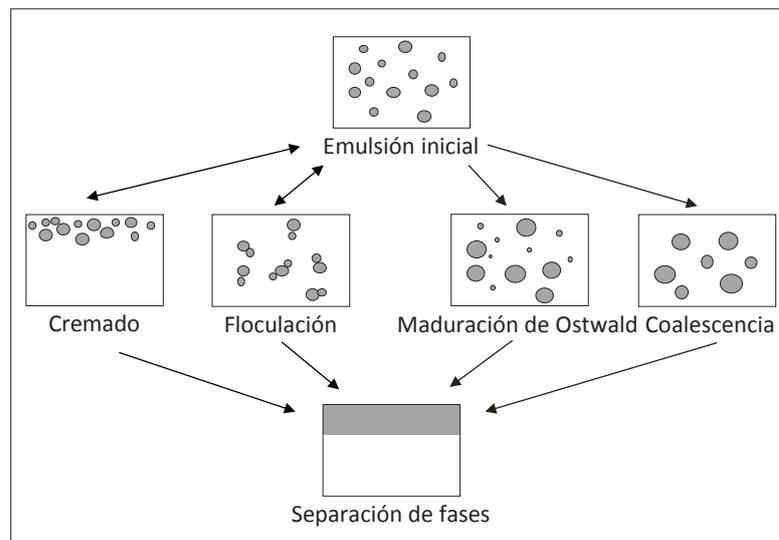


Figura 21.5. Esquema de los procesos de desestabilización de las emulsiones.

2. INTRODUCCIÓN

- Cremado o sedimentación. Debido a la diferencia de densidades entre la fase dispersa y la continua, se produce la redistribución de las gotas de la emulsión. Si las gotas de fase dispersa son menos densas, se acumulan en la parte superior de la muestra y se produce cremado. Cuando la fase dispersa tiene una mayor densidad, se acumulan en la parte inferior y se produce sedimentación. Mediante este mecanismo no se modifica el perfil de distribución de tamaños y es un proceso reversible [Binks, 1998; Tadros, 2013b]. Para una emulsión diluida y monodispersa, la velocidad de cremado o sedimentación (v_s) sigue la ley de Stokes [Stokes, 1851] y se define cómo:

$$v_s = \frac{2r^2(\rho_0 - \rho)}{9\eta_0} \quad \text{Ec. 21.6}$$

dónde r es el radio de la gota, ρ_0 la densidad de la fase continua, ρ la densidad de la fase dispersa, es decir, la densidad de las gotas, y η_0 la viscosidad de la fase continua [Stokes, 1851; Binks, 1998]. Así, en una emulsión diluida, si se reduce el tamaño de gota, se puede minimizar este mecanismo de desestabilización. Sin embargo, las emulsiones presentan polidispersidad y por eso se considera el valor promedio de los radios (ecuación 21.7) y el número de gotas, n .

$$v_s = \frac{2 \frac{\sum_i n_i r_i^5}{\sum_i n_i r_i^3} (\rho_0 - \rho)}{9\eta_0} \quad \text{Ec. 21.7}$$

Si se consideran emulsiones concentradas, se produce una desviación de la ley de Stokes y existen diferentes modelos empíricos para calcular la velocidad de sedimentación. A modo de ejemplo, se presenta la ecuación 21.8, correspondiendo al modelo de Barnea y Mizrahi [Barnea, 1973], dónde v es la

velocidad de sedimentación, v_s la velocidad de sedimentación según Stokes y ϕ el porcentaje de fase dispersa.

$$v = \frac{v_s(1 - \phi)}{(1 - \phi^{1/3}) e^{[\frac{5\phi}{3(1-\phi)}]}} \quad \text{Ec. 21.8}$$

- Floculación. En este mecanismo, las fuerzas atractivas de Van der Waals entre las gotas de la emulsión provocan su agregación, aunque las gotas mantienen su identidad, es decir, no se produce la rotura del film interfacial [Overbeek, 1978; Petsev, 2004; Tadros, 2013b]. Hamaker [Hamaker, 1937] determinó que para dos gotas de igual radio (R) que están separadas por una distancia (h), las fuerzas de atracción de Van der Waals (G_A) se pueden expresar en función de una constante (A_{ef}) como se muestra en la ecuación 21.9.

$$G_A = -\frac{A_{ef}R}{12h} \quad \text{Ec. 21.9}$$

Dónde A_{ef} es la constante de Hamaker efectiva y se calcula según la ecuación 21.10:

$$A_{ef} = \left(A_1^{1/2} - A_2^{1/2} \right)^2 \quad \text{Ec. 21.10}$$

Siendo A_1 y A_2 las constantes de Hamaker de las gotas o fase dispersa, y del medio de dispersión o fase continua, respectivamente. La constante de Hamaker, se calcula a partir del número de átomos o moléculas por unidad de volumen (q), y de la constante de dispersión de London (β) (ecuación 21.11).

$$A = \pi^2 q^2 \beta \quad \text{Ec. 21.11}$$

2. INTRODUCCIÓN

Dependiendo de la intensidad de las fuerzas de Van der Waals, la floculación puede ser reversible o irreversible.

- Maduración de Ostwald (“Ostwald ripening”). Consiste en la difusión de la fase dispersa desde las gotas más pequeñas hacia las más grandes, lo que provoca que las gotas pequeñas disminuyan su tamaño y las más grandes lo aumenten. Este proceso es una consecuencia de la diferente presión de Laplace de las gotas de distinto tamaño, y es un mecanismo irreversible [Taylor, 1995, 1998; Tadros, 2009]. En 1961, Lifshitz y Slyozov [Lifshitz, 1961] por un lado y Wagner [Wagner, 1961] por otro, establecieron las bases de lo que se conoce como teoría LSW (Lifshitz-Slyozov-Wagner). Dicha teoría predice la velocidad de maduración (w) para gotas esféricas separadas a una distancia mucho mayor que su tamaño, cuando el transporte de masa está limitado por el coeficiente de difusión de la fase dispersa en la continua. La expresión matemática se presenta en la ecuación 21.12:

$$w = \frac{dr^3}{dt} = \frac{8 S_{\infty} \gamma V_m D}{9 \rho R T} \quad \text{Ec. 21.12}$$

Dónde r es el radio de gota crítico, t tiempo, S_{∞} es la solubilidad de la fase dispersa en la continua, γ es la tensión interfacial, V_m es el volumen molar del soluto, D es el coeficiente de difusión de la fase dispersa en la fase continua, ρ densidad de la fase dispersa, R constante de los gases y T temperatura. El valor del radio de gota crítico, es el valor de radio en el que la gota está en equilibrio y permanece constante. Por encima de este valor, las gotas tienen tendencia a aumentar su radio y por debajo a disminuirlo. La teoría LSW, aproxima el radio crítico al radio promedio de las gotas. Así, el modelo predice una relación lineal del radio de la gota al cubo respecto al tiempo, siendo la pendiente el valor de la velocidad de maduración [Taylor, 1998].

- Coalescencia. Mediante este proceso las gotas de la emulsión se fusionan entre ellas para formar gotas mayores. Es un mecanismo

de desestabilización irreversible [Boode, 1993a; Boode, 1993b; Fredrick, 2010]. Existen diferentes modelos que describen este mecanismo, uno de ellos es el de Deminiere [Deminiere, 1999]. En dicho modelo se pone de manifiesto que hay una relación lineal entre la relación del tamaño de gota final (R_f) e inicial (R_i), y la inversa del producto del tamaño inicial elevado a 2/3 multiplicado por la raíz cúbica del porcentaje de fase dispersa (ϕ), siendo la pendiente una constante (K) que depende de la naturaleza del tensioactivo (ecuación 21.13).

$$\frac{R_f}{R_i} = \frac{K}{R_i^{2/3} \phi^{1/3}} \quad \text{Ec. 21.13}$$

La desestabilización de las emulsiones se puede retardar incorporando moléculas tensioactivas, poliméricas o partículas sólidas.

- Moléculas tensioactivas. Además de producir una disminución de la tensión interfacial facilitando la formación de emulsiones [Bancroft, 1911; Becher, 1972; Tadros, 2013a], se adsorben en la interfase aceite/agua retardando así la desestabilización. En la literatura se han descrito multitud de investigaciones dónde se utilizan tensioactivos con el fin de estabilizar emulsiones. Por ejemplo, en 1967, Saito y Shinoda [Saito, 1967] ya describieron el efecto que la utilización de diferentes tensioactivos no iónicos, producía en mezclas de hidrocarburo/agua, comparándolos con tensioactivos iónicos. También se ha estudiado la estabilidad de emulsiones O/W en función del número HLB de los tensioactivos [Shinoda, 1969], y su efecto en emulsiones W/O [Shinoda, 1978]. Asimismo, se ha descrito el efecto de mezclas de tensioactivos iónicos/no iónicos en la estabilidad de emulsiones con parafina [Vilasau, 2011]. Incluso, se ha descrito la utilización de tensioactivos de procedencia natural para estabilizar emulsiones en presencia de vitamina E con el fin de utilizarlas en el sector alimentario [Yang, 2013].

2. INTRODUCCIÓN

- Macromoléculas. Su incorporación en las formulaciones aumenta la estabilidad debido a su estructura y su elevado peso molecular. Por ejemplo, hay estudios que demuestran que la presencia de polisacáridos hace que se puedan formar emulsiones más estables que si se forman sólo con tensioactivos no iónicos como el Tween20 o aniónicos como el SDS [Dickinson, 1993]. Asimismo, también hay estudios de estabilidad con caseinato de sodio y trehalosa [Álvarez, 2010]. Incluso, se ha estudiado la estabilización de emulsiones con biopolímeros, proteínas y polisacáridos como alternativa a la utilización de moléculas tensioactivas sintéticas en el campo farmacéutico [Bouyer, 2012].

- Partículas sólidas. Pueden evitar la formación de agregados ya que se adhieren a la superficie de las gotas de las emulsiones. Por ello, pueden estabilizar emulsiones incluso en ausencia de tensioactivos (emulsiones “pickering”) [Pickering, 1907]. En la literatura, existen referencias de la formación de emulsiones con distintos tipos de partículas [Abend, 1998; Ashby, 2000; Frith, 2008] pero una de las partículas más utilizadas para la estabilización de estas emulsiones son la partículas de sílice [Pickering, 1907; Midmore, 1999; Binks, 2002; Saleh, 2005]. También, se ha descrito la utilización de partículas magnéticas para estabilizar emulsiones altamente concentradas, tanto en presencia [Vilchez, 2011; Zhou, 2011] como en ausencia de tensioactivo [Vilchez, 2014].

2.2. Emulsiones altamente concentradas

2.2.1. Propiedades

Las emulsiones altamente concentradas, como se ha mencionado anteriormente, se caracterizan por poseer una elevada fracción en volumen de fase dispersa, superior a 0,74. Esta peculiaridad hace que tengan una estructura muy compacta formada por gotas poliédricas de fase dispersa separadas por finas películas de fase continua [Princen, 1979]. Dicha estructura (figura 22.1, A), es similar a la estructura de las espumas, en las que la fase dispersa es un gas y la continua un líquido [Schramm, 2005].

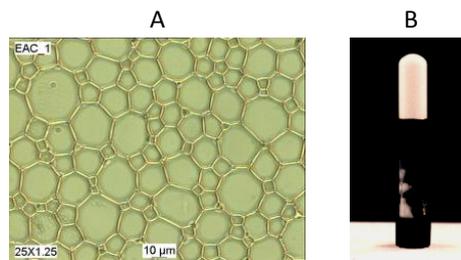


Figura 22.1. Ejemplo de una emulsión altamente concentrada observada microscópicamente (A) y visualmente (B).

Las emulsiones altamente concentradas pueden ser de tipo W/O o O/W dependiendo de la naturaleza de la fase dispersa. Macroscópicamente, pueden ser opacas, transparentes o translúcidas dependiendo del índice de refracción de sus componentes, así como de su composición y de la temperatura. Como su viscosidad es elevada no fluyen (figura 22.1, B) y presentan un aspecto de gel, por ello también se las ha denominado emulsiones gel [Solans, 1993; Kunieda, 1997].

Formación

El método convencional de formación de emulsiones altamente concentradas consiste en la adición de la que será la fase dispersa sobre la mezcla de la fase continua y el tensioactivo. Sin embargo también se pueden formar por otros

2. INTRODUCCIÓN

métodos tales como por agitación de todos los componentes en su composición final (método de emulsión múltiple), el método de inversión de fases o método PIT, a partir de una emulsión diluida por centrifugación y, en los últimos años y con la mejora de la tecnología de membranas, también mediante el método de emulsificación por membrana.

El método de adición o método convencional, como se ha comentado anteriormente, consiste en añadir poco a poco el componente que será la fase dispersa, a la mezcla de los otros componentes con agitación [Lissant, 1966]. Las propiedades de la emulsión altamente concentrada así formada, dependen de la velocidad de agitación y de adición, a parte de otros parámetros como la composición y la temperatura. En la literatura se ha descrito que hay un máximo de fase dispersa que se puede incorporar en las emulsiones altamente concentradas. También se ha descrito una disminución de las propiedades reológicas de las emulsiones con el tiempo [Aronson, 1993]. Por otro lado, con la aplicación de herramientas estadísticas como los diseños de experimentos, en los últimos años, se ha estudiado la influencia simultánea de factores de composición y formación en las propiedades de las emulsiones altamente concentradas formadas por el método convencional. A modo de ejemplo, se ha descrito que en un sistema del tipo agua/Span80/dodecano, la relación entre el tensioactivo y el aceite, es el factor de composición más influyente en el tamaño de gota y polidispersidad de las emulsiones. Además, también se ha puesto de manifiesto que de los factores de formación estudiados, la velocidad de agitación es el más influyente, disminuyendo el tamaño de gota de las emulsiones altamente concentradas al aumentar la velocidad de agitación [Capdevila, 2010]. Al utilizar el diseño de experimentos en el método convencional de preparación de emulsiones, se obtienen resultados equiparables a los descritos anteriormente con la ventaja de que se pueden obtener modelos que contribuyan a una mejor descripción de las propiedades de las emulsiones.

El método de emulsión múltiple parte de una mezcla de los componentes de la emulsión en su composición final [Solans, 1988]. Dicha mezcla se agita hasta formar la emulsión. Dependiendo de la naturaleza de los componentes, del método de agitación y de su intensidad, así como de la geometría del recipiente donde se lleve a cabo la emulsificación, el tiempo de agitación será menor o mayor [Kunieda, 1987; Kunieda, 1989; Solans, 1998].

En el método de inversión de fases o método PIT se parte de una solución micelar o microemulsión de tipo O/W y se aumenta rápidamente la temperatura, para evitar la desestabilización por coalescencia, hasta llegar a

una temperatura que esté por encima de la temperatura HLB del sistema. Así, la emulsión altamente concentrada de tipo W/O se forma sin necesidad de aplicar agitación mecánica [Kunieda, 1996; Esquena, 2003]. Realizando el mismo proceso pero partiendo de una microemulsión O/W y disminuyendo rápidamente la temperatura por debajo de la temperatura HLB del sistema, se obtienen emulsiones altamente concentradas de tipo O/W [Ozawa, 1997].

El método de concentración de emulsiones diluidas consiste, generalmente, en centrifugar dichas emulsiones, pues el proceso de centrifugación provoca la separación por cremado o sedimentación de su fase externa [Babak, 2002]. Asimismo, en la emulsificación por membrana también se parte de una emulsión diluida que se ha formado mediante la utilización de membranas y posteriormente, se procede a la concentración de la fase interna aplicando vacío para extraer parte de la fase externa [Gutiérrez, 2014]. Mediante la utilización de membranas se podrían obtener emulsiones altamente concentradas en una sola etapa, sin embargo las distribuciones de tamaño de estas emulsiones presentarían mayor polidispersidad que si se forma primero una emulsión diluida y posteriormente, mediante evaporación, se obtiene la emulsión altamente concentrada.

Estabilidad

La singular estructura de las emulsiones altamente concentradas hace que ya estén floculadas y por este motivo no se da el mecanismo de desestabilización por floculación. Así, los mecanismos que desestabilizan las emulsiones altamente concentradas son el cremado o sedimentación, la maduración de Ostwald y la coalescencia [Leal-Calderón, 2010]. Entre los factores que afectan su estabilidad, cabe destacar la naturaleza de los componentes oleosos y tensioactivos, la temperatura así como la presencia de aditivos.

La naturaleza del componente oleoso influye tanto en la formación como en la estabilidad de las emulsiones. Así, según su polaridad formarán emulsiones más o menos estables debido a los diferentes valores de tensión interfacial aceite/agua. Los aceites polares son los que presentan valores inferiores de tensión interfacial con agua, y los que forman emulsiones menos estables. Sin embargo, tampoco son favorables valores muy elevados de tensión interfacial porque sería un impedimento para formar gotas de fase dispersa. Por todo ello, los aceites con polaridades intermedias son los que favorecen la estabilidad de las emulsiones altamente concentradas [Kunieda, 1997; Masalova, 2013b].

2. INTRODUCCIÓN

Las moléculas tensioactivas tienen un papel decisivo en la estabilización de las emulsiones, ya que la estabilidad de éstas puede variar según el tamaño y la naturaleza del tensioactivo. A mayor longitud de la cadena hidrocarbonada de los tensioactivos, mayor estabilidad de las emulsiones ya que se minimiza la coalescencia [Kunieda, 1997].

La relación entre la estabilidad de las emulsiones altamente concentradas y la temperatura en sistemas con tensioactivos no iónicos etoxilados, se entiende considerando el efecto de la temperatura en las propiedades hidrófilas y lipófilas de estos tensioactivos. Así, a la temperatura HLB las emulsiones son inestables pero a temperaturas superiores o inferiores, se obtienen emulsiones estables [Kunieda, 1997]. Por todo ello, las emulsiones O/W formadas con estos tensioactivos, son más estables cuando la temperatura está 25 °C - 30 °C por debajo de la temperatura HLB, y las emulsiones W/O cuando la temperatura está 25 °C - 30 °C por encima de la temperatura HLB del sistema.

La presencia de aditivos, al igual que en el resto de emulsiones, tiene un papel destacado en la estabilidad de emulsiones altamente concentradas. En emulsiones estabilizadas con tensioactivos no iónicos, la presencia de una sal de tipo "salting-out" produce un gran aumento en la estabilidad. Como se ha comentado anteriormente, este tipo de sales induce la deshidratación de la parte polar del tensioactivo aumentando las interacciones intermoleculares [Kunieda, 1989; Aronson, 1993; Kunieda, 1997]. Otro ejemplo, es la estabilización con moléculas anfifílicas como la lecitina [Kunieda, 1989]. En un sistema formado por hidrocarburos aromáticos y tensioactivo no iónico, al ser las moléculas aromáticas miscibles con la parte etoxilada del tensioactivo, se sitúan entre las moléculas de tensioactivo debilitando así la interacción entre ellas. Al añadir una molécula anfifílica como la lecitina, ésta favorece las interacciones laterales entre las moléculas de tensioactivo ya que se distribuye entre estas moléculas desplazando así los compuestos aromáticos [Kunieda, 1989]. Un mecanismo similar explica la estabilización de emulsiones mediante adición de partículas de sílice [Masalova, 2013a].

Propiedades reológicas

La reología permite estudiar propiedades de las emulsiones tanto a nivel básico (estructura, estabilidad, etc.) [Princen, 1979, 1983, 1985], cómo aplicado (propiedades de fluencia durante operaciones industriales, la sensación que produce una emulsión al aplicarla en la piel o "skin feel", etc.) [Bummer, 2006].

Según la IUPAC [IUPAC, 2014], la reología estudia las deformaciones y el flujo de materia bajo la influencia de fuerzas mecánicas. Al aplicar una fuerza mecánica (F) a un material, se produce un desplazamiento del material (dl) produciendo una deformación (γ) (figura 22.2).

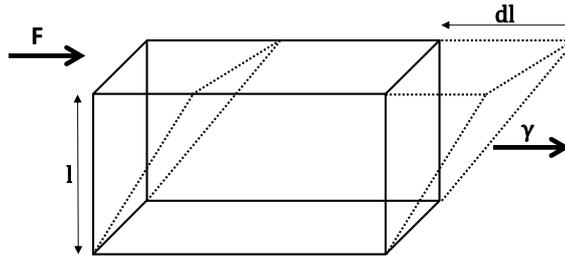


Figura 22.2. Esquema de deformación de un material, γ , al aplicar una fuerza mecánica, F , que provoca un desplazamiento, dl .

Dicha deformación o “strain” se puede expresar según la siguiente ecuación:

$$\tan \gamma = \frac{dl}{l} \quad \text{Ec. 22.1}$$

Para deformaciones muy pequeñas, se puede hacer la aproximación:

$$\tan \gamma \sim \gamma \quad \text{Ec. 22.2}$$

Así, cuando se aplica una fuerza mecánica al material se produce una deformación, que al dejar de aplicar dicha fuerza puede ser que:

- se mantenga en el tiempo (comportamiento de sólidos inelásticos);
- se recupere parcialmente (comportamiento de líquidos elásticos);
- se recupere instantáneamente (comportamiento elástico ideal);
- se recupere lentamente (comportamiento viscoelástico).

2. INTRODUCCIÓN

El comportamiento elástico sigue el modelo de Hooke [Tadros, 2010]. Así, la fuerza aplicada por unidad de área recibe el nombre de estrés (“stress”), σ , y es proporcional a la deformación provocada, γ , siendo la constante de proporcionalidad el módulo elástico, G' (ecuación 22.3).

$$\sigma = G' \gamma \quad \text{Ec. 22.3}$$

Asimismo, el comportamiento viscoso sigue la ley de Newton [Tadros, 2010], en la que el estrés, σ , es proporcional a la velocidad de deformación del material o “shear rate”, $\dot{\gamma}$, siendo la constante de proporcionalidad la viscosidad del material, η (ecuación 22.4).

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 22.4}$$

Sin embargo, hay materiales que no siguen la ley de Newton y por este motivo se han desarrollado modelos matemáticos para explicar su comportamiento. Un ejemplo es el modelo de Herschel-Bulkley (ecuación 22.5):

$$\sigma = \sigma_y + \eta \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 22.5}$$

Dónde σ es la tensión de cizalla o “shear stress”, σ_y es el umbral de fluencia o “yield stress”, η es la viscosidad, $\dot{\gamma}$ es la velocidad de deformación o “shear rate” y n es un coeficiente de ajuste.

El umbral de fluencia es un parámetro utilizado para caracterizar los materiales ya que es la oposición que ejerce dicho material para empezar a fluir.

También hay que considerar, que cuando se aplica un estrés durante periodos de tiempo determinados (Δt) a una frecuencia dada (w), se puede producir un desfase entre el estrés aplicado y la deformación resultante. Dicho desfase se puede expresar mediante el ángulo de fase, δ (ecuación 22.6).

$$\delta = w \Delta t \quad \text{Ec. 22.6}$$

De este modo, cuando el ángulo es de 0° el comportamiento del material es el de un sólido elástico, cuando es 90° un líquido viscoso, y cuando el valor está entre 0° y 90° , es un comportamiento viscoelástico.

Mediante el valor máximo de estrés, σ_0 , y la deformación, γ_0 , se puede calcular el módulo complejo, G^* (ecuación 22.7).

$$|G^*| = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \quad \text{Ec. 22.7}$$

Dicho módulo consta de una parte real que es el módulo elástico o de almacenamiento, G' , y una parte imaginaria que es el módulo viscoso o de pérdida, G'' . Así, considerando el ángulo de fase, δ , se puede calcular el módulo elástico, G' , y el viscoso, G'' (ecuaciones 22.8, 22.9 y 22.10).

$$G' = |G^*| \cos \delta \quad \text{Ec. 22.8}$$

$$G'' = |G^*| \sin \delta \quad \text{Ec. 22.9}$$

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad \text{Ec. 22.10}$$

Representando el módulo elástico, G' , y viscoso, G'' , respecto a la deformación (figura 22.3) se obtiene una zona en la que ambos son independientes de la deformación aplicada. Esta zona se conoce como zona de viscoelasticidad lineal y existen modelos matemáticos para describir el comportamiento reológico de los materiales en esta región. El límite de esta región viene dada por la deformación crítica o "critical strain", que se suele representar por γ_c (figura 22.3: flecha 1), siendo este valor de deformación el valor a partir del cual se empieza a perder la estructura original del material [Tadros, 2010]. Además, existe otro valor de deformación crítica conocido como "melting strain", γ_m , en el que el valor del módulo elástico se iguala al valor del módulo viscoso (figura 22.3: flecha 2). A pesar de que este valor está fuera de la zona de

2. INTRODUCCIÓN

viscoelasticidad lineal y aquí los modelos matemáticos son muy complejos y de difícil interpretación, se considera que en este punto el material ya ha perdido su estructura original [Saiki, 2008; Tadros, 2010].

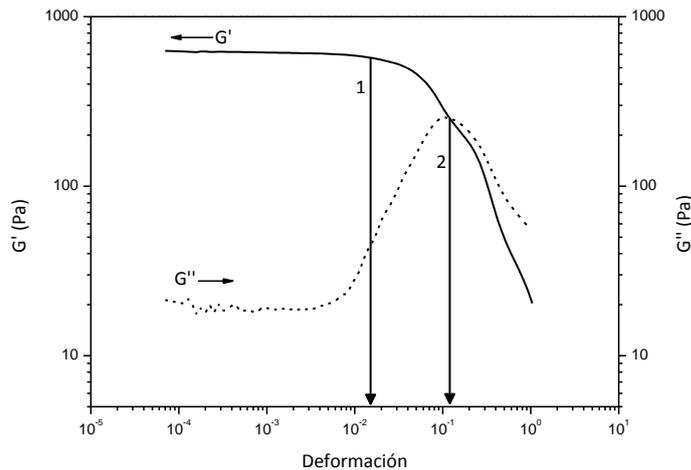


Figura 22.3. Evolución del módulo elástico (G') y viscoso (G'') respecto a la deformación (la flecha 1 indica el valor del “critical strain” o deformación crítica, y la flecha 2 el valor de deformación dónde G' y G'' se cruzan o “melting strain”).

A partir del valor de deformación crítica, γ_c , y el módulo elástico, G' , se puede calcular la energía de cohesión, E_c (ecuación 22.11). Este valor, da una idea de la estabilidad de la estructura, ya que una mayor energía de cohesión implica una estructura más cohesionada y, por lo tanto, más estable [Ramsay, 1986; Sohm, 1989; Tadros, 1990].

$$E_c = \frac{1}{2} \gamma_c^2 G' \quad \text{Ec. 22.11}$$

Además, con los valores del módulo elástico y viscoso se obtiene información del comportamiento viscoelástico del material. Así, si el módulo elástico es mayor que el viscoso el material tendrá un comportamiento predominantemente elástico, y de forma contraria su comportamiento será predominantemente viscoso.

Debido a su estructura, las emulsiones altamente concentradas presentan elevadas viscosidades respecto a sus componentes y un comportamiento viscoelástico o elástico, propio de un sólido [Barry, 1975; Princen, 1983]. Dicho comportamiento, hace que el valor del módulo elástico sea mayor que el valor del módulo viscoso. En 1986, Princen y Kiss [Princen, 1986b] establecieron un modelo semiempírico que relacionaba un módulo de cizalla estático, G , con la tensión superficial, σ , y la fracción en volumen de fase dispersa, ϕ , cuando ésta era superior a 0,712 (ecuación 22.12).

$$G = 1,769 \frac{\sigma}{R_{32}} \phi^{1/3} (\phi - 0,712) \quad \text{Ec. 22.12}$$

Dónde R_{32} , es el radio de gota, r , promedio de fase dispersa, que se calcula según la ecuación 22.13.

$$R_{32} = \frac{\sum_{i=1}^n n_i r_i^3}{\sum_{i=1}^n n_i r_i^2} \quad \text{Ec. 22.13}$$

Además, para valores de fase dispersa próximos a 1, la expresión matemática del módulo de cizalla (ecuación 21.12) se simplifica según la ecuación 22.14.

$$G = 0,509 \frac{\sigma}{R_{32}} \quad \text{Ec. 22.14}$$

Considerando que para valores de deformación pequeños, el módulo de cizalla estático, G , se puede aproximar al módulo de cizalla elástico, se puede afirmar que el aumento del porcentaje de fase dispersa, el aumento de la tensión superficial y/o una disminución de tamaño de gota, provocan un aumento de dicho módulo [Princen, 1986a; Pal, 1996; Malkin, 2004].

Otro parámetro que caracteriza las emulsiones altamente concentradas es su umbral de fluencia o “yield stress” [Princen, 1989; Pal, 2006]. Se ha descrito que la disminución en el tamaño de gota aumenta el umbral de fluencia de las emulsiones.

2. INTRODUCCIÓN

Asimismo, a medida que se van desestabilizando las emulsiones altamente concentradas, disminuye la cohesión entre las gotas de fase dispersa debido a distintos mecanismos de desestabilización (como por ejemplo, la coalescencia), y este hecho se ve reflejado en una disminución de su energía de cohesión [Tadros, 2004; Miras, 2013].

2.2.2. Aplicaciones

Debido a sus propiedades características, las emulsiones altamente concentradas, tienen un amplio abanico de aplicaciones. Al presentar regiones hidrófilas y lipófilas bien definidas permiten la incorporación de moléculas de diferente naturaleza [Kunieda, 1990; Pons, 1993; Kunieda, 1997; Dunstan, 2011]. Por ello, y por su elevada relación superficie/volumen entre otras propiedades, tienen aplicaciones en campos como el cosmético, alimentario, farmacéutico, en síntesis de materiales, etc. [Mollet, 2001].

La utilización de emulsiones altamente concentradas como medios de reacción [Solans, 2001; Solans, 2003a] ha permitido la formación de enlaces carbono-carbono [Espelt, 2003], y la obtención de aldehídos [Lendínez-Gris, 2005]. Asimismo, se han utilizado como plantillas para la obtención de espumas sólidas [Williams, 1988; Esquena, 2003], polímeros [Ruckenstein, 1997; Audouin, 2014], así como otros materiales tanto macroporosos [Vílchez, 2012] como meso/macroporosos [Solans, 2003a; Nestor, 2013]. Todas estas aplicaciones, han tenido en común diferentes mejoras respecto a los métodos convencionales, como la disminución en la utilización de solventes orgánicos así como un aumento en las superficies específicas de los materiales obtenidos. A modo de ejemplo, en la figura 22.4, se muestra un material meso/macroporoso obtenido a partir de una emulsión altamente concentrada [Esquena, 2006].

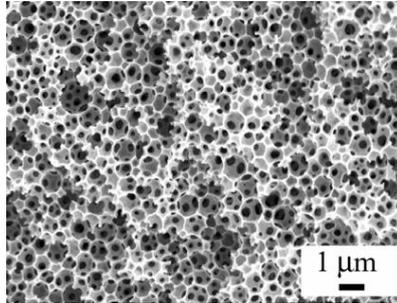


Figura 22.4. Imagen obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de un material meso/macroporoso obtenido a partir de una emulsión altamente concentrada [Esquena, 2006].

Una de las aplicaciones más destacada es su utilización como medios de liberación. En la industria cosmética y farmacéutica, se utilizan las emulsiones altamente concentradas como sistemas de liberación por vía tópica de una gran variedad de productos. La aplicación tópica de emulsiones altamente concentradas de tipo O/W, produce una sensación inicial de frescor, al evaporarse el agua, y un efecto brillante, ya que crean una película de aceite. Sin embargo, las emulsiones W/O son más adecuadas para aplicaciones tópicas ya que son más compatibles con las características fisiológicas de la piel [Mollet, 2001]. Ambos tipos de emulsiones, O/W y W/O, se utilizan cotidianamente en formulaciones como por ejemplo, en cremas hidratantes, pastas de dientes, etc. También se utilizan en tratamientos de enfermedades crónicas de la piel como por ejemplo eczemas, psoriasis y dermatitis, y, entre otras, en formulaciones antiinflamatorias y antihistamínicas [Förster, 1998; Brown, 2012]. Además de la industria cosmética y farmacéutica, las emulsiones altamente concentradas son de gran interés en la industria alimentaria [McClements, 2005].

2.3. Liberación de moléculas activas desde emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras

La aplicación de las emulsiones altamente concentradas como medios de liberación de principios activos en formulaciones farmacéuticas y cosméticas, entre otras, ha propiciado el estudio de los procesos de difusión que se dan en estos medios.

La difusión es un proceso de transferencia de materia que se produce por la existencia de un gradiente de concentración en dos regiones de un sistema. Uno de los primeros modelos matemáticos de la difusión fue introducido por Fick [Fick, 1855], que expresó la difusión a semejanza de las teorías de Fourier para la transferencia de calor y de forma pionera en su época, ya que la difusión sigue siendo un proceso complejo para el que existen distintos modelos matemáticos con diferentes suposiciones [Narasimhan, 2004; Siepmann, 2008, 2012]. Fick, definió que la transferencia de una sal por unidad de tiempo, o flujo (J), entre dos puntos del espacio con diferentes concentraciones iniciales, debía de ser proporcional a la diferencia de concentraciones (C) e inversamente proporcional a la distancia que separaba los dos elementos (x), siendo la constante de proporcionalidad el coeficiente de difusión (D) (ecuación 23.1).

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad \text{Ec. 23.1}$$

Esta ecuación, conocida como la primera ley de Fick, implica que la difusión se produce en dirección opuesta del incremento de concentración. Además, asume que el medio es isotrópico lo que implica que la constante de difusión es la misma en todas direcciones. Esta hipótesis se puede aplicar en algún medio diluido pero en la mayoría de procesos hay que considerar que no es así [Crank, 1975]. Al tener en cuenta que la constante de difusión depende de la dirección del espacio tridimensional, y suponiendo que la difusión se produce en una única dirección, surge la segunda ley de Fick (ecuación 23.2) en la que se describe la variación de la concentración en función del tiempo.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Ec. 23.2}$$

Según el dispositivo experimental dónde se lleve a cabo la difusión, se pueden calcular diferentes soluciones de esta ecuación [Higuchi, 1961; Higuchi, 1962; Bunge, 1998; Siepmann, 2011]. Asimismo, también existen modelos para los procesos de difusión en emulsiones altamente concentradas [Babak, 2003].

Se ha estudiado la influencia de las variables de composición en la difusión desde emulsiones altamente concentradas, poniendo de manifiesto que la adición de electrolitos de efecto “salting out” favorece la liberación y que un aumento de la cadena hidrocarbonada de los tensioactivos provoca una disminución en la liberación, debido al aumento de rigidez en el film interfacial [Calderó, 1997]. También se han investigado mezclas de emulsiones hidrogenadas y fluoradas, y se ha concluido que controlando la estabilidad de estas mezclas, así como los coeficientes de partición de los activos, se puede llegar a controlar la liberación de moléculas activas [Calderó, 1998; Rocca, 1998; Fa, 2004]. Asimismo, se ha puesto de manifiesto que, para las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, el aumento de la fracción en volumen de fase dispersa produce un aumento en la liberación de moléculas [Calderó, 1997; Clément, 2000]. Por otro lado, se ha descrito que un aumento en el tamaño de gota puede producir una disminución en la liberación ya que, dichas gotas, pueden actuar como “almacenes” de moléculas activas [Rocca, 1999]. Además, en varios de los estudios descritos en la literatura, se ha puesto de manifiesto que la solubilidad de las moléculas activas, puede tener un papel más relevante que las propiedades interfaciales y, controlando la solubilidad mediante cambios de pH por ejemplo, se puede modular la liberación de los activos [Calderó, 2010; Llinàs, 2013].

La modulación de la liberación de moléculas activas incorporadas en emulsiones altamente concentradas es un tema de gran interés. Por este motivo, se han propuesto modelos de difusión que explican el paso de las moléculas desde las gotas de emulsión a la interfase, y de ésta a una fase receptora [Calderó, 2000; Babak, 2003; Calderó, 2012]. Incluso se ha utilizado un diseño factorial para estudiar la influencia del porcentaje de fase acuosa y tamaño de gota en la liberación de moléculas activas [Bjerregaard, 1999], concluyendo que un control del tamaño de gota podría modular la liberación de moléculas. Sin embargo, no se ha realizado un estudio sistemático que

2. INTRODUCCIÓN

considere simultáneamente la influencia de las variables de composición y formación en los procesos de liberación. La complejidad de los procesos de difusión implicados en la liberación de moléculas incorporadas en emulsiones altamente concentradas, hace que dicho estudio sea interesante para conocer mejor los factores que influyen en la difusión y así poder obtener modelos que permitan predecir los perfiles de liberación contribuyendo a una optimización de las aplicaciones de este tipo de emulsiones.

3. Objetivos y plan de trabajo

Las emulsiones altamente concentradas se caracterizan por su elevado volumen de fase dispersa, superior a 74 %, que corresponde al máximo empaquetamiento de gotas esféricas indeformables y monodispersas [Lissant, 1966]. Por ello, su estructura está formada por gotas compactas poliédricas [Princen, 1979] que les confiere propiedades interesantes [Becher, 1972; Hunter, 1989; Solans, 2004], tanto desde un punto de vista fundamental como aplicado. Debido a que poseen dominios hidrófilos y lipófilos separados por interfases, pueden incorporar moléculas de diferente naturaleza y liberarlas de forma controlada. Una de las aplicaciones más extendida de las emulsiones altamente concentradas, es su utilización como formulaciones para la liberación controlada de moléculas activas en el sector farmacéutico [Schramm, 2005; Rathbone, 2008], cosmético [Mollet, 2001; Schramm, 2005] y alimentario [McClements, 2005; Schramm, 2005]. Además, en los últimos años, también se han utilizado en el campo de las nuevas tecnologías. Por ejemplo, su utilización como medios de reacción permite la síntesis de nuevos materiales porosos de baja densidad [Ruckenstein, 1997; Solans, 2003a; Vílchez, 2012; Nestor, 2013].

En la mayoría de aplicaciones de las emulsiones altamente concentradas, los procesos de difusión desempeñan un papel importante. Por ello, el estudio de los procesos de liberación de moléculas activas incorporadas en emulsiones altamente concentradas ha despertado interés científico como herramienta para dilucidar los mecanismos de difusión, así como, para determinar la influencia de las propiedades de las emulsiones en dicho proceso [Calderó, 1997; Rocca, 1998; Bjerregaard, 1999; Llinàs, 2013]. Asimismo, también se ha estudiado la formación de emulsiones altamente concentradas relacionando variables de composición con propiedades como el comportamiento fásico y el tamaño de gota [Kunieda, 1987; Solans, 1998], y las propiedades reológicas [Princen, 1983]. También, se ha descrito la influencia de variables de composición y de formación (velocidad de agitación y velocidad de adición de fase dispersa) en las propiedades de emulsiones altamente concentradas como el tamaño de gota y su polidispersidad [Capdevila, 2010], así como en los procesos de escalado de dichas emulsiones [May-Masnou, 2013]. Así pues, por un lado se han realizado estudios de emulsiones altamente concentradas con el objetivo de modelizar la liberación de moléculas y por otro lado, y a partir de la influencia de los factores de composición y formación, estudios de propiedades tan importantes como el tamaño de gota de dichas emulsiones. Sin embargo, no se ha estudiado de forma simultánea la influencia que los factores de composición y formación de las emulsiones podrían ejercer en los procesos de liberación. Dicho estudio, contribuiría a la determinación de la influencia de

3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

variables de composición y formación, tanto en la liberación, como en el tamaño de gota de dichas emulsiones y en sus propiedades reológicas. Además, se obtendrían modelos matemáticos que relacionarían dichas variables con las propiedades mencionadas, permitiendo optimizar tanto la formulación de emulsiones altamente concentradas como el proceso de liberación de moléculas activas incorporadas en dichas emulsiones. Estos modelos, contribuirían a una mejora en sus aplicaciones industriales, pues al poder formular emulsiones altamente concentradas “a medida” se conseguiría una mejor efectividad y se requerirían menos ensayos preliminares.

El objetivo principal de esta tesis, es el de modelizar la formulación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O estudiando la relación entre el tamaño de gota, sus propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas, incorporadas en la fase dispersa, a soluciones receptoras. Dicho objetivo, implica la utilización de herramientas estadísticas, como el diseño de experimentos, para obtener modelos empíricos que permitan formular emulsiones altamente concentradas con las características apropiadas realizando un mínimo de ensayos previos.

Para conseguir los objetivos propuestos se ha procedido de acuerdo con el siguiente plan de trabajo:

1. Estudio bibliográfico para seleccionar componentes biocompatibles y biodegradables para formar emulsiones altamente concentradas, así como, determinar las metodologías más adecuadas para su formación, caracterización y estudio de propiedades.
2. Determinación de las zonas de formación de emulsiones altamente concentradas en sistemas agua/tensioactivo/aceite.
3. Caracterización del tamaño de gota de las emulsiones altamente concentradas mediante técnicas de microscopía óptica, determinando distribuciones de tamaño e índices de polidispersidad.
4. Estudio de la estabilidad de las emulsiones altamente concentradas mediante técnicas de microscopía óptica, determinando la variación del tamaño de gota en función del tiempo, y mediante técnicas espectroscópicas, determinado la retrodifusión de luz en función del tiempo.

5. Caracterización de las propiedades reológicas de las emulsiones altamente concentradas mediante medidas oscilatorias, determinando la variación del módulo elástico y viscoso en función de la deformación y la frecuencia.
6. Incorporación de moléculas activas en la fase acuosa de las emulsiones altamente concentradas y determinación de sus propiedades.
7. Estudio de liberación de moléculas activas incorporadas en las emulsiones altamente concentradas, a soluciones receptoras apropiadas.
8. Selección de un sistema modelo que permita la formulación de emulsiones altamente concentradas incorporando moléculas activas en su fase dispersa.
9. Utilización de diseños de experimentos para obtener modelos empíricos que relacionen variables de composición y formación de las emulsiones con su tamaño de gota, sus propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas incorporadas en dichas emulsiones.
10. Formulación de emulsiones con moléculas activas incorporadas optimizando su tamaño de gota, sus propiedades reológicas y la liberación de dichas moléculas.

4. Experimental

4.1. Materiales

4.1.1. Componentes de la fase oleosa de las emulsiones

La selección de los componentes oleosos se realizó teniendo en cuenta que fuesen biocompatibles y que tuviesen distintas polaridades. Así se seleccionaron, en orden de polaridad creciente, aceite de parafina, escualano, decil oleato y triglicéridos de cadena media.

Parafina líquida

La parafina líquida es una mezcla de diferentes hidrocarburos alifáticos saturados (C₁₄-C₁₈) y cíclicos, todos ellos obtenidos del petróleo, de aspecto transparente e incoloro. Cabe destacar su funcionalidad como emoliente, lubricante, vehículo y solvente. Este producto se utiliza como excipiente en formulaciones farmacéuticas de aplicación tópica, como lubricante en la formulación de comprimidos y en formulaciones oftalmológicas, como vehículo en cápsulas e incluso en la preparación de microcápsulas. Los campos de aplicación van desde aplicaciones en el campo farmacéutico, hasta su aplicación en cosmética y en productos alimentarios [Rowe, 2009]. La parafina que se utilizó fue parafina líquida fluida de calidad Ph.Eur, BP, NF, JP de Merck (ref. 107174; CAS 8042-47-5; Lote K44086874) [Merck, 2013].

Escualano

El escualano es un hidrocarburo que procede de la hidrogenación del escualeno. Su fórmula molecular es C₃₀H₆₂ y su peso molecular 422,81 g/mol. Su estructura química se muestra en la figura 41.1. Su aspecto es el de un aceite claro, sin olor ni color y es muy estable, ya que soporta altas temperaturas, y tiene una gran resistencia a la oxidación, porque está completamente saturado [Ash, 2008]. Este producto se utiliza en formulaciones cosméticas, farmacéuticas y nutraceuticas. El escualano que se utilizó fue escualano al 99 % de Aldrich (ref. 234311; CAS 111-01-3; Lote BCBK8761V) [Sigma-Aldrich, 2013a].

4. EXPERIMENTAL

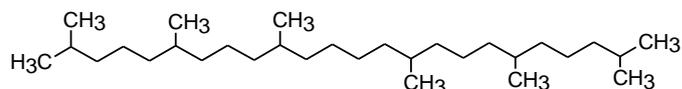


Figura 41.1. Estructura química del escualano.

Oleato de decilo

El oleato de decilo es un éster del ácido oleico (figura 41.2). Su fórmula molecular es $C_{28}H_{54}O_2$ y su peso molecular 422,73 g/mol. Tiene el aspecto de un aceite claro, sin olor ni color [Ash, 2008]. Al igual que otros derivados del ácido oleico, como por ejemplo el oleato de etilo, se utiliza tanto en aplicaciones cosméticas, farmacéuticas como nutracéuticas [BASF, 2012]. Se utilizó oleato de decilo de Fagron (ref.100375; CAS 3687-46-5; Lote GP0441).



Figura 41.2. Estructura química del oleato de decilo.

Triglicéridos de cadena media

Los triglicéridos de cadena media (TGCM) contienen ácidos grasos saturados derivados del ácido caprílico/cáprico con una longitud de 6 a 12 carbonos, como el ácido caproico (C_6), el ácido caprílico (C_8), ácido cáprico (C_{10}) y ácido láurico (C_{12}) [Rowe, 2009]. Su estructura química se muestra en la figura 41.3. Tiene aplicaciones tanto en farmacia, como en cosmética y alimentación. Los triglicéridos de cadena media que se utilizaron fueron suministrados por Fagron (ref. 101151; Lote 0805104) [Fagron, 2013].

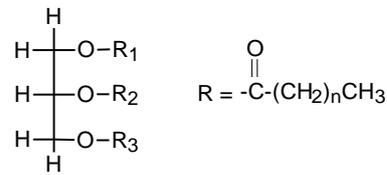


Figura 41.3. Estructura química de los triglicéridos de cadena media.

4.1.2. Componentes tensioactivos

Se seleccionaron moléculas tensioactivas con un número HLB bajo ya que se pretendían formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O. Asimismo, también se seleccionó un tensioactivo etoxilado de mayor HLB para estudiar la formación de emulsiones por el método PIT con mezclas de tensioactivos. Otro aspecto que se consideró, fue que tuviesen baja toxicidad y por lo tanto, que fuesen biocompatibles. Así se seleccionaron alcoholes etoxilados, tensioactivos copolímeros de bloque y derivados de ácidos grasos. Por orden creciente de HLB, se seleccionaron los tensioactivos poligliceril-2 diisoestearato (IS-202P), monooleato de sorbitán (Span80), alcohol cetílico etoxilado (Brij52), un tensioactivo derivado del aceite de ricino (CremophorWO7), copolímeros de bloque (SynperonicL2 y PluronicL121) y monooleato de polioxietileno de sorbitán (Tween80). Asimismo, también se utilizó fosfatidilcolina (Lecitina) para estabilizar las emulsiones.

Poligliceril-2 diisoestearato (IS-202P)

El poligliceril-2 diisoestearato, abreviado IS-202P, (figura 41.4) tiene un HLB de 3,2, y pertenece a una línea de ésteres formados por poligliceroles de diferentes ácidos grasos desarrollados especialmente para aplicaciones cosméticas. El tensioactivo IS-202P utilizado fue amablemente proporcionado por Sakamoto Yakuhin Kogyo Co. LTD (ref. S-Face IS-202P; CAS 67938-21-0; Lote 911105) [Skamoto-Yakuhin-Kogyo, 2013].

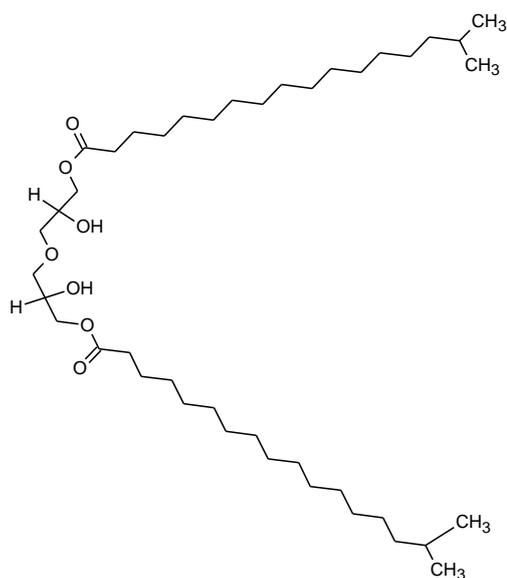


Figura 41.4. Estructura química del IS-202P.

Monooleato de sorbitán (Span80)

El monooleato de sorbitán, abreviado Span80, (figura 41.5) es una molécula tensioactiva lipofílica no iónica derivada del sorbitán y del ácido oleico, que posee un HLB de 4,3, presenta color ámbar y una textura líquida muy viscosa. Se utiliza en formulaciones cosméticas, productos alimentarios y en formulaciones farmacéuticas, tanto para aplicaciones tópicas como aplicaciones intravenosas [Rowe, 2009]. El Span80 utilizado fue Span80-LQ-(MV) amablemente proporcionado por Croda (ref. SDR0703/SAMP; CAS 1338-43-8; Lote 0000729579) [Croda, 2013].

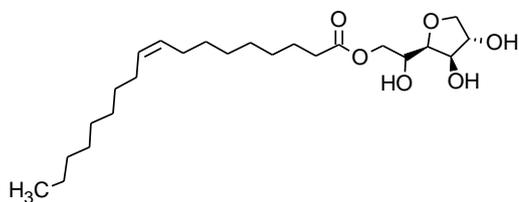


Figura 41.5. Estructura química del Span80.

Alcohol cetílico etoxilado (Brij52)

El alcohol cetílico etoxilado, abreviado Brij52, (figura 41.6) posee un HLB de 5, un aspecto blanquinoso y se utiliza en aplicaciones farmacéuticas [Ash, 2008]. Su nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos (INCI) es ceteth-2 y su fórmula es $C_{16}H_{33}(OCH_2CH_2)_{20}OH$. El Brij52 utilizado fue suministrado por CRODA (ref. Brij52; CAS 9004-95-9; Lote 610A0804).

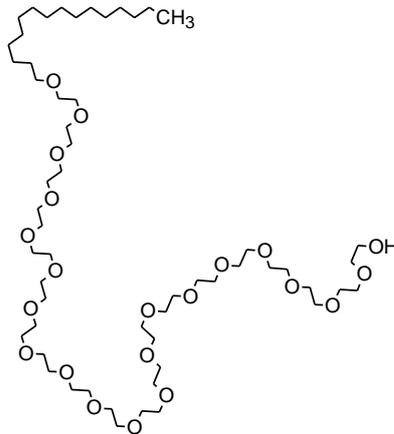


Figura 41.6. Estructura química del Brij52.

Tensioactivo derivado del aceite de ricino (CremophorW07)

El tensioactivo derivado del aceite de ricino, abreviado CremophorW07, es un tensioactivo no iónico con un HLB de 5 ± 1 . Su nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos (INCI) es "PEG-7 hydrogenated castor oil". Su aspecto es el de un líquido turbio ligeramente amarillento y viscoso. Se utiliza para aplicaciones cosméticas [Ash, 2008]. Se utilizó CremophorW07 suministrado por BASF (ref. 51634917; CAS 61788-85-0; Lote 00783947G0) [BASF, 2013a].

Tensioactivos de bloque (SynperonicL2 y PluronicL121)

Los tensioactivos de bloque están formados por bloques de polioxietileno y polioxipropileno con hidroxilos terminales. En la figura 41.7, se muestra un esquema.

4. EXPERIMENTAL

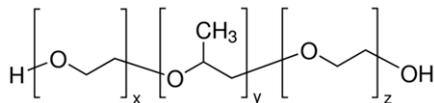


Figura 41.7. Esquema de los tensioactivos de bloque.

El SynperonicL2, posee un HLB de 5,9 y es incoloro [Ash, 2008]. El SynperonicL2 utilizado fue suministrado por CRODA (ref. Synperonic L2; CAS 9002-92-0; Lote 14986).

El PluronicL121, es tensioactivo no iónico con un HLB de 1-7. Entre otras aplicaciones, cabe destacar su utilización en farmacia así como en cosmética [Ash, 2008]. El PluronicL121 que se utilizó fue suministrado por BASF (ref. 30085763; CAS 9003-11-6; Lote WPOB633B) [BASF, 2013b].

Monooleato de polioxietileno de sorbitán (Tween80)

El monooleato de polioxietileno de sorbitán, abreviado Tween80, (figura 41.8) es una molécula tensioactiva hidrofílica no iónica derivada de una mezcla de ésteres. También recibe el nombre de polisorbato80, posee un HLB de 15 y presenta color amarillento y una textura líquida viscosa. El Tween80 tiene aplicaciones en el campo farmacéutico (formulaciones administradas por vía tópica, oral y parenteral), así como en cosmética y alimentación [Rowe, 2009]. El Tween80 utilizado fue proporcionado por Sigma-Ultra (ref. P 8074; CAS 9005-65-6; Lote 8110) [Sigma-Aldrich, 2013b].

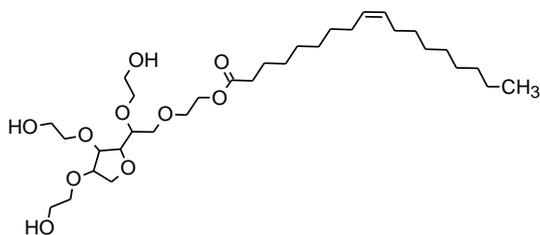


Figura 41.8. Estructura química del Tween80.

α -Fosfatidilcolina (Lecitina)

La α -fosfatidilcolina, o lecitina, es una mezcla de diferentes fosfolípidos que se utiliza como sustancia emulsificante o agente solubilizante. Tiene aplicaciones en el campo farmacéutico así como en el cosmético y alimentario [Rowe, 2009]. La lecitina de huevo utilizada fue adquirida a Sigma Aldrich (ref. P3556; CAS 8002-43-5; Lote 056K7019).

4.1.3. Componentes de la fase acuosa de las emulsiones

Agua

Se utilizó agua desionizada y, posteriormente, filtrada utilizando un sistema de purificación de agua Millipore modelo Synergy Smart UV (resistividad a 25 °C: 18,2 M Ω ·cm; conductividad: 0.056 μ S/cm, calidad del agua: tipo I, concentración de iones < 1 μ g/L).

Propilenglicol

El propilenglicol o 1,2-propanodiol (figura 41.9) tiene un peso molecular de 76,09 mg/mol. Su aspecto es el de un líquido transparente y viscoso [Rowe, 2009]. Según la FDA [FDA] no hay evidencias de que sea un producto tóxico, y entre sus aplicaciones, cabe destacar su utilización como solvente o como vehículo en formulaciones farmacéuticas. El propilenglicol utilizado fue de tipo ReagentPlus 99 %, y su proveedor Sigma-Aldrich (ref. 134368; CAS 57-55-6) [Sigma-Aldrich, 2013f].

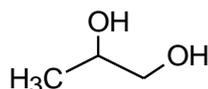


Figura 41.9. Estructura química del propilenglicol.

4.1.4. Moléculas activas

Las moléculas activas seleccionadas como modelo fueron tres parabenos: metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno (figura 41.10). Estas moléculas provienen de la esterificación del ácido p-hidroxibenzoico y el alcohol correspondiente (metanol, etanol o propanol) y se utilizan como conservantes antimicrobianos en aplicaciones farmacéuticas, cosméticas y alimentarias [Rowe, 2009]. Se pueden usar de forma individual o combinados, su actividad antimicrobiana aumenta al aumentar la cadena alquílica y, también, con la presencia de propilenglicol (en una concentración de 2 al 5 %). En los últimos años la utilización de estos parabenos ha sido cuestionada por su potencial acción cancerígena [Routledge, 1998; Darbre, 2004]. Sin embargo se necesitarían más evidencias para confirmar estas hipótesis [Soni, 2005]. Además, también se han publicado interesantes aplicaciones como su posible utilización contra los mecanismos que provocan el Parkinson [Kopalli, 2013]. Actualmente, en Europa se autoriza su presencia en formulaciones cosméticas en concentraciones inferiores o iguales al 0,4 %, y siempre que la suma de todos los parabenos presentes en la formulación no supere el 0,8 %. También se autoriza su uso como aditivo en alimentación y está aceptado por la FDA [FDA] para su aplicación en formulaciones farmacéuticas.

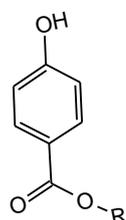


Figura 41.10. Estructura química de alquilparabenos (R = metilo, etilo y propilo).

Metilparabeno (MeP)

El metilparabeno o 4-hidroxi-benzoato de metilo tiene un peso molecular de 152,15 g/mol, su aspecto es el de un polvo blanco cristalino y su solubilidad en agua a 25 °C de 2,5 mg/mL [Rowe, 2009]. El metilparabeno utilizado fue suministrado por Sigma-Aldrich (ref. H5501; CAS 99-76-3; Lote SLBC2005V) [Sigma-Aldrich, 2013c].

Etilparabeno (EtP)

El etilparabeno o 4-Hidroxi-benzoato de etilo tiene un peso molecular de 166,18 g/mol, su aspecto es el de un polvo blanco cristalino y su solubilidad en agua a 25 °C de 1,7 mg/mL [Rowe, 2009]. El etilparabeno utilizado fue suministrado por Sigma-Aldrich (ref. 111988; CAS 120-47-8; Lote BCBK1301V) [Sigma-Aldrich, 2013d].

Propilparabeno (PrP)

El propilparabeno o 4-Hidroxi-benzoato de propilo tiene un peso molecular de 180,20 g/mol, su aspecto es el de un polvo blanco cristalino y su solubilidad en agua a 25 °C de 0,5 mg/mL [Rowe, 2009]. El metilparabeno utilizado fue proporcionado por Sigma-Aldrich (ref. P53357; CAS 94-13-3; Lote BCBK5354V) [Sigma-Aldrich, 2013e].

4.1.5. Otros productos

Cloruro de sodio (NaCl)

El cloruro de sodio utilizado fue de Merck (ref. 1.060404; CAS 7647-14-5).

Etanol

Se utilizó etanol absoluto para análisis de Merck EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph. Eur. (ref.1.00983; CAS 64-17-5).

Acetonitrilo

El acetonitrilo utilizado fue de calidad HPLC y su proveedor Fisher Chemical (ref. A/0627/17; CAS 75-05-8).

4.2. Equipos

A continuación se enumeran los equipos utilizados por orden alfabético.

Agitador de varilla

Se utilizó un agitador Heidolph RZR 2041 con regulación mecánica de velocidad desde 40 a 2000 rpm. Con este rotor, se usaron diferentes varillas:

- una hélice de cuatro palas cada una, con inclinación de 45 °, alto de cada pala 20 mm y un diámetro de agitación de 40 mm.
- tres hélices de cuatro palas cada una, con inclinación de 45 °, alto de cada pala 15 mm y un diámetro de agitación de 44 mm.
- tres hélices de cuatro palas cada una, con inclinación de 45 °, alto de cada pala 23 mm y un diámetro de agitación de 68 mm.

Agitador vórtex

Se utilizó un agitador por vibración tipo vórtex de HEIDOLPH modelo REAX 2000 con un rango de velocidades de agitación de 200 a 2400 rpm.

Balanzas

Se utilizaron varias balanzas de precisión Mettler Toledo modelos B204-S, AB204-S/FACT y AJ-100, así como un granatario modelo PE360.

Baño de ultrasonidos

Se utilizó un baño de ultrasonidos SELECTA modelo Ultrasonidos-H dotado de un sistema calefactor y un termostato.

Baños termostatizados

Se utilizó un baño de metacrilato con capacidad para 15 litros de agua. La temperatura se controló con un termostato HAAKE, modelo DC10, y un criostato HAAKE, modelo EK20.

Bomba peristáltica

La bomba peristáltica utilizada fue una bomba modelo Watson-Marlow 323 equipada con tubo de silicona o marprene de 1,85 mm de diámetro interno, un grosor de pared de 0,8 mm y una longitud de 46 cm.

Centrífuga

Se utilizó una centrífuga Eppendorf 5804R equipada con un rotor A-4-44, con una velocidad máxima de 5000 rpm y con control de temperatura desde - 9 °C a 40 °C. Además, la centrífuga estaba equipada con adaptadores para centrifugar tubos de distintos tamaños.

Conductímetro

Se utilizó un conductímetro Crison modelo GLP31 equipado con sonda de temperatura y conectado a un ordenador. Dicho conductímetro permite tres modos de medida: por estabilidad, en continuo o por tiempo, con coeficiente de temperatura (TC) y temperatura de referencia (TR) programables. Posee una memoria dónde se almacenan las últimas 400 medidas, los datos de la calibración y el historial de la célula.

Cronómetro

Se ha utilizado un cronómetro Fisher con dos temporizadores independientes.

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución de "Waters 1525 Series", equipado con una bomba de gradiente binario (modelo Waters 1525) con un nivel máximo de flujo de 10 mL/min y una presión máxima de 6000 psi (414 bars); un detector UV-visible (modelo Waters 2489) con un rango de longitud de onda de 190 a 600 nm; y un autoinyector (modelo Waters 2707) con un rango de volumen de inyección de 5 a 50 µL. El cromatógrafo estaba conectado a un ordenador mediante una interfase (SATIN). El software que

4. EXPERIMENTAL

controlaba el equipo fue el Breeze 2 (versión 6.20.00.00). La columna utilizada fue una columna Waters Spherisorb ODS2 C18 de 5 μm y 4,6 x 150 mm.

Dispersión de rayos X a ángulos pequeños (Small-angle X-ray scattering, SAXS)

Las medidas se realizaron con un espectrómetro de rayos X de ángulo pequeño de la marca Hecus X-Ray Systems GMBH Graz. La radiación consistió en un haz monocromático emitido por un ánodo de Cu ($\lambda = 1,542 \text{ nm}$). La distancia entre la muestra y el detector fue de $2,68 \times 10^9 \text{ \AA}$, la amplitud de canal de $5,34 \times 10^5 \text{ \AA}$, el voltaje de 50 kV y la intensidad de 1 mA.

Dispositivos de diálisis

Los dispositivos de diálisis utilizados fueron Float-A-Lyzer G2 de Spectrum (referencia G235029). La membrana fue de éster de celulosa (hidrofílica) con un tamaño de poro de 3,5 – 5,0 kDa (muy superior al tamaño de los parabenos). El volumen total del dispositivo fue de 1 mL y su altura de 5 cm. El diámetro de la membrana fue de 10 mm, el diámetro de la parte superior de 23 mm y el diámetro del anillo de flotación de 38 mm. La altura de la membrana fue de 1,85 cm. La membrana de este dispositivo está tratada con glicerol, por ello es necesario un proceso de lavado de la membrana previamente a su utilización. El acondicionamiento de la membrana se realizó llenando el dispositivo en una solución de etanol en agua milliQ al 10 % y sumergiéndolo en la misma solución, durante 10 minutos. Posteriormente se lavó el dispositivo con agua milliQ, se rellenó con agua milliQ y se dejó sumergido en agua milliQ durante 15 - 20 minutos. Una vez que se hidrató la membrana, no se dejó secar. Justo antes de utilizarlo, se vació el agua del interior y se introdujo la muestra.

Espectrofotómetro ultravioleta-visible

Se utilizó el espectrofotómetro Cary 300 Bio (Varian) conectado a un ordenador. El equipo consta de un sistema óptico de doble haz.

Microscopios ópticos

Para los estudios de la sección 5.1.1, se utilizó el microscopio Reichert Polyvar® 2 (Leica) equipado con una cámara, y conectado a un ordenador con el software Leica IM 500. Las imágenes de las muestras, se capturaron digitalmente con el software IM 500, calibrado con un micrómetro. Para el resto de estudios se utilizó, el microscopio de alta resolución CytoViva equipado con una cámara óptica, y conectado a un ordenador con el software Exponent7. Este microscopio posee un sistema óptico de iluminación con la peculiaridad de que el haz de luz tiene una inclinación de 45 °, hecho que mejora el contraste y la relación entre la señal de la muestra y el ruido de fondo. Este sistema de iluminación de transmisión de luz permite observar un amplio tipo de muestras. Además dispone de un sistema de imagen espectral que permite cuantificar la presencia de gran variedad de productos en células, tejidos o materiales. Las imágenes de las muestras se capturaron digitalmente con el software mencionado y se analizaron posteriormente con el programa ImageJ.

Placa calefactora y multiplaca

Se utilizó una placa calefactora con agitación magnética Heidolph modelo MR3001K, así como una placa múltiple Ovan modelo Multimix Heat D5P MM50.

pH-metro

Se utilizó un pH-metro digital Mettler Toledo modelo Seven Easy.

Reómetro

El reómetro utilizado fue el modelo ARG2 de TA-Instruments (figura 42.1), de esfuerzo controlado [TA-Instruments, 2009]. El equipo está conectado a un ordenador y con el software "Instrument Control" se controla el equipo y se registran los datos que, posteriormente, se pueden procesar con el programa "Data Analysis". El equipo dispone de diferentes geometrías (plato-plato, cono-plato, etc.) y está conectado a un baño termostatzado para poder controlar la temperatura de trabajo.

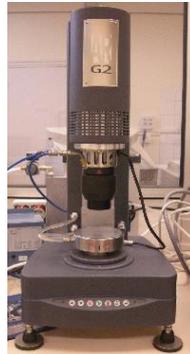


Figura 42.1. Imagen del reómetro ARG2 de T.A. Instruments.

Retrodifusión de luz (Turbiscan Lab.)

El Turbiscan Lab (figura 42.2), de Formulacion, es un instrumento basado en la dispersión múltiple de luz que permite analizar muestras con rangos de tamaños de 10 nm a 1 mm, y con temperatura controlada desde temperatura ambiente hasta 60 °C [Formulacion, 2013]. Consta de una fuente de luz cercana al infrarrojo (880 nm) y dos detectores sincronizados. El detector de transmisión, recibe la señal de la luz transmitida a través de la muestra, y el detector de retrodifusión situado a un ángulo de 135 °, registra la intensidad de luz retrodifusa. Los detectores realizan la adquisición simultáneamente en una posición determinada de la muestra o bien cada 40 μm a lo largo de los 55 mm que mide la altura de la celda. Además, el equipo está conectado a un ordenador y, mediante el software TurbiSoft Lab Expert, permite estudiar la estabilidad de emulsiones, suspensiones y espumas (facilitando la evaluación de procesos de sedimentación, cremado, floculación o coalescencia).



Figura 42.2. Imagen del Turbiscan Lab de Formulacion.

Sonda de temperatura

Se utilizó un termómetro digital equipado con sonda P650 de Dostmann electronic con un rango de medida de 0 °C a 40 °C.

Tacómetro

Se utilizó un tacómetro digital DT-2238 de Geico Electrico S/A con función de fototacómetro, un rango de medida entre 0,5 y 10000 rpm, una resolución de 0,1 rpm para velocidades inferiores a 1000 rpm y memoria automática para obtener el último valor registrado, así como el máximo y mínimo histórico.

Vasos encamisados

Se utilizaron vasos de diferentes tamaños como se indica en la tabla 42.1.

Tabla 42.1. Vasos encamisados

Nº	Volumen	Diámetro interno	Altura interna	Diámetro externo	Altura externa
1	50 mL	37 mm	67 mm	60 mm	77 mm
2	100 mL	47 mm	59 mm	75 mm	73 mm
3	250 mL	52 mm	130 mm	70 mm	138 mm
4	1000 mL	80 mm	215 mm	110 mm	235 mm

4.3. Métodos

4.3.1. Determinación de la temperatura HLB o PIT

La temperatura HLB (o PIT) se determinó midiendo la conductividad de muestras en función del tiempo. Se procedió del siguiente modo: se pesaron los tensioactivos y el componente oleoso en un vial con tapa de rosca de 30 mL y, en otro vial, se pesó la solución acuosa (con o sin cloruro de sodio). Se añadió la solución acuosa sobre la fase oleosa y se agitó. Así se preparó un total de 20 g - 25 g de muestra. Después, se pasó la muestra a un balón de dos bocas de rosca de 50 mL. Dicho balón, se puso en un baño de agua-hielo a 5 °C, con agitación magnética a 700 rpm. Por una boca del balón se introdujo la sonda de temperatura y por la otra el electrodo del conductímetro. Se subió lentamente la temperatura hasta llegar a 80-90 °C, mientras se registraba el valor de la conductividad. Después, se bajó lentamente la temperatura añadiendo hielo al baño de agua, hasta llegar a 5 °C y registrando la conductividad. Al representar la conductividad en función de la temperatura, se obtuvieron gráficas como la de la figura 43.1, en las que se observa un cambio brusco en la conductividad. Dicho cambio coincide con el valor de la temperatura HLB.

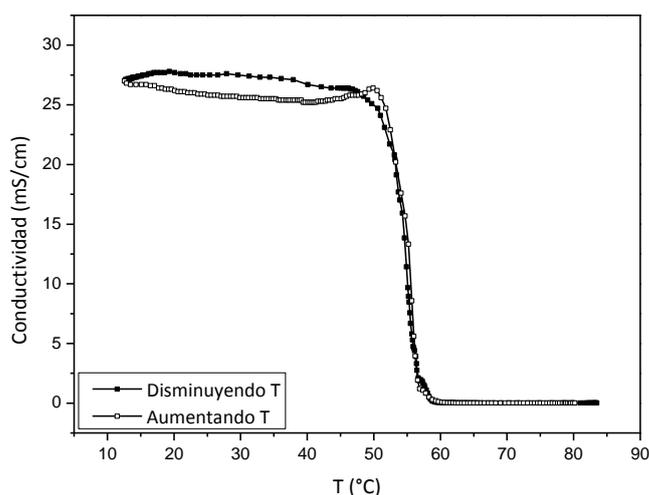


Figura 43.1. Ejemplo de la variación de la conductividad en función de la temperatura, T.

4.3.2. Formación de emulsiones altamente concentradas

En los ensayos preliminares se estudiaron diferentes métodos de formación de emulsiones altamente concentradas y posteriormente, el estudio se centró en el método de adición del componente acuoso a la mezcla del componente oleoso y el tensioactivo, ya que fue el más adecuado para los propósitos de este trabajo de investigación. A continuación se describen los métodos ensayados.

Agitación de la mezcla de componentes en su composición final

En un tubo de ensayo se pesaron el tensioactivo, el componente oleoso y el componente acuoso necesarios para preparar 5 g de muestra. Seguidamente, se agitó el tubo con un agitador vórtex hasta la formación de la emulsión.

Concentración de una emulsión diluida por centrifugación

Para preparar las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O por centrifugación, se partió de emulsiones preparadas por el método convencional de adición de fase acuosa a la oleosa y se realizaron diferentes etapas de centrifugación a velocidades entre 2500 – 3000 rpm. No se aumentó la velocidad de centrifugación para evitar la desestabilización de las emulsiones. Después de cada etapa de centrifugación, y con la ayuda de una pipeta pasteur, se retiró la fase oleosa que había separado, registrando su peso para poder determinar la composición final de la emulsión resultante.

Método de adición de fase acuosa (manual)

Mediante este método se formaron las emulsiones de las secciones 5.1.1 y 5.2.1. Para preparar las emulsiones manualmente, se pesó la cantidad necesaria de tensioactivo y componente oleoso en un tubo de ensayo, agitando la mezcla hasta que fuese homogénea. A continuación, se añadió la fase acuosa, gota a gota, agitando con un agitador vórtex después de cada adición. Así se prepararon hasta 5 g de emulsión altamente concentrada. Siguiendo este mismo procedimiento, se determinaron las zonas de formación de emulsiones concentradas y altamente concentradas. En este caso, se partió de 0,5 g de una mezcla de aceite y tensioactivo, con relaciones O/S desde 95/5 hasta 5/95. Se

4. EXPERIMENTAL

consideró que la emulsión se había formado cuando al invertir el tubo de ensayo la emulsión no fluía, y que se había desestabilizado cuando separaban las fases o no se acababa de incorporar la fase acuosa.

Método de adición de fase acuosa con adición y agitación controladas

Mediante este método se formaron las emulsiones de las secciones 5.1.2, 5.1.3, 5.2.2, 5.3 y 5.4. Para formar emulsiones altamente concentradas controlando mecánicamente la agitación y la adición de fase acuosa se utilizó un rotor y una bomba peristáltica, así como dos vasos encamisados conectados a un baño termostatzado. En un vaso encamisado se dispuso la mezcla del tensioactivo y el componente oleoso y en el otro el componente acuoso, comprobando que la temperatura fuese de 25 °C con la ayuda de una sonda. Se inició la agitación de la fase oleosa con un rotor equipado con una varilla en forma de hélice (en los primeros estudios se utilizó una hélice simple y posteriormente una hélice triple) y se comprobó la velocidad de agitación con un tacómetro. La fase acuosa se adicionó con la bomba peristáltica utilizando tubos, de silicona o marprene, de 1,85 mm de diámetro y controlando el tiempo de adición con un cronómetro.

Para formar emulsiones altamente concentradas incorporando parabenos, éstos se disolvieron en la fase acuosa (agua o mezclas de agua/propilenglicol 90/10) y se procedió de igual modo que para formar emulsiones sin dichas moléculas.

4.3.3. Determinación del tamaño de gota

El tamaño de gota de las emulsiones, así como su distribución, se determinaron por microscopía óptica. Para ello se dispuso una muestra en un portamuestras protegiéndola con un cubremuestras, y se observó al microscopio tomando fotografías a diferentes aumentos. Para los objetivos de mayor aumento se utilizó aceite de inmersión. Posteriormente, con el programa ImageJ, se midió manualmente el diámetro de 2000 gotas por imagen. A partir de estos datos, se representó un histograma con intervalos de 0,10 μm . El cálculo del diámetro promedio, d_n , se realizó mediante la ecuación 43.1, donde " d_i " es el diámetro de la gota y " n_i " el número de medidas (para las distribuciones de tamaño asimétricas se calculó la mediana del diámetro de gota).

$$d_n = \frac{\sum_i^N n_i * d_i}{\sum_i^N n_i} \quad \text{Ec. 43.1}$$

Asimismo, se calculó el valor del sumatorio de los diámetros elevados a la cuarta dividido por el sumatorio de los diámetros elevados al cubo para obtener el D(4,3) (ecuación 43.2).

$$D(4,3) = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^4}{\sum_{i=1}^n d_i^3} \quad \text{Ec. 43.2}$$

Una vez calculados el diámetro promedio y el D(4,3), se calculó el índice de polidispersidad (PDI) [Lovell, 1997] (ecuación 43.3).

$$PDI = \frac{D(4,3)}{d_n} \quad \text{Ec. 43.3}$$

El valor del índice de polidispersidad proporciona información sobre la distribución de tamaños de las gotas de la emulsión, así como de la existencia de diferentes poblaciones con tamaños diferenciados. Así, la muestra se considera monodispersa cuando el índice de polidispersidad tiende a 1 como analogía a la metodología utilizada con otros tipos de partículas. Como ejemplo, se considera que las partículas de látex son monodispersas cuando el índice de polidispersidad es menor de 1.05 [Tsaour, 1987].

Para algunas emulsiones también se determinó el tamaño de gota mediante dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS). Las medidas se realizaron a 25 °C y depositando las muestras en un capilar de vidrio de la marca Hilgenberg (glas no. 14) de 1 mm de diámetro interno, un grosor de 0,01 mm y 80 mm de largo. Para introducir las muestras en el capilar, se utilizó una jeringa con aguja de 0,9 mm de diámetro. Una vez introducida la muestra, se centrifugó el capilar a 2000 rpm durante 2 minutos, y posteriormente, se selló a la llama. En todas las muestras se registró el peso del capilar con y sin muestra para saber la cantidad de muestra, así como la altura que ocupaba la muestra en el capilar, para saber su volumen. Para cada muestra se realizaron dos medidas de 30 minutos. Además de determinar los espectros de las emulsiones se determinaron los de sus fases continuas. Asimismo, también se

4. EXPERIMENTAL

determinaron las transmitancias para poder realizar los cálculos que se describen a continuación.

Para calcular la intensidad correspondiente a las gotas de fase dispersa de la emulsión, se utilizó un factor de escalado con el objeto de que al restar la señal de la fase continua a la señal de la emulsión no se obtuvieran intensidades negativas [Schnablegger, 2013]. Así, la intensidad de las gotas, se calculó según la ecuación 43.4.

$$\Delta I(q) = I_{EAC} \frac{T_{FC}}{T_{EAC}} - I_{FC} \quad \text{Ec. 43.4}$$

Dónde, $\Delta I(q)$ es la intensidad de las gotas de fase dispersa, I_{EAC} es la intensidad de la emulsión altamente concentrada, T_{FC} es la transmitancia de la fase continua (es decir, la fase oleosa de las emulsiones W/O), T_{EAC} es la transmitancia de la emulsión y I_{FC} es la intensidad de la fase continua [Schnablegger, 2013].

A partir de los datos de intensidad se calculó la superficie específica, S_E , (ecuación 43.5).

$$S_E = 1000 \pi \frac{K_p}{Q} \phi (1 - \phi) \quad \text{Ec. 43.5}$$

Dónde, S_E es la superficie específica en m^2/cm^3 , K_p es la constante de Porod en nm^{-4} , Q es la invariante en nm^{-3} , y ϕ es la fracción en volumen de gotas o fase dispersa [Schnablegger, 2013]. Así, para determinar la superficie específica primero hay que calcular la constante de Porod y la invariante.

Utilizando la ecuación de Porod (ecuación 43.6) se puede calcular la constante K_p [Porod, 1951].

$$q^4 \Delta I(q) = K_p + B q^4 \quad \text{Ec. 43.6}$$

Dónde, q es el rango de medida, $\Delta I(q)$ es la intensidad de las gotas de fase dispersa, K_p es la constante de Porod, B es una constante que hace referencia al ruido de fondo de las medidas.

Para ello, se representa gráficamente $q^4 \Delta I(q)$ respecto q^4 , se ajusta mediante regresión lineal a una recta y a partir de la ordenada en el origen se obtiene dicha constante.

La invariante, Q , es una constante que agrupa factores instrumentales que son difíciles de determinar, como la intensidad del haz principal y el volumen de muestra irradiada [Debye, 1949]. Para determinarla, se realiza una integral como se indica en la ecuación 43.7.

$$Q 2\pi^2 = \int I(q) q^2 dq \quad \text{Ec. 43.7}$$

Dónde, Q es la invariante, $I(q)$ es la intensidad, q es el ancho del canal.

Una vez determinadas la constante de Porod y la invariante, se calculó la superficie específica, S_E , y a partir de ella el diámetro de gota (ecuación 43.8). Asimismo, se comparó con el diámetro obtenido por microscopía óptica mediante la ecuación del diámetro de Sauter, $D(3,2)$ (ecuación 43.9).

$$D(3,2) = 6 \frac{\phi}{S_E} \quad \text{Ec. 43.8}$$

Dónde, S_E es la superficie específica en m^2/cm^3 y ϕ es la fracción en volumen de gotas o fase dispersa.

$$D(3,2) = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^3}{\sum_{i=1}^n d_i^2} \quad \text{Ec. 43.9}$$

Dónde, d_i son los diámetros de gota de las emulsiones medidos por microscopía óptica.

4.3.4. Estabilidad de las emulsiones

El estudio de estabilidad de las emulsiones se realizó a 25 °C analizando las muestras macroscópicamente (observación visual), por microscopía óptica y mediante retrodifusión de luz.

Macroscópicamente se observó si la emulsión fluía, su homogeneidad o si presentaba separación de fases.

Mediante microscopía óptica se determinó el diámetro de gota de las emulsiones en función del tiempo. A partir de las imágenes obtenidas, también se determinaron las distribuciones de tamaño de gota de las emulsiones y se determinó su evolución con el tiempo.

Mediante retrodifusión de luz o “backscattering”, se determinó la variación de la intensidad de luz retrodifusa en todo el volumen de la muestra y en función del tiempo. Para ello, se introdujeron unos 30 g de emulsión en un vial prestando especial atención a que la parte superior de la muestra quedase horizontal. Seguidamente, se introdujo la muestra en el compartimento termostatzado del equipo, que previamente se había puesto en marcha para que se hallase acondicionado para realizar el ensayo (25 °C). Después de programar la medida a realizar, se inició la lectura de intensidad de luz retrodifusa o “backscattering”. Así se obtuvo un gráfico de la variación del porcentaje de “backscattering” respecto a la altura de la muestra (figura 43.2). Tanto la parte izquierda del gráfico, correspondiente a la parte inferior de la muestra, como la parte derecha, correspondiente a la parte superior de la muestra, no se consideran debido a las posibles fluctuaciones en la parte inferior del vial, así como en el menisco, ya que éste no es perfectamente plano. Así, observando la parte central del gráfico (figura 43.2: zona comprendida entre las líneas discontinuas) se puede observar si el “backscattering” varía de forma similar en todo el volumen de la muestra (indicación de que es homogénea). Si la intensidad de luz retrodifusa aumenta en la parte inferior de la muestra y disminuye en la parte superior, es indicativo de la existencia de sedimentación. Si por el contrario, disminuye en la parte inferior de la muestra y aumenta en la parte superior, se produce desestabilización por cremado. Si se observa una disminución de la intensidad de luz retrodifusa en la zona central, es indicativo de la existencia de coalescencia [Mengual, 1999].

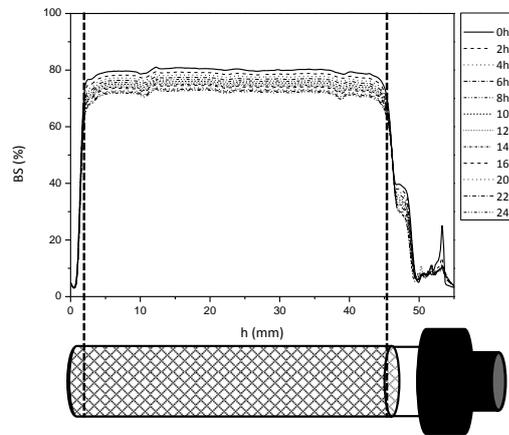


Figura 43.2. Variación de la intensidad de luz retrodifusa o “backscattering” (BS) para distintos tiempos, en función de la altura de la muestra (h), y correspondencia con la posición del tubo que contiene la muestra (la zona del gráfico comprendida entre las líneas discontinuas, es la zona con significado físico).

Después de analizar la evolución de la intensidad de luz retrodifusa a lo largo de la muestra, para cada tiempo, se integraron las curvas mostradas en la figura 43.2 en la zona delimitada por las líneas discontinuas. Así se determinó la evolución de la intensidad de luz retrodifusa con el tiempo. Cuanto menor sea su variación, más estable será la muestra.

4.3.5. Propiedades reológicas

Se realizaron ensayos oscilatorios y de fluencia utilizando un reómetro de esfuerzo controlado AR-G2 (TA Instruments). Los estudios preliminares para determinar si la presencia de parabenos influían en las propiedades reológicas de las emulsiones (sección 5.2.2.3) se realizaron con una geometría plato-plato de 25 mm de diámetro y con una distancia plato-plato de 1000 μm . Posteriormente, se utilizó la geometría cono-plato de 40 mm de diámetro, un ángulo de 4 ° y una distancia cono-plato de 105 μm por ser una geometría más adecuada para el estudio de las emulsiones preparadas ya que el tamaño de gota era de unas pocas micras y la distancia entre geometrías era 10 veces mayor al tamaño de partícula.

4. EXPERIMENTAL

Todas las medidas se realizaron depositando una pequeña cantidad de emulsión, con la ayuda de una espátula, entre las geometrías indicadas aplicando un mínimo de cizalla y manteniendo la temperatura a 25 °C mediante la utilización de un baño termostatzado. Para estudiar las propiedades reológicas de las emulsiones altamente concentradas se realizaron, por triplicado, ensayos oscilatorios y de flujo. A continuación se detallan los ensayos realizados.

Primer barrido de deformación

El barrido de deformación ("strain sweep") se realizó con el objetivo de determinar la zona de viscoelasticidad lineal, es decir la zona en la que el módulo elástico (G') es independiente de la deformación. Para realizarlo se fijó la frecuencia a 1 Hz. A partir de la representación de la evolución del módulo elástico (G') y viscoso (G'') respecto a la deformación (figura 43.3), se seleccionó un valor de deformación dentro de la zona de viscoelasticidad lineal (indicado por la línea vertical de puntos en la figura 43.3).

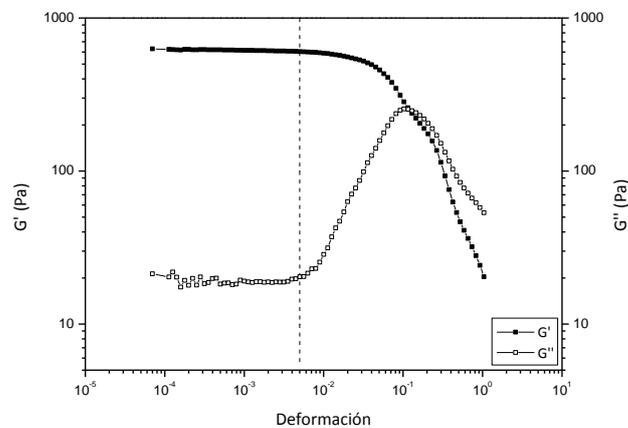


Figura 43.3. Ejemplo del barrido de deformación para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (la línea de puntos indica un valor de deformación seleccionado dentro de la zona de viscoelasticidad lineal).

Barrido de tiempo

Se realizó un barrido de tiempo (“time sweep”) para determinar el tiempo a partir del cual la muestra alcanza el equilibrio después de su manipulación al ponerla en el reómetro. Este tiempo de equilibrio, se utilizó en ensayos posteriores para eliminar los posibles efectos derivados de la cizalla producida al poner la muestra en el reómetro. Para determinarlo, se representó la variación de la fuerza normal respecto al tiempo (figura 43.4) para el valor de deformación seleccionado en el ensayo anterior (figura 43.3). Cuando se ha alcanzado el equilibrio se observa que la fuerza normal no varía con el tiempo.

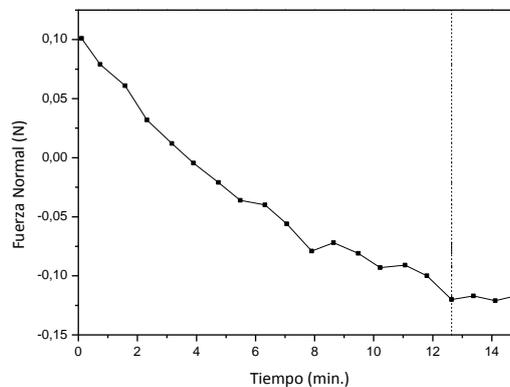


Figura 43.4. Ejemplo de la variación de la fuerza normal en función del tiempo para determinar el tiempo de equilibrio de la muestra (tiempo marcado con la línea discontinua).

Segundo barrido de deformación

Después de introducir la muestra entre las geometrías seleccionadas, se dejó equilibrar el tiempo establecido en el ensayo anterior (barrido de tiempo), y seguidamente se realizó un ensayo de deformación para determinar la zona de viscoelasticidad lineal, la deformación crítica y el valor del “melting strain”. La deformación crítica, o “critical strain” (γ_c), es la deformación a partir de la cual el valor del módulo elástico empieza a disminuir y la muestra empieza a perder su estructura inicial [Ramsay, 1986; Tadros, 2010, 2013b]. El segundo valor crítico de deformación es el “melting strain” (γ_m), y coincide con el punto en el que el módulo elástico es igual al viscoso. A pesar de estar fuera de la zona de

4. EXPERIMENTAL

viscoelasticidad lineal, lo que hace difícil la aplicación de modelos matemáticos y su interpretación, algunos autores consideran que en este punto la muestra ha perdido la estructura [Saiki, 2008; Tadros, 2010, 2013b]. En la figura 43.5, se muestra un barrido de deformación indicando con una línea continua vertical el valor de deformación crítica y con una línea discontinua vertical el valor de “melting strain”.

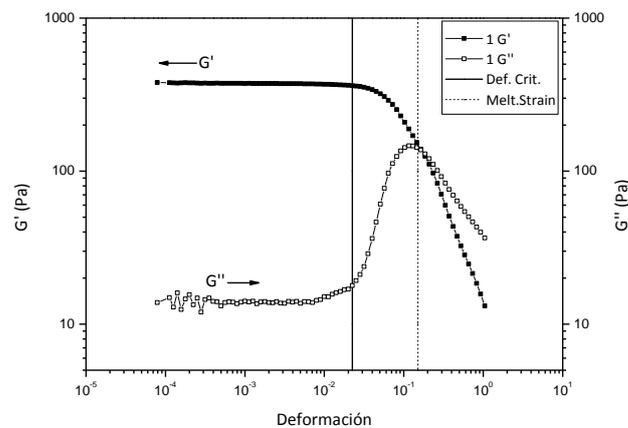


Figura 43.5. Ejemplo del barrido de deformación para determinar la deformación crítica (línea continua vertical) y el “melting strain” (línea discontinua vertical).

Mediante este ensayo, también se calculó la energía de cohesión de la emulsión, E_c , a partir de los valores de deformación crítica, γ_c , y el módulo elástico, G' (ecuación 22.11). Esta energía es un indicativo de estabilidad ya que cuanto más compacta y cohesionada sea la estructura de una emulsión, mayor suele ser su energía de cohesión [Ramsay, 1986; Tadros, 1990].

Barrido de frecuencia

Fijando un valor de deformación de la zona de viscoelasticidad lineal, se obtuvo el barrido de frecuencia y a partir de éste, el módulo elástico (figura 43.6). El valor del módulo elástico también proporciona una idea de la estabilidad de las emulsiones, ya que cuanto más estables sean, su valor suele ser mayor

[Princen, 1986b; Derkach, 2009]. El valor del módulo elástico utilizado en este trabajo corresponde a un valor con una frecuencia de 1 Hz.

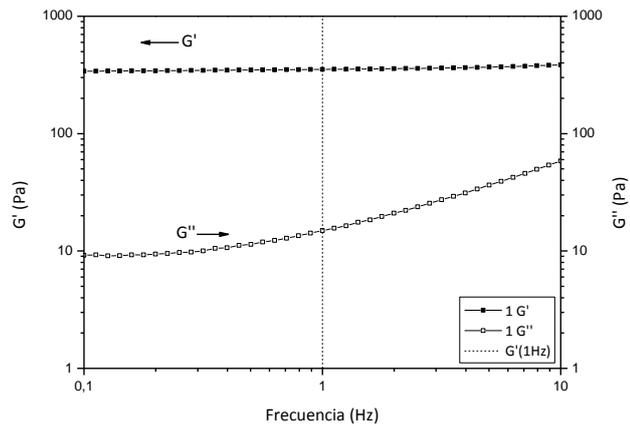


Figura 43.6. Ejemplo de barrido de frecuencia para determinar el módulo elástico, G' , a 1 Hz (línea de puntos vertical).

Ensayos de fluencia

Otro parámetro reológico estudiado, fue el umbral de fluencia o “yield stress” (σ_y). Dicho parámetro indica la resistencia que hay que superar para que la muestra empiece a fluir [Tadros, 2010]. Asimismo, en cosmética, se relaciona con la primera sensación que se obtiene al aplicar una crema sobre la piel [Bummer, 2006]. Para determinar el umbral de fluencia, se realizó un ensayo de fluencia representando la variación de la deformación de cizalla o “shear stress” respecto a la velocidad de cizalla o “shear rate” (figura 43.7).

4. EXPERIMENTAL

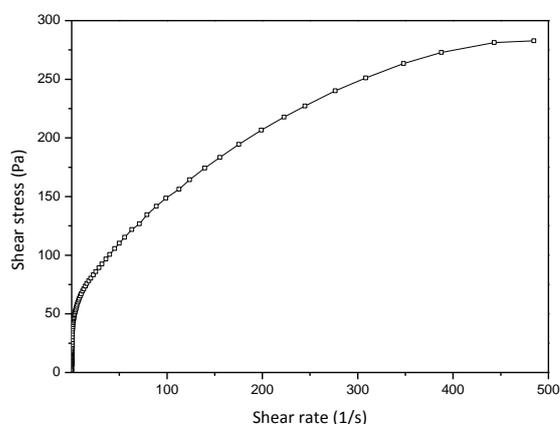


Figura 43.7. Ejemplo de la variación de la deformación de cizalla (“shear stress”) en función de la velocidad de cizalla (“shear rate”).

Posteriormente, se calculó el valor del umbral de fluencia utilizando el modelo de Herschel-Bulkley (ecuación 22.5)

4.3.6. Cuantificación de moléculas activas

La cuantificación de moléculas activas (metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno) se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución o “high performance liquid chromatography” (HPLC). El método de análisis se desarrolló a partir de métodos descritos en la literatura [Esposito, 2003; Zotou, 2010; Gao, 2011; Kumar, 2011]. Se utilizó una columna Water Spherisorb ODS2 C18 de 5 μm y 4,6 x 150 mm, y la detección se realizó mediante UV-visible a una longitud de onda de 257 nm. Se seleccionó esta longitud de onda porque previamente se determinó la variación de la absorbancia en función de la longitud de onda, obteniendo un máximo para las tres moléculas a 257 nm (figura 43.8).

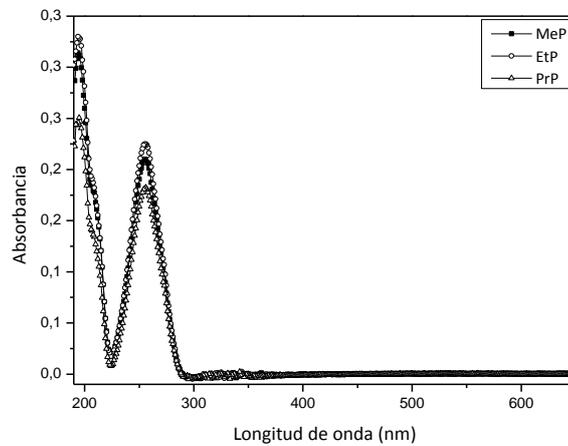


Figura 43.8. Absorbancia en función de la longitud de onda para soluciones en agua/acetonitrilo 65/35 de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP).

Las condiciones de análisis se determinaron analizando patrones de cada parabeno y ajustando la composición de la fase móvil hasta optimizar el método de análisis. Así se determinó que las condiciones óptimas para analizar los parabenos era utilizar un método isocrático agua/acetonitrilo 65/35, con un flujo de 1 mL/min, un volumen de inyección de 10 μ L - 20 μ L y una temperatura de 30 °C. En estas condiciones, los tiempos de retención de una solución de cada parabeno fueron de 4,4 minutos para el metilparabeno, 6,7 minutos para el etilparabeno y 11,3 minutos para el propilparabeno (figura 43.9).

También se analizaron mezclas de los tres parabenos tanto en etanol como en una solución agua/propilenglicol 90/10, ya que fueron los disolventes a utilizar en los análisis de las emulsiones. Los resultados fueron similares en los dos medios, como se muestra en la figura 43.10.

4. EXPERIMENTAL

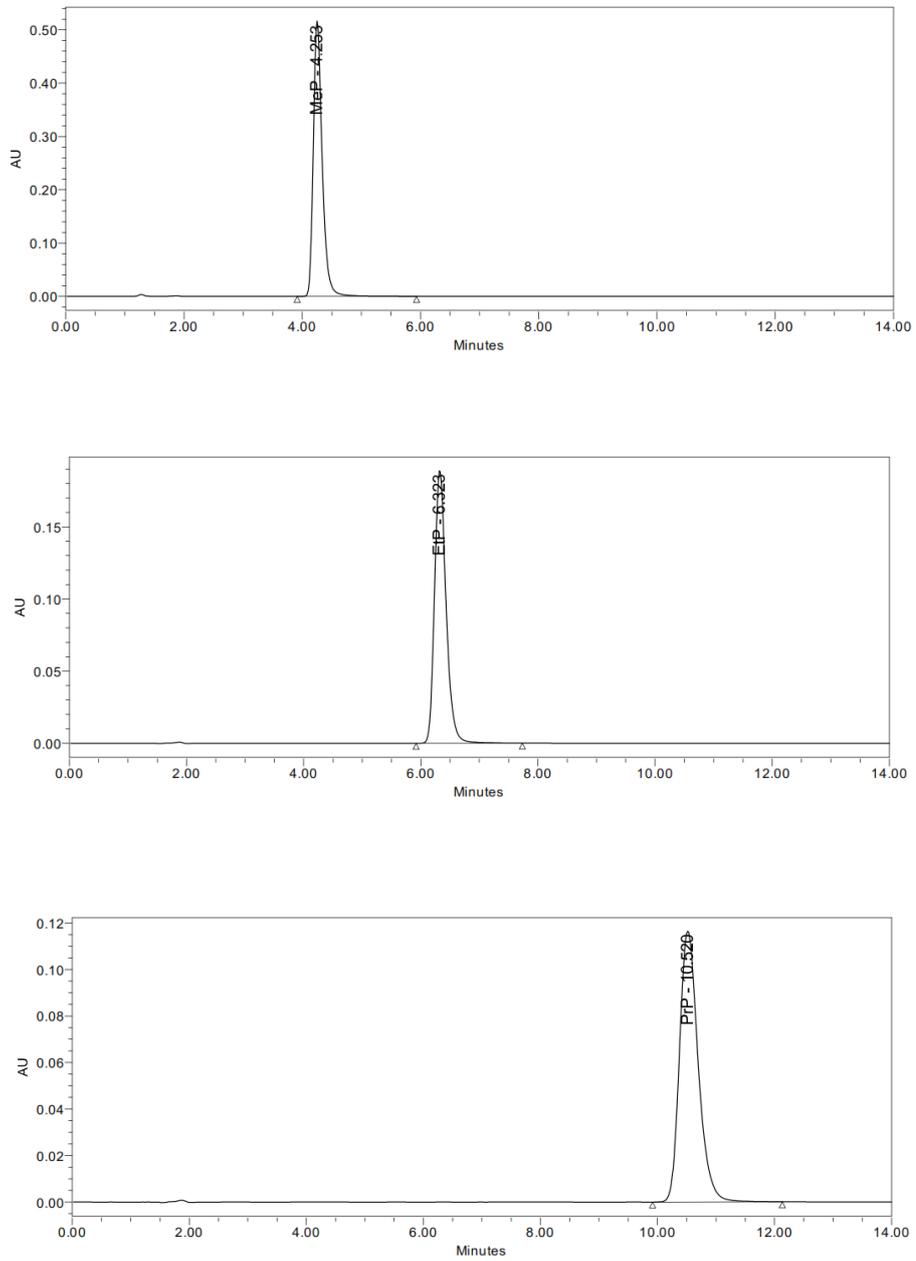


Figura 43.9. Cromatogramas para una solución en etanol de metilparabeno (MeP), de etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP).

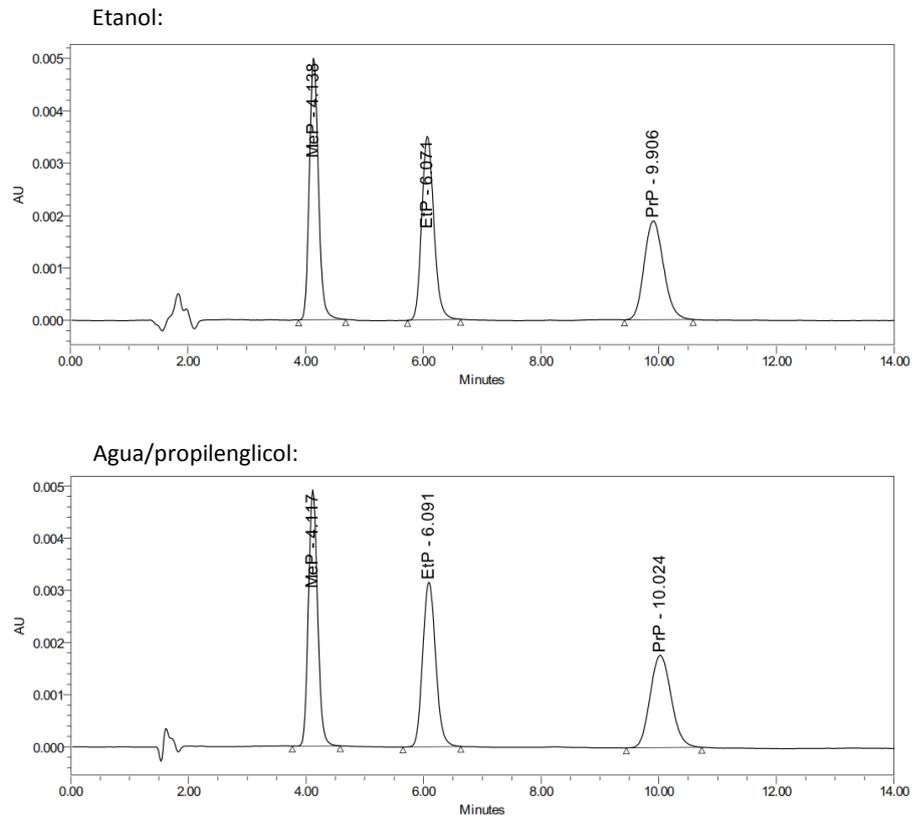


Figura 43.10. Cromatogramas para una solución de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP) en una relación 1/1/1 en peso, en etanol y en agua/propilenglicol 90/10.

Calibrado

El proceso de calibrado se realizó preparando patrones a diferentes concentraciones y analizándolos en las condiciones descritas. Al representar los valores de área obtenidos respecto a las concentraciones de cada patrón, los resultados obtenidos se ajustaron mediante un modelo de regresión lineal. La calibración se hizo utilizando etanol y, posteriormente, la mezcla agua/propilenglicol 90/10 como disolventes. A partir de las rectas de calibrado se determinó la zona de respuesta lineal y, por consiguiente, las concentraciones límite de los patrones. A modo de ejemplo, se muestran unas rectas de calibrado para cada parabeno en etanol (figura 43.11).

4. EXPERIMENTAL

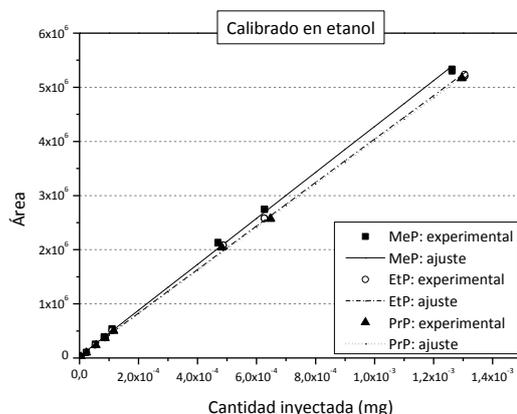


Figura 43.11. Rectas de calibrado en etanol para una mezcla de metilparabeno, MeP (cuadrados negros), etilparabeno, EtP (círculos blancos) y propilparabeno, PrP (triángulos negros). Las líneas indican el ajuste por regresión.

Determinación de la solubilidad máxima

Para cada molécula se realizó un estudio de solubilidad en agua, en mezclas agua/propilenglicol, en etanol y en mezclas agua/acetoneitrilo. Para ello, se preparó una solución saturada y se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Después, se centrifugó y se filtró una alícuota con un filtro de jeringa de nylon de 0,22 μm de paso. La muestra filtrada se analizó por HPLC determinando el valor de la concentración, es decir, el valor de la solubilidad máxima. Asimismo, también se realizó este mismo análisis para una solución en la que estaban presentes una mezcla de los tres parabenos en una relación 1:1:1 en peso.

Preparación de patrones en etanol

En un vial de 50 mL previamente tarado, se pesó $10,0 \pm 0,2$ mg de cada parabeno, registrando su peso. Seguidamente se añadieron 50 mL de etanol, se tapó el vial y se registró el peso. Después de agitar hasta total disolución, se hizo una dilución 0,1/10, por peso. El patrón se filtró con un filtro de jeringa de 0,45 μm de teflón (politetrafluoroetileno) y se trasvasó a un vial de HPLC para su posterior análisis.

Preparación de patrones en agua/propilenglicol 90/10

En un vial de 50 mL previamente tarado, se pesó $10,0 \pm 0,2$ mg de cada parabeno, registrando su peso. Seguidamente se añadieron 5 mL de propilenglicol, se tapó el vial y se registró el peso. La muestra se disolvió manteniéndola en un baño de ultrasonidos durante 5 minutos. Posteriormente, se añadió 45 ml de agua y se registró el peso. Después de agitar para homogeneizar, se hizo una dilución 0,1/10 por peso, utilizando como solvente agua/propilenglicol 90/10. El patrón se filtró con un filtro de jeringa de $0,45 \mu\text{m}$ de teflón (politetrafluoroetileno) y se trasvasó a un vial de HPLC para su posterior análisis.

Análisis de los parabenos incorporados en las emulsiones

En un vial de 10 mL previamente tarado, se trasvasaron aproximadamente 0,25 g de emulsión, registrando su peso. Seguidamente, se añadieron 10 mL de etanol, registrando el peso de la solución final. Después de agitar la muestra con un agitador vórtex, se filtró una alícuota con un filtro de jeringa de teflón de $0,45 \mu\text{m}$ de paso y se trasvasó a un vial de HPLC para su posterior análisis.

Análisis de muestras procedentes de la diálisis

Las muestras provenientes del estudio de liberación realizado mediante diálisis, se analizaron depositando 1 mL de la solución receptora en un vial de HPLC. Este proceso se realizó a distintos tiempos y todas las muestras se inyectaron en el cromatógrafo directamente, ya que eran soluciones de los parabenos en agua/propilenglicol 90/10. Sin embargo, para analizar la emulsión que quedaba en el dispositivo de diálisis, se realizó el análisis de la emulsión como se ha indicado anteriormente.

Secuencias de análisis

Cada vez que se analizaron muestras por HPLC se siguió el mismo orden de inyección de muestras. Primero se inyectó un patrón para comprobar que tanto, la simetría del pico de la muestra como su tiempo de retención eran correctos, verificando así el buen estado de la columna y precolumna. Después se inyectó un blanco de etanol y de agua/propilenglicol 90/10 para verificar

que los picos que se detectasen procedían de las muestras. Seguidamente, se inyectaron 5 patrones para garantizar que las desviaciones, tanto en las áreas como en los tiempos de retención, estaban dentro de los parámetros establecidos por el método asegurando así el buen funcionamiento del equipo. Después de todo el proceso de comprobación, se inyectaron secuencias de: dos patrones – 8 muestras – dos patrones. Para analizar las muestras se utilizaban los factores de respuesta de los patrones entre los que estaban, siendo los factores de respuesta la división entre el área del pico de patrón y la cantidad de patrón inyectada (en mg).

4.3.7. Liberación de moléculas activas

Se estudió la liberación del metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno incorporados en emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras a 25 °C. Los experimentos se realizaron utilizando tres vasos encamisados dispuestos encima de una multiplaca con agitación magnética, y conectados a un baño termostatzado para mantener la temperatura. Asimismo, se utilizaron dispositivos de diálisis con membrana de éster de celulosa de 3,5 – 5,0 kDa de tamaño de poro (tamaño muy superior al de los parabenos), y agua o una solución de agua/propilenglicol 90/10, como soluciones receptoras. Siempre se realizaron los experimentos por triplicado y siguiendo las “condiciones de Sink”, es decir, que la concentración de parabeno en la solución receptora no sobrepasase el 10 – 20 % de su solubilidad máxima [Gibaldi, 1967; Guy, 2003].

Antes de iniciar el estudio de liberación se acondicionaron las membranas de diálisis y se llenaron los vasos encamisados con 40 mL de solución receptora dejando unos minutos para que la solución estuviese a 25 °C, comprobando la temperatura con una sonda.

La liberación se llevó a cabo con 1,5 – 2,0 g de muestra en el dispositivo de diálisis, previamente acondicionado, y sumergiéndolo en 40 ml de solución receptora. Con una pipeta automática, se extrajo 1 mL de muestra de solución receptora, reponiendo dicho volumen con solución nueva. Durante la primera hora se extrajo muestra a los 5, 15, 20, 30 y 45 minutos. Después, cada hora hasta 9 horas y posteriormente a las 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 horas desde el inicio del estudio. Todas las muestras se depositaron en viales y se analizaron mediante HPLC, obteniendo las distintas curvas de liberación.

Los resultados de liberación de los tres parabenos desde la emulsión altamente concentrada, se ajustaron a modelos teóricos para determinar si se ajustaban al modelo de difusión de Fick [Fick, 1855], ecuación 43.10, o a un modelo cinético de primer orden [Rocca, 1999], ecuación 43.11.

$$Q = k t^{1/2} \quad \text{Ec. 43.10}$$

Dónde, Q es la concentración de la molécula activa liberada, k es una constante y t, el tiempo.

$$\log(A_0 - Q) = \log A_0 - k t \quad \text{Ec. 43.11}$$

Dónde, A_0 es la concentración inicial de la molécula activa en la emulsión, Q es la concentración de la molécula activa liberada, k es una constante y t, el tiempo.

4.3.8. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos es un conjunto de herramientas estadísticas mediante las que se pueden identificar los factores que pueden influir en el resultado de un experimento realizando un mínimo de ensayos [Miller, 1993; Montgomery, 2001]. El método de investigación "clásico" se basa en un proceso en el que en cada etapa se modifica una sola variable experimental manteniendo las demás constantes. Así se realiza una serie de experimentos hasta alcanzar el objetivo propuesto. Sin embargo, mediante el diseño de experimentos se realiza un conjunto de experimentos previamente definidos en los que se modifican a la vez todas las variables. Este hecho permite alcanzar el objetivo propuesto realizando un mínimo de ensayos y además, se pueden estudiar efectos que influyen en el resultado que mediante el método clásico

4. EXPERIMENTAL

sería muy difícil determinar. Por todo ello, los diseños de experimentos se utilizan, generalmente, para:

- determinar las principales causas de variación en las variables respuesta,
- encontrar las condiciones experimentales en las que se consigue un valor extremo en la variable de interés o respuesta,
- comparar las respuestas en diferentes niveles de observación de variables controladas,
- obtener un modelo estadístico-matemático que permita hacer predicciones de respuestas futuras.

La aplicación de un diseño de experimentos implica seguir una serie de etapas, que, de forma resumida, son [Montgomery, 2001]:

- Identificar los factores que pueden influir en el experimento, determinar los valores límites que pueden tener, así como sus niveles (el número de valores a estudiar) y características (factores cualitativos o cuantitativos, continuos o discretos).
- Seleccionar los experimentos a realizar de forma que se alcance el objetivo propuesto con un mínimo de ensayos, se minimicen los factores incontrolados y se asegure que se realiza un número de ensayos adecuado.
- Realizar los experimentos en orden aleatorio para poder estimar los errores sistemáticos.
- Analizar los resultados obtenidos mediante herramientas estadísticas e interpretarlos.

La nomenclatura que se suele utilizar en los diseños de experimentos es la siguiente [Goupy, 1993; Montgomery, 2001]:

- Factor: variable a controlar que se suele identificar con una letra (por ejemplo, factor A = temperatura).
- Nivel: número de valores que toma el factor (por ejemplo, dos niveles: 25 °C y 37 °C).
- Variable o factor respuesta: parámetro a estudiar (por ejemplo, tamaño de gota).
- Efecto de un factor: cambio que se produce en la respuesta al variar el nivel del factor.

- Interacción: cambio que se produce en el efecto de un factor al variar el nivel de otro. Estas interacciones pueden ser de orden dos, tres o superior (por ejemplo, si se consideran los factores A, B y C, una interacción de orden 2, "AB", sería el cambio en el efecto del factor A a distintos niveles del factor B; y una de orden 3, "ABC", sería el cambio del efecto de la interacción AB a distintos niveles de C).

Para definir los experimentos a realizar, se crea una matriz en la que se combinan los diferentes niveles de los factores, y sus posibles interacciones (tabla 43.1).

Tabla 43.1. Ejemplo de cómo se construye la matriz de un diseño factorial (A y B: factores del diseño; - y +: nivel bajo y alto de los factores; Y_i : valor de la variable respuesta Y).

Experimento	A	B	...	Y
1	-	-	...	Y_1
2	+	-	...	Y_2
3	-	+	...	Y_3
4	+	+	...	Y_4
...

Además, los experimentos se diseñan teniendo en cuenta que se disponga de grados de libertad suficientes para hacer una estimación del error. Los grados de libertad asociados a un diseño de experimentos se calculan como el número total de experimentos a realizar menos uno. Así, los grados de libertad disponibles para calcular el error es el número total de grados de libertad del diseño menos los grados de libertad utilizados para calcular cada efecto. En la tabla 43.1, se muestra un ejemplo del cálculo de los grados de libertad para un diseño factorial de dos factores, A y B.

Tabla 43.2. Ejemplo de cálculo de los grados de libertad en un diseño de experimentos (A y B: factores del diseño; a y b: niveles de A y B, respectivamente; AB: interacción de los dos factores; n: número total de experimentos).

Efecto	Grados de libertad
A	$a - 1$
B	$b - 1$
AB	$(a - 1)(b - 1)$
Error	$(n - 1) - (a - 1) - (b - 1) - ((a - 1)(b - 1))$
Total	$n - 1$

4. EXPERIMENTAL

A continuación se explican brevemente los dos tipos de diseños de experimentos utilizados en esta tesis, así como el procedimiento seguido para su posterior análisis y la optimización del diseño factorial. Tanto la planificación de los diseños como su posterior análisis se realizaron con el software Statgraphics Plus 5.1. Asimismo, también se realizaron los cálculos mediante el programa Release 12, de Stata, utilizando la estrategia de modelización de Hosmer&Lemeshow, llegando a las mismas conclusiones en cuanto a los factores influyentes en cada modelo hallado.

Diseño central compuesto

Este diseño se utilizó para estudiar la influencia de la relación aceite/tensioactivo (O/S) y porcentaje de fase acuosa (FW), en el tamaño de gota y el módulo elástico de las emulsiones del sistema agua/Span80/aceite de parafina.

El diseño de superficie seleccionado fue un diseño central compuesto (CCD) para dos factores, A y B, a dos niveles, con estrella y tres puntos centrales, y con una ecuación de tipo:

$$Y = b_0 + b_1 A + b_2 B + b_3 AB + b_4 AA + b_5 BB \quad \text{Ec. 43.12}$$

Dónde, Y, es la variable respuesta, A y B, los factores a estudiar y b_{0-5} los coeficientes a determinar.

Mediante este diseño, se realizaron un total de 11 experimentos (figura 43.12) en orden aleatorio, como se muestra en la matriz del diseño (tabla 43.3). En total se tenían que determinar 5 coeficientes y se realizaron 11 experimentos por lo que se disponían de suficientes grados de libertad para determinar el error experimental asociado.

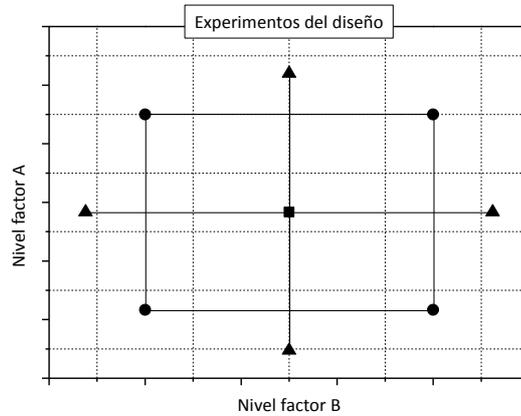


Figura 43.12. Representación gráfica de los experimentos a realizar en el diseño central compuesto de dos factores a dos niveles (círculos) con estrella (triángulos) y 3 puntos centrales (cuadrados).

Tabla 43.3. Matriz del diseño de experimentos central compuesto de dos factores a dos niveles con estrella y tres puntos centrales, en orden aleatorio (A y B: factores a estudiar; -1,414, -1, 0, 1, 1,414: niveles a estudiar desde el más bajo al más alto).

Experimento	A	B
1	1,414	0
2	-1	1
3	0	-1,414
4	0	0
5	1	-1
6	-1	-1
7	0	2
8	1	1,414
9	0	0
10	0	0
11	-1,414	0

Diseño factorial fraccionado

Este diseño se utilizó para modelizar la liberación de parabenos en el sistema modelo solución acuosa/Span80/aceite de parafina (dónde la fase acuosa estaba compuesta por una solución de agua/propilenglicol 90/10 con metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, en una concentración de 0,2 mg/mL para cada parabeno), así como para relacionar el tamaño de gota con otras propiedades de las emulsiones. Los factores a estudiar fueron factores de composición (relación aceite/tensioactivo y porcentaje de fase acuosa) y factores de formación (velocidad de agitación y velocidad de adición de fase acuosa).

Se seleccionó un diseño factorial fraccionado de tipo 2^{6-2} (anexo A54.1.1) utilizando los cuatro primeros factores, a dos niveles, para obtener dos factores a tres niveles (A y B) y dos factores a dos niveles (C y D), siguiendo el procedimiento expuesto por Montgomery [Montgomery, 2001]. La ecuación de este tipo de diseño es:

$$Y = b_0 + b_1 A + b_2 B + b_3 C + b_4 D + b_5 AB + b_6 AC + b_7 AD + b_8 BC + b_9 BD + b_{10} CD + b_{11} AA + b_{12} BB \quad \text{Ec. 43.13}$$

Dónde, Y, es la variable respuesta, A y B, los factores a estudiar a tres niveles, C y D, los factores a estudiar a dos niveles y b_{0-12} los coeficientes a determinar.

Mediante este diseño se realizan un total de 16 experimentos y como se tenían que determinar 13 coeficientes, había suficientes grados de libertad para poder hacer una estimación del error asociado al modelo.

Si se hubiese realizado un diseño de experimentos factorial completo se tendrían que haber hecho un total de 36 experimentos, ya que hay 2 factores a dos niveles y dos a tres niveles ($2^2 \times 3^2 = 36$). Sin embargo, mediante el diseño factorial fraccionado, con 16 experimentos se puede llegar a obtener la misma información que se hubiese obtenido realizando los 36. En la tabla 43.4, se muestra la matriz del diseño factorial fraccionado una vez se han ordenado los experimentos de forma aleatoria.

Tabla 43.4. Matriz del diseño de experimentos factorial fraccionado en orden aleatorio (A y B: factores a estudiar a tres niveles, C y D: factores a estudiar a dos niveles; -1, 0, 1: niveles a estudiar desde el más bajo al más alto).

Experimento	A	B	C	D
1	0	1	-1	-1
2	1	1	1	1
3	0	1	-1	1
4	-1	-1	-1	-1
5	-1	0	-1	1
6	1	0	1	-1
7	1	0	-1	-1
8	0	0	-1	-1
9	-1	0	1	1
10	-1	1	1	-1
11	1	-1	-1	1
12	0	0	1	-1
13	0	0	-1	1
14	0	-1	1	1
15	0	0	1	1
16	0	-1	1	-1

Análisis de los diseños de experimentos

Una vez realizados los experimentos se realizó un análisis estadístico de los resultados con el test ANOVA siguiendo la ecuación del modelo predicho por el diseño de experimentos. Así se determinan los factores que influyen significativamente en el modelo con un 95 % de significación ($p_{\text{valor}} > 0,05$). También se utilizó el diagrama de Pareto en el que una línea vertical indica el nivel de significación ($\alpha = 0,05$) y todos los factores que la sobrepasan influyen significativamente en el modelo (figura 43.13).

Gráfico de Pareto estandarizado para d

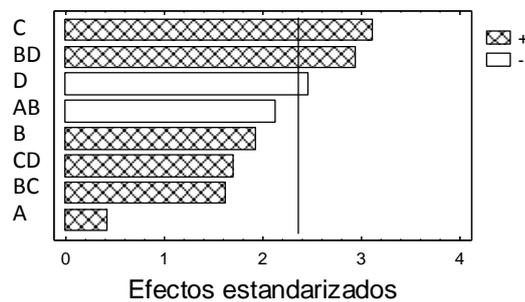


Figura 43.13. Ejemplo de un diagrama de Pareto para la variable respuesta d, en el que los factores que influyen significativamente en el modelo son los factores C, BD y D.

4. EXPERIMENTAL

Para seleccionar los factores del modelo, además de seleccionar los factores que influyen significativamente, también se tienen que seleccionar aquellos factores principales que no son significativos pero que tienen alguna interacción que sí lo es. Por ejemplo, en el diagrama de Pareto de la figura 43.13, el factor B, no es un factor significativamente influyente y, sin embargo, su interacción BD sí. Por este motivo, no se podría descartar el factor B del modelo. Además, también se tienen que incluir en el modelo todos aquellos factores que el investigador considere relevantes a pesar de que su nivel de significación sea bajo [Miller, 1993].

En esta tesis, siempre se consideró el efecto de los factores principales ya que los intervalos de estudio seleccionados eran muy pequeños y podría ser que algún factor principal no fuese significativo por la región tan pequeña seleccionada en el estudio. Además, se consideró que las interacciones de orden 3, o superiores, tenían un efecto despreciable respecto a las otras interacciones y, por lo tanto, no se consideraron.

Para todos los modelos así determinados, se comprobó la validez mediante la observación de los valores de los residuos de las variables respecto los valores predichos por el modelo. Si el modelo hallado es válido, en este gráfico los puntos tienen que estar distribuidos aleatoriamente sin mostrar ningún patrón definido. En la figura 43.14, se muestra un ejemplo de un gráfico de residuos de la variable "d", donde se observa una distribución aleatoria de los residuos.

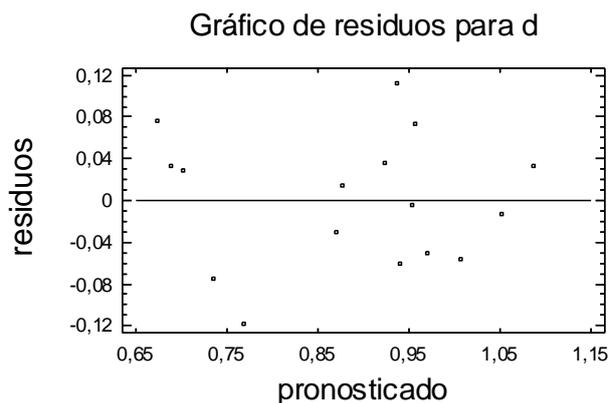


Figura 43.14. Ejemplo de gráfico de residuos de la variable d respecto a los residuos pronosticados por el modelo.

Por último, para cada modelo se representó el gráfico de efectos principales. Mediante este gráfico se observa cómo afecta a una variable respuesta, el pasar del nivel bajo de un factor a su nivel alto. A modo de ejemplo, en la figura 43.15, se muestra un gráfico de efectos principales en el que se observa que la variable d aumenta al aumentar los factores A, B y C, y disminuye al aumentar el factor D.

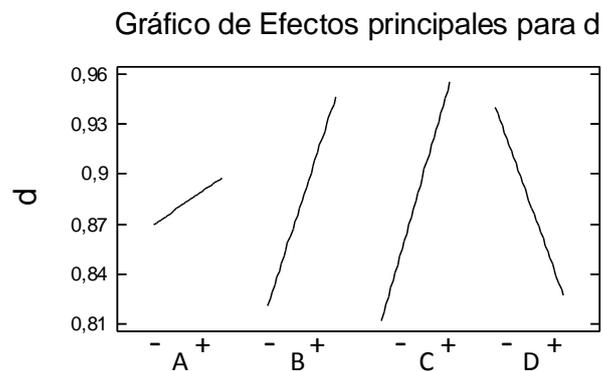


Figura 43.15. Ejemplo de gráfico de efectos principales de los factores A, B, C y D, para la variable d .

Optimización del diseño de experimentos factorial

Las variables respuesta se pueden optimizar utilizando la función de conveniencia y las superficies de respuesta [Montgomery, 2001]. Mediante esta metodología se halla una función en la que se puede determinar la combinación de factores que optimizan una variable. La función suele ser una función polinómica de primer o segundo orden. Al calcular los valores de respuesta esperada mediante dicha función, y representarlos respecto a los valores que toman los factores se obtienen los gráficos de superficie de respuesta. En estos gráficos se delimitan las zonas donde se puede maximizar o minimizar una variable respuesta [Montgomery, 2001]. En esta tesis, se ha utilizado esta metodología para optimizar una serie de variables modelizadas mediante el diseño de experimentos factorial fraccionado.

4.3.9. Escalado

El proceso de escalado es un proceso complejo dónde existen diferentes parámetros que establecen relaciones entre las dos escalas [Levin, 2006]. En estudios recientes se ha prestado especial atención al escalado de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, incluso aplicando diseños de experimentos para estudiar las variables más influyentes [Capdevila, 2010; May-Masnou, 2013; May-Masnou, 2014].

En esta tesis se ha realizado un estudio preliminar de escalado con el objetivo de comprobar si los resultados de liberación obtenidos eran similares a los resultados de liberación de la formulación optimizada mediante un diseño de experimentos factorial. Para ello se han considerado parámetros geométricos de los vasos encamisados y de las varillas de agitación, así como el tiempo de adición. Sin embargo, se mantuvo la velocidad de agitación igual que en la escala pequeña, ya que si se pretendía mantener constante el número de Reynolds o la velocidad lineal, la velocidad de agitación resultante para la escala grande era muy pequeña para formar una emulsión altamente concentrada. Otro parámetro que se mantuvo constante fue el tiempo de adición de la fase acuosa, para ello se tuvo que aumentar la velocidad de adición. Sin embargo, con el objetivo de mantener igual el tamaño de gota de fase acuosa que se adiciona, se optó por utilizar dos canales de adición en la escala grande para poder utilizar el mismo tubo de adición y no tener que variar así su diámetro. Se pensó que cuanto más parecido fuese el tamaño de gota de la solución acuosa adicionada, más parecidas serían las propiedades de la emulsión a escala grande.

En resumen, los parámetros que se mantuvieron constantes en las dos escalas fueron:

- relación entre la altura de la muestra en el vaso y su diámetro interno,
- relación entre la distancia inter ejes y el diámetro del vaso,
- relación entre el diámetro de giro del eje y el diámetro del vaso,
- tiempo de adición (manteniendo el diámetro del tubo de adición constante).

4.3.10. Métodos estadísticos

El análisis estadístico se realizó utilizando el software estadístico Release 12, de Stata® [StataCorp, 2011], y utilizando un grado de significación del 95 % ($\alpha = 0,05$). A continuación se enumeran los métodos estadísticos utilizados.

Estadística descriptiva

Las distribuciones de tamaño de gota se representaron mediante histogramas, diagramas de cajas o “box-plot” [Peña, 2002]. Para aquellas distribuciones que eran más asimétricas y se alejaban de la normalidad, se calcularon las medianas del diámetro de gota con los percentiles al 5 % y 95 %. Sin embargo, en las distribuciones que eran más simétricas, como aproximación, se utilizó el diámetro promedio con el intervalo de confianza, considerando el teorema del límite central [Miller, 1993].

Estadística comparativa

Se utilizaron matrices de dispersión para evaluar posibles correlaciones entre distintas variables [Peña, 2002].

Asimismo, se utilizaron dos pruebas no paramétricas como el test de Wilcoxon [Wilcoxon, 1945] y Kruskal-Wallis [Kruskal, 1957], para comparar factores con dos categorías o varias, respectivamente.

Se utilizó un algoritmo de agrupamiento o “cluster” para comparar series de datos, representando los resultados mediante dendogramas [Peña, 2002]. Para construir un dendrograma, se asigna un vector a cada conjunto de datos y se determinan las distancias euclídeas. En el eje inferior del gráfico se indican los elementos iniciales. Dichos elementos se unen mediante tres líneas rectas. Dos van dirigidas a los elementos que se unen y son perpendiculares al eje dónde están situados, y la tercera línea, que es paralela a dicho eje, se sitúa en el nivel que une a los dos elementos. Este proceso se repite hasta que todos los elementos quedan unidos. Así, a menor distancia, mayor similitud entre los resultados experimentales.

Modelización

Se utilizaron modelos de regresión lineal [Draper, 1998] para las rectas de calibrado del método analítico.

Para comprobar los resultados obtenidos en los diseños de experimentos con Statgraphics, se utilizó la modelización de Hosmer&Lemeshow [Hosmer, 2013]. A modo de resumen, dicha estrategia consiste en calcular modelos independientes (mediante ANOVA o regresión) para cada variable escogiendo aquellos en los que la probabilidad asociada a la F de Fisher sea menor de 0,25. Asimismo, también se añaden las variables que el investigador considere relevantes aunque no cumplan esta condición. Una vez seleccionadas todas las variables, se construye un modelo y si la F de Fisher es menor de 0,05 se considera que existe una relación lineal (en caso contrario, no significa que las variables no estén relacionadas, sino que puede ser otro tipo de relación). Para ajustar el modelo, se pueden eliminar los factores que no son influyentes. Para ello, se calcula el modelo con el factor a estudiar, se calcula el modelo sin dicho factor, y se comparan ambos mediante el test de verosimilitudes o “Likelihood-ratio test”. Si el p-valor es inferior a 0,10, el factor eliminado influye mucho y no se puede eliminar del modelo, pero si es igual o mayor que 0,10 se puede eliminar del modelo.

5. Resultados y discusión

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

En esta sección se describen los ensayos realizados para seleccionar los componentes de los sistemas ternarios agua/tensioactivo/aceite y los métodos de formación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, adecuados para poder conseguir los objetivos propuestos en esta tesis.

5.1.1. Selección de los componentes oleosos y tensioactivos

En la selección de los componentes de las emulsiones se tuvieron en cuenta criterios de biodegradabilidad y de biocompatibilidad, con el propósito que pudieran tener un impacto mínimo en el medio ambiente y aplicaciones en los campos farmacéutico, cosmético y alimentario.

Se seleccionaron tensioactivos con un número HLB bajo ya que se pretendía formar emulsiones del tipo W/O [Shinoda, 1969; Shinoda, 1978]. Así se escogieron tensioactivos derivados de ésteres como el poligliceril-2 diisoestearato (IS-202P) y el monoleato de sorbitán (Span80), de alcoholes grasos etoxilados (Brij52), del aceite de ricino (CremophorWO7), y dos tensioactivos poliméricos de bloque o copolímeros (SynperonicL2 y PluronicL121). Además, también se seleccionó un tensioactivo etoxilado, concretamente un éster derivado del sorbitano (Tween80), con el propósito de estudiar la formación de emulsiones mediante el método de inversión de fases o método PIT [Shinoda, 1969]. Los componentes oleosos seleccionados fueron hidrocarburos alifáticos (aceite de parafina y escualano), un éster derivado del ácido oleico (decil oleato) y un triglicérido derivado de los ácidos grasos caprílico/cáprico (triglicéridos de cadena media). En un primer ensayo, se seleccionó la relación O/S 70/30 para estudiar la formación de emulsiones altamente concentradas mediante la adición de la fase acuosa a la mezcla de los otros dos componentes (componente oleoso y tensioactivo). Se consideró que las emulsiones eran concentradas cuando dejaban de fluir y altamente concentradas, cuando se había adicionado más del 74 % de fase acuosa y continuaban sin fluir. En la tabla 51.1 se muestran los resultados con los tensioactivos lipofílicos y los componentes oleosos seleccionados, y se indica si la emulsión se forma o no, así como el intervalo de concentraciones de fase acuosa. Se observó que se formaban emulsiones concentradas y altamente concentradas con los tensioactivos IS-202P, Span80 y CremophorWO7 y todos los aceites seleccionados (tabla 51.1: nº 1-3), incorporando concentraciones máximas de fase acuosa de aproximadamente un 90 %. Con el tensioactivo Brij52 no se formaron emulsiones con ninguno de los aceites seleccionados

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

(tabla 51.1: nº 4) y con el tensioactivo SynperonicL2 sólo se formaron emulsiones con los aceites menos polares: aceite de parafina y escualano (tabla 51.1: nº 5). Posiblemente disminuyendo la relación O/S se hubieran podido formar emulsiones altamente concentradas con los tensioactivos Brij52 y SynperonicL2, y todos los aceites seleccionados, ya que la concentración de tensioactivo hubiese sido mayor. Sin embargo, como se pretendía seleccionar componentes que formasen emulsiones con bajas concentraciones de tensioactivo con el fin de utilizar sistemas de baja toxicidad, no se continuó el estudio con estos tensioactivos. Con el tensioactivo PluronicL121 sólo se formaron emulsiones con el aceite de polaridad intermedia, el decil oleato (tabla 51.1: nº 6). Este hecho se atribuyó a la estructura del tensioactivo ya que es un tensioactivo de bloque con grupos hidroxilos terminales.

Tabla 51.1. Intervalos de concentraciones de fase acuosa (%) para los que se forman emulsiones concentradas y altamente concentradas del tipo W/O, con una relación O/S de 70/30.

Nº	Tensioactivo	HLB	Formación/ Intervalos conc. de fase acuosa (%)			
			Aceite de parafina	Escualano	Decil oleato	Triglicéridos de cadena media
1	IS-202P	3,2	Sí/ 65 - 92	Sí/ 62 - 92	Sí/ 58 - 90	Sí/ 41 - 86
2	Span80	4,3	Sí/ 40 - 92	Sí/ 38 - 93	Sí/ 38 - 92	Sí/ 33 - 88
3	CremophorWO7	5±1	Sí/ 41 - 90	Sí/ 35 - 91	Sí/ 77 - 92	Sí/ 72 - 91
4	Brij52	5,0	No	No	No	No
5	SynperonicL2	5,9	Sí/ 41 - 92	Sí/ 49 - 91	No	No
6	PluronicL121	< 7	No	No	Sí/ 23 - 87	No

A continuación, se llevó a cabo un estudio de estabilidad de las emulsiones con Span80, IS-202P y CremophorWO7. Para ello, se prepararon emulsiones con una relación O/S 70/30 y un porcentaje de fase acuosa de 80 %, se mantuvieron en un baño termostático a 25 °C, y se observaron visual y microscópicamente al cabo de 1, 2 y 7 días de su preparación. Asimismo, se estudió la estabilidad de emulsiones preparadas con mezclas de Span80/CremophorWO7 en relaciones de 60/40, 50/50 y 10/90. Los resultados de estabilidad se indican en la tabla 51.2. Las emulsiones preparadas con IS-202P y los aceites menos polares (aceite de parafina y escualano) permanecían estables más de 7 días, pero con los aceites más polares (decil oleato y

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

triglicéridos de cadena media) la estabilidad era inferior a 1 día (tabla 51.2: nº 1). Este hecho se atribuyó a que el IS-202P tiene un valor HLB bajo. Con Span80, las emulsiones, se mantenían sin cambios durante 7 días a excepción de la formada con los triglicéridos, que presentó separación de fase acuosa al cabo de 24 horas (tabla 51.2: nº 2). Este comportamiento se atribuyó a que para estabilizar la emulsión formada con el aceite más polar se necesitaba un valor de HLB mayor. Con tensioactivos, o sus mezclas, de valores de HLB de 4,6 a 5,0, no se consiguió estabilizar ninguna emulsión más de 7 días (tabla 51.2: nº 3-6).

Tabla 51.2. Estabilidad (tiempo en observar cambios macroscópicos) en emulsiones altamente concentradas a 25 °C en sistemas con IS-202P, Span80, CremophorWO7 y mezclas de Span80/CremophorWO7, con una relación O/S 70/30 y 80 % de fase acuosa.

Nº	Tensioactivo	HLB	Estabilidad en días			
			Aceite de parafina	Escualano	Decil oleato	Triglicéridos de cadena media
1	IS-202P	3,2	> 7	> 7	< 1	< 1
2	Span80	4,3	> 7	> 7	> 7	< 1
3	Span80/Crem.WO7 60/40	4,6	0	0	> 2, < 7	> 1, < 2
4	Span80/Crem.WO7 50/50	4,7	0	0	> 2, < 7	> 2, < 7
5	Span80/Crem.WO7 10/90	4,9	> 2, < 7	> 2, < 7	> 2, < 7	> 2, < 7
6	Cremophor WO7	5,0	> 2, < 7	> 2, < 7	> 2, < 7	> 2, < 7

La observación microscópica de las emulsiones puso de manifiesto que las que contenían CremophorWO7 presentaban cristales a 25 °C. Este hecho podría ser debido a la cristalización de CremophorWO7 como se había descrito previamente [Usón, 2004]. Por ello se decidió no proseguir el estudio con este tensioactivo y estudiar de un modo más sistemático la estabilidad de emulsiones con Span80, relaciones O/S de 70/30 y 90/10, y porcentajes de fase acuosa (FW) de 80 % y 90 %. Las muestras se observaron al cabo de 1, 2, 4, 7, 14, 21 y 28 días a 25 °C. Los resultados se muestran en la tabla 51.3.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 51.3. Estabilidad por observación visual de emulsiones altamente concentradas en sistemas agua/Span80/aceite a 25 °C.

Nº	Aceite	O/S	FW (%)	Emulsión estable							
				Días							
				1	2	4	7	14	21	28	
1	Aceite de parafina	70/30	80	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	--	
2			90	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	--	
3		90/10	80	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
4			90	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
5	Escualano	70/30	80	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	
6			90	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	
7		90/10	80	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
8			90	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
9	Decil oleato	70/30	80	Sí	Sí	Sí	No	--	--	--	
10			90	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
11		90/10	80	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	--	
12			90	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	--	
13	Triglicéridos de cadena media	70/30	80	No	--	--	--	--	--	--	
14			90	No	--	--	--	--	--	--	
15		90/10	80	No	--	--	--	--	--	--	
16			90	No	--	--	--	--	--	--	

Las emulsiones de los sistemas con aceite de parafina, escualano y decil oleato, resultaron las más estables, destacando las emulsiones formadas con escualano y una relación O/S de 70/30, ya que se mantenían estables durante 21 días (tabla 51.3: nº 5 y 6). Sin embargo, la estabilidad de las emulsiones con triglicéridos de cadena media, era inferior a un día (tabla 51.3: nº 13 - 16).

Para mejorar la estabilidad de las emulsiones, se incorporó un electrolito de tipo "salting out" (por ejemplo, cloruro de sodio). Este tipo de electrolitos producen deshidratación de la parte polar del tensioactivo no iónico con la consecuente disminución de la interacción agua-tensioactivo y el aumento de la interacción entre las moléculas de tensioactivo, hecho que provoca un aumento en la rigidez de la interfase y, en consecuencia, un aumento de su estabilidad [Kunieda, 1997]. Por ello, se realizó un estudio de estabilidad de emulsiones durante 48 días con cada uno de los componentes oleosos, incorporando un 0,5 % cloruro de sodio en la fase acuosa. Los resultados se muestran en la tabla 51.4. Para las emulsiones que contenían triglicéridos, se seleccionó un porcentaje de fase acuosa del 75 % para comprobar si con menos

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

fase acuosa se favorecía la formación de emulsiones estables, además de estudiar también el efecto de la incorporación de un 1 % de cloruro de sodio. Mediante este estudio se observó que la presencia de cloruro de sodio aumenta la estabilidad de todas las emulsiones excepto las formadas con triglicéridos de cadena media. Para las emulsiones formadas con aceite de parafina (componente oleoso apolar) la estabilidad aumenta de un modo pronunciado de menos de 14 días (tabla 51.3, nº: 2) a más de 48 días (tabla 51.4, nº: 1). Asimismo, en presencia de cloruro de sodio al aumentar la polaridad del aceite disminuye la estabilidad de las emulsiones, tendencia que ya se había observado anteriormente en ausencia de cloruro de sodio.

Tabla 51.4. Estabilidad de emulsiones en sistemas W/Span80/O en presencia de cloruro de sodio (NaCl), a 25 °C.

Nº	Aceite	O/S	% FW	NaCl	Tiempo (días) en observar cambios
1	Aceite de parafina	70/30	90	0,5%	> 48
2		90/10	90	0,5%	> 42, < 48
3	Escualano	70/30	90	0,5%	> 28, < 35
4		90/10	90	0,5%	> 28, < 35
5	Decil oleato	70/30	90	0,5%	> 28, < 35
6		90/10	90	0,5%	< 1
7	Triglicéridos de cadena media	90/10	75	0,5%	< 1
8		90/10	75	1,0%	< 1

Otra estrategia para estabilizar las emulsiones formadas con triglicéridos de cadena media, fue la incorporación de lecitina. Se ha descrito que este tensioactivo produce un aumento en la rigidez de la interfase y, por tanto, puede favorecer la estabilización de las emulsiones [Kunieda, 1989]. Se observó (tabla 51.5) que la presencia de lecitina en un 1 % no mejoraba la estabilidad de las emulsiones, pero en un 2,5 % mejoraba ligeramente la estabilidad de la emulsión con una relación O/S 90/10 (tabla 51.5, nº: 4).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 51.5. Estabilidad de emulsiones en sistemas agua/Span80/triglicéridos de cadena media con un 75 % de fase acuosa y estabilizados con lecitina, a 25 °C.

Nº	O/S	% Lecitina	Tiempo (días) en observar cambios
1	70/30	1	< 1
2		2,5	< 1
3	90/10	1	< 1
4		2,5	> 4, < 7

Se decidió incorporar otro tensioactivo etoxilado con el objeto de ampliar el rango de HLB estudiado y poder formar emulsiones mediante el método de inversión de fases o PIT [Shinoda, 1969; Ozawa, 1997; Esquena, 2003]. En la bibliografía se halla descrita la utilización de la mezcla de tensioactivos Span80/Tween80 para formar emulsiones mediante este método [Li, 2010]. Por ello, se seleccionó Tween80 con un HLB de 15 y se estudió la formación de emulsiones con una relación O/S de 70/30, para diferentes relaciones de los dos tensioactivos. Los resultados se muestran en la tabla 51.6. Con los triglicéridos de cadena media no se formaron emulsiones con ninguna de las mezclas Span80/Tween80 estudiadas (tabla 51.6), posiblemente, por ser el aceite más polar de los cuatro seleccionados. Tampoco se formaron emulsiones para relaciones Span80/Tween80 a partir de 40/60 (tabla 51.6: nº 4 y 5). Este hecho fue atribuido al elevado valor del HLB de la mezcla de tensioactivos (HLB superiores a 8,6), ya que al disminuir la relación Span80/Tween80 aumenta el número HLB, pues disminuye el carácter lipófilo de la mezcla de tensioactivos. Sin embargo, para valores de HLB inferiores a 10,7, correspondientes a la relación Span80/Tween80 60/40, se formaron emulsiones con aceite de parafina, escualano y decil oleato, aunque con éste último aceite sólo se formaron emulsiones para valores de HLB de 5,4 y 6,1, ello se atribuyó a su polaridad (tabla 51.6: nº 1-3).

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

Tabla 51.6. Formación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O e intervalos de concentraciones de fase acuosa (%) para las que se forman dichas emulsiones, con una relación O/S de 70/30 para diferentes mezclas de Span80/Tween80.

Nº	Span80/Tween80	HLB	Formación/ Intervalos con. de fase acuosa (%)			
			Aceite de parafina	Escualano	Decil oleato	Triglicéridos de cadena media
1	90/10	5,4	Sí/ 51 - 91	Sí/ 38 - 91	Sí/ 45 - 84	No
2	83/17	6,1	Sí/ 54 - 90	Sí/ 44 - 91	Sí/ 47 - 85	No
3	60/40	8,6	Sí/ 83 - 88	Sí/ 77 - 88	No	No
4	40/60	10,7	No	No	No	No
5	30/70	11,8	No	No	No	No

En base a los resultados obtenidos en estos ensayos preliminares, se seleccionaron como componentes oleosos el aceite de parafina y el escualano, y como componentes tensioactivos el Span80, el IS-202P y el Tween80, ya que parecían los más adecuados para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O.

5.1.2. Selección de las moléculas activas modelo

Se seleccionaron moléculas activas modelo que se pudieran incorporar en la fase acuosa de las emulsiones altamente concentradas para posteriormente estudiar una posible modelización de su liberación en una solución receptora. Entre las diferentes moléculas que cumplían este requisito, se seleccionaron tres parabenos: metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP). En la bibliografía aparece descrita la utilización de éstas moléculas para estudiar los factores que influyen en su liberación cuando están incorporadas en mezclas de emulsiones hidrocarbonadas y fluoradas [Rocca, 1998]. Sin embargo no existe información sobre el estudio simultáneo de la liberación de estas moléculas, el tamaño de gota de la emulsión y variables de composición y formación. Además, permitían el estudio de la influencia de la longitud de la cadena hidrocarbonada de la molécula activa en las propiedades de las emulsiones.

Previamente a su incorporación en las emulsiones, se determinó la solubilidad máxima de estos parabenos, tanto en agua como en distintas proporciones de agua/propilenglicol, con el fin de establecer la concentración a la que se podrían incorporar en las fases acuosas de las emulsiones sin que se produjera cristalización. Se utilizaron mezclas agua/propilenglicol (PG) a distintas relaciones (99/1, 95/5 y 90/10), ya que en la bibliografía aparece descrito que el propilenglicol aumenta la solubilidad de los parabenos [Rowe, 2009]. Los resultados (tabla 51.7) mostraron que en todos los medios estudiados el metilparabeno es más soluble que el etilparabeno, y a su vez, éste último es más soluble que el propilparabeno. Esto se atribuyó a la longitud de la cadena hidrocarbonada de las moléculas estudiadas. A mayor longitud de la cadena hidrocarbonada, más insoluble es la molécula en medio acuoso, ya que aumenta su carácter hidrofóbico. Además también se puso de manifiesto que en agua/propilenglicol, tanto el metilparabeno como el etilparabeno, presentan solubilidades similares cuando están disueltos separadamente y cuando están en la mezcla de los tres parabenos en una relación en peso de 1:1:1 (tabla 51.7). Sin embargo, se observó que la solubilidad del propilparabeno disminuye prácticamente a la mitad cuando está en la disolución con los otros parabenos. Se seleccionó la mezcla de agua/propilenglicol 90/10 por disolver una concentración mayor de cada parabeno (tabla 51.7: nº 4).

Asimismo, se estudió la solubilidad de los tres parabenos en agua/acetonitrilo, metanol y etanol, por ser los solventes que se había previsto utilizar para el

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

análisis posterior por HPLC. Se comprobó que los tres parabenos eran solubles en estos medios.

Tabla 51.7. Solubilidad máxima del metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) y de una mezcla de los tres en una relación en peso de 1:1:1, a 25 °C (W: agua; PG: propilenglicol).

Nº	Medio	Solubilidad máxima (mg/mL)					
		MeP	EtP	PrP	Para una mezcla 1:1:1		
					MeP	EtP	PrP
1	W	2,1 $\pm 1,4 \times 10^{-2}$	0,79 $\pm 1,4 \times 10^{-3}$	0,26 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$	1,6 $\pm 5,0 \times 10^{-3}$	0,70 $\pm 2,0 \times 10^{-3}$	0,15 $\pm 7,0 \times 10^{-4}$
2	W/PG 99/1	2,1 $\pm 1,1 \times 10^{-2}$	0,85 $\pm 1,3 \times 10^{-3}$	0,27 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$	2,3 $\pm 6,0 \times 10^{-3}$	0,64 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$	0,16 $\pm 6,0 \times 10^{-4}$
3	W/PG 95/5	2,5 $\pm 6,0 \times 10^{-3}$	0,95 $\pm 2,0 \times 10^{-4}$	0,32 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$	2,6 $\pm 1,2 \times 10^{-2}$	0,84 $\pm 2,0 \times 10^{-3}$	0,19 $\pm 4,0 \times 10^{-4}$
4	W/PG 90/10	3,0 $\pm 5,0 \times 10^{-3}$	1,1 $\pm 5,0 \times 10^{-3}$	0,43 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$	3,0 $\pm 5,0 \times 10^{-3}$	1,0 $\pm 2,0 \times 10^{-3}$	0,25 $\pm 1,0 \times 10^{-3}$

También se realizó un estudio de la estabilidad química de los parabenos. Aunque según la bibliografía son moléculas muy estables [Rowe, 2009] se comprobó su estabilidad al estar disueltos en agua/propilenglicol 90/10 tanto a 25 °C como a 5 °C, con y sin protección de la luz. Para ello se prepararon disoluciones de metil, etil y propilparabeno con agua/propilenglicol 90/10, así como una disolución con los tres parabenos en una relación en peso de 1:1:1 y se cuantificaron por HPLC. Mediante este estudio se puso de manifiesto que, para todas las muestras preparadas, la variación en el porcentaje de área de los parabenos respecto al inicial era menor del 0,5 % independientemente de la temperatura (5 °C o 25 °C) o de la protección de la luz. Además, se realizó un test estadístico no paramétrico (test de Wilcoxon) y con un 95 % de confianza se pudo concluir que la muestra se mantenía estable durante los 28 días que duró el estudio (a modo de ejemplo, en el anexo A51.2.1 se muestran los resultados del test de Wilcoxon para la solución con los tres parabenos).

Una vez estudiadas las solubilidades máximas de los parabenos y su estabilidad química, se incorporaron en la fase acuosa de las emulsiones altamente concentradas. Las emulsiones se formaron utilizando como tensioactivos Span80 y IS-202P, como componentes oleosos aceite de parafina y escualano, y como componente acuoso una mezcla de metilparabeno y propilparabeno en

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

una relación en peso 5:1 disuelta en agua, o en una relación en peso de 1:1 disuelta en agua/propilenglicol 90/10 (previamente se comprobó que se formaban emulsiones utilizando como fase acuosa la mezcla de agua/propilenglicol 90/10).

Las emulsiones altamente concentradas formadas presentaron propiedades similares con y sin parabenos. En la figura 51.1 se muestran, como ejemplo, micrografías de las emulsiones del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con y sin parabenos. En las dos emulsiones se observan estructuras compactas formadas por gotas polidispersas. Asimismo, en la emulsión con parabenos (figura 51.1, B), parece apreciarse un ligero aumento del tamaño de gota respecto a las emulsiones formadas en su ausencia (figura 51.1, A).



Figura 51.1. Micrografías de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina con una relación O/S de 90/10 y un 90 % de fase acuosa, a 25 °C. A: emulsión formada con agua como fase acuosa, y B: emulsión formada con una solución acuosa con un 0,1% (w/w) de metilparabeno y 0,02% (w/w) de propilparabeno.

En la tabla 51.8, se muestra el tamaño de gota, expresado como la mediana del diámetro, con los percentiles al 5 % y 95 %, y el índice de polidispersidad, de emulsiones del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con y sin parabenos, para distintas relaciones O/S, y en la figura 51.2 la representación de las distribuciones de tamaño mediante un diagrama de cajas o “box-plot”. Con este tratamiento de datos, también se puso de manifiesto un ligero aumento en el tamaño de gota en presencia de parabenos.

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

Tabla 51.8. Diámetro de gota (d), expresado como mediana, con el percentil al 5 % (P5) y 95 % (P95), y el índice de polidispersidad (PDI) de emulsiones altamente concentradas del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina a 25 °C en presencia y en ausencia de una mezcla de parabenos (0,1 % (w/w) de metilparabeno y 0,02 % (w/w) de propilparabeno).

Nº	O/S	FW (%)	Con parabenos			Sin parabenos		
			d (μm)	(P5;P95)	PDI	d (μm)	(P5;P95)	PDI
1	70/30	75	1,38	(0,74; 2,00)	1.3	0,89	(0,49; 1,38)	1.2
2	90/10	75	1,88	(0,74; 3,41)	2.0	1,83	(0,66; 4,45)	1.4
3	90/10	90	1,85	(0,96; 2,74)	1.7	1,08	(0,59; 2,55)	1.2

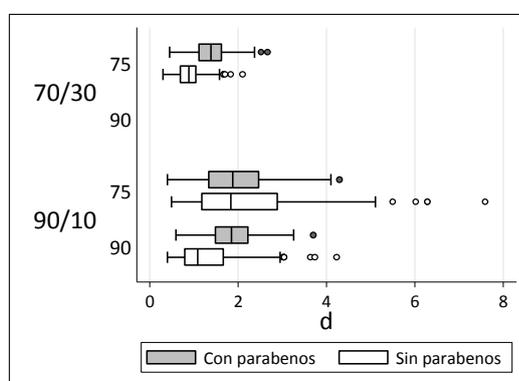


Figura 51.2. Diagrama de cajas ("box-plot") para las distribuciones de tamaños de las emulsiones de la tabla 51.8.

Al aplicar el test estadístico no paramétrico de Wilcoxon (anexo A51.2.2), se determinó con un 95 % de confianza, que las emulsiones con O/S 70/30 y fase acuosa 75 %, así como O/S 90/10 con fase acuosa 90 %, con y sin parabenos (tabla 51.8, nº: 1 y 3), presentan distribuciones de tamaño de gota significativamente diferentes, siendo ligeramente superiores en presencia de parabenos. Sin embargo, las emulsiones con O/S 90/10 y fase acuosa 75 %, con y sin parabenos (tabla 51.8, nº: 2), no presentan diferencias significativas en sus distribuciones de tamaño.

Mediante este estudio, se puso de manifiesto que los tres parabenos (metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno) son apropiados como moléculas activas modelo ya que poseen una elevada estabilidad química y se pueden incorporar en la fase acuosa de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, formadas con los tensioactivos y aceites seleccionados.

5.1.3. Selección del método de emulsificación

Con el objeto de encontrar el método más adecuado para la formación de las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, con los componentes oleosos y tensioactivos seleccionados en la sección 5.1.1, entre los métodos que se encuentran descritos en la literatura se seleccionaron los siguientes:

- agitación de la mezcla de los componentes en su concentración final,
- centrifugación de una emulsión diluida,
- método de inversión de fases o PIT,
- adición del componente acuoso a la mezcla del componente oleoso y tensioactivo.

El estudio se realizó utilizando agua como componente acuoso en ausencia de parabenos, ya que en la sección 5.1.2, se había puesto de manifiesto que se formaban emulsiones con propiedades similares tanto en ausencia como en presencia de parabenos y propilenglicol.

Agitación de la mezcla de los componentes en su concentración final

El estudio se realizó agitando manualmente mezclas de los componentes de la emulsión, con una relación O/S 90/10 y un porcentaje de fase acuosa del 90 %. Mediante la agitación de los componentes en su concentración final no se consiguió formar ninguna emulsión altamente concentrada con los componentes seleccionados.

Centrifugación de una emulsión diluida

La centrifugación de emulsiones, con relaciones O/S 60/40 y 70/30, y un porcentaje de fase acuosa de 20 %, tampoco resultó un método adecuado, ya que como máximo se pudieron formar emulsiones con un 50 % – 60 % de fase acuosa.

Inversión de fases o PIT

Para formar emulsiones por el método de inversión de fases o PIT, previamente se realizaron determinaciones de la temperatura HLB, o temperatura de inversión de fases (PIT), por conductimetría.

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

Se estudió la variación de la conductividad con la temperatura, desde 5 °C a 90 °C. En primer lugar, se estudiaron sistemas con una relación aceite/fase acuosa (ROW) de 0,5 y un 3 % de una mezcla de Span80/Tween80 en diferentes proporciones (desde 90/10 hasta 60/40). La fase acuosa (un 65 %) estaba compuesta por una solución de cloruro de sodio, NaCl, 10^{-3} M para poder detectar mejor los cambios en la conductividad. Se estudiaron los sistemas solución acuosa de NaCl/Span80-Tween80/escualano y solución acuosa de NaCl/Span80-Tween80/aceite de parafina. Sin embargo, no se pudo detectar inversión de fases para ninguno de los dos sistemas en las condiciones mencionadas. Este hecho se atribuyó a que la temperatura HLB era inferior a 5 °C.

Con la finalidad de aumentar la temperatura HLB del sistema, se aumentó la concentración de tensioactivos, al 5 %, y de cloruro de sodio, a 1 M, y se estudió el sistema con aceite de parafina aumentando la proporción de Tween80. En la figura 51.3, se muestra la curva de conductividad obtenida para el sistema formado por solución NaCl 1 M/Span80-Tween80/aceite de parafina con ROW 0,5, 5 % de tensioactivo, y una relación Span80/Tween80 de 45/55. En dicha figura, se puede observar que independientemente de que se aumente o se disminuya la temperatura, la conductividad se mantiene prácticamente constante en un amplio intervalo de temperaturas, hasta llegar a una temperatura (55 °C) en la que cambia bruscamente. Este aumento (o disminución) coincide con el valor de temperatura HLB del sistema y es la temperatura en la que se produce la inversión de fases debido al cambio de curvatura de la interfase, pasando de una emulsión O/W a una emulsión W/O, si se aumenta la temperatura, o de una W/O a una O/W, si se disminuye la temperatura [Shinoda, 1969; Kunieda, 1996]. Para el sistema mostrado en la figura 51.3, el valor de la temperatura HLB es de 55 °C.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

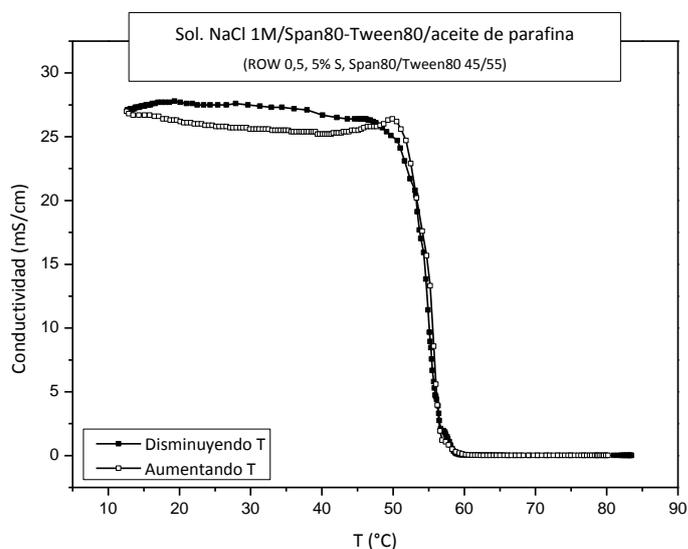


Figura 51.3. Determinación de la temperatura HLB por conductimetría para el sistema solución NaCl 1M/Span80-Tween80/aceite de parafina con una relación componente oleoso/acuosos (ROW) de 0,5, un 5 % de tensioactivo (S), y una relación Span80/Tween80 45/55 (símbolos blancos: aumentando la temperatura; símbolos negros: disminuyendo la temperatura).

Se detectó inversión de fases para relaciones Span80/Tween80 desde 40/60 hasta 52/48, pero no se detectó inversión para relaciones Span80/Tween80 superiores a 52/48 (tabla 51.9).

Tabla 51.9. Determinación de la temperatura HLB (T HLB) para sistemas de tipo disolución NaCl 1 M/Span80-Tween80/aceite de parafina, con ROW de 0,5 y un 5 % de tensioactivos.

Nº	Span80/Tween80	Número HLB	T HLB (°C)
1	52/48	9,4	37,5
2	50/50	9,7	40,1
3	45/55	10,2	54,9
4	42/58	10,5	62,7
5	40/60	10,7	78,0

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

Como el objetivo era formar emulsiones de tipo W/O a temperatura ambiente, la temperatura PIT del sistema debía de ser aproximadamente de 5 °C o 10 °C. Por este motivo, se realizó una extrapolación con los datos obtenidos representando los valores de la temperatura HLB respecto a la relación de tensioactivos Span80/Tween80 (figura 51.4).

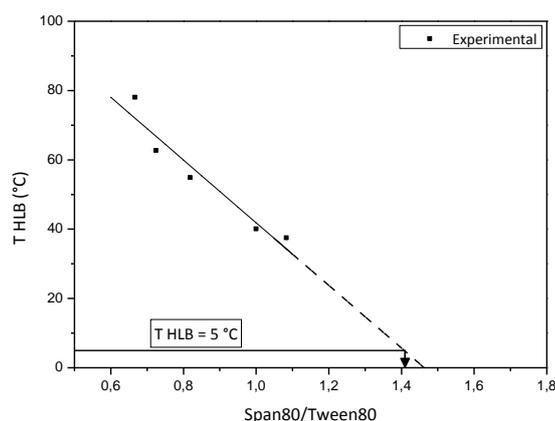


Figura 51.4. Temperatura HLB en función de la relación Span80/Tween80 para el sistema solución de cloruro de sodio 1 M/Span80-Tween80/aceite de parafina con relación componente oleoso/acuoso (ROW) de 0,5 y un 5 % de tensioactivos (línea continua: ajuste de los datos experimentales; línea discontinua: extrapolación).

Para que la temperatura HLB fuese de 5 °C, la relación Span80/Tween80 tendría que ser de 1,41 (figura 51.4), es decir, 58,6/41,4, lo que implicaba un número HLB de la mezcla de tensioactivos de 8,7. Teniendo en cuenta que estos estudios preliminares se realizaron con una relación componente oleoso/acuoso, ROW, de 0,5 (O/W 33/67), y que para formar emulsiones altamente concentradas (porcentaje de fase acuosa superior al 74 %) con un 5 % de tensioactivo, se necesitaría una relación ROW igual o inferior a 0,22, la temperatura HLB sería posiblemente inferior a 0 °C por lo que no se podría determinar experimentalmente. En la literatura aparece descrito que para un porcentaje de tensioactivo constante, la temperatura HLB disminuye drásticamente al disminuir el valor de ROW, así una disminución de 0,1 unidades en la relación ROW puede suponer la disminución de más de 20 °C en la temperatura HLB del sistema [Forgiarini, 2001]. Por ello, se consideró que el método de inversión de fases no era apropiado como método de

emulsificación para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O con los componentes seleccionados.

Adición del componente acuoso

El estudio de formación de emulsiones altamente concentradas por el método de adición del componente acuoso a la mezcla de los otros componentes, se realizó con agitación controlada. Además, la adición del componente acuoso se controló mecánicamente. A diferencia de las emulsiones descritas en el apartado 5.1.1, donde la adición se hizo manualmente y se agitó con un agitador vórtex, en estos ensayos se realizó la adición de componente acuoso utilizando una bomba peristáltica y se agitó con un rotor y una varilla.

Mediante este procedimiento, se formaron emulsiones altamente concentradas de tipo W/O que presentaron estabilidades similares a las emulsiones preparadas en el apartado 5.1.1. A modo de ejemplo, se muestran los resultados de retrodifusión de luz (backscattering) a 25 °C de una emulsión altamente concentrada del sistema agua/Span80/aceite de parafina con un 90 % de fase acuosa y una relación O/S de 90/10 (figura 51.5). Se observó que independientemente del tiempo, la intensidad de retrodifusión de luz se mantenía constante a lo largo del volumen de la muestra, indicación de que no se produce sedimentación o cremado. Por otro lado, se observó que la intensidad de retrodifusión de luz disminuye con el tiempo, indicación de que se produce coalescencia [Mengual, 1999]. Asimismo, al aumentar el tamaño de gota de la emulsión, se produce un drenaje de la fase continua que provoca su acumulación en las zonas que quedan libres entre las gotas, disminuyendo su grosor en las zonas de contacto entre gotas [Bhakta, 1997]. Así al tener una película muy fina de interfase, la retrodifusión de luz cada vez sería menor.

5.1. Selección de componentes y del método de emulsificación

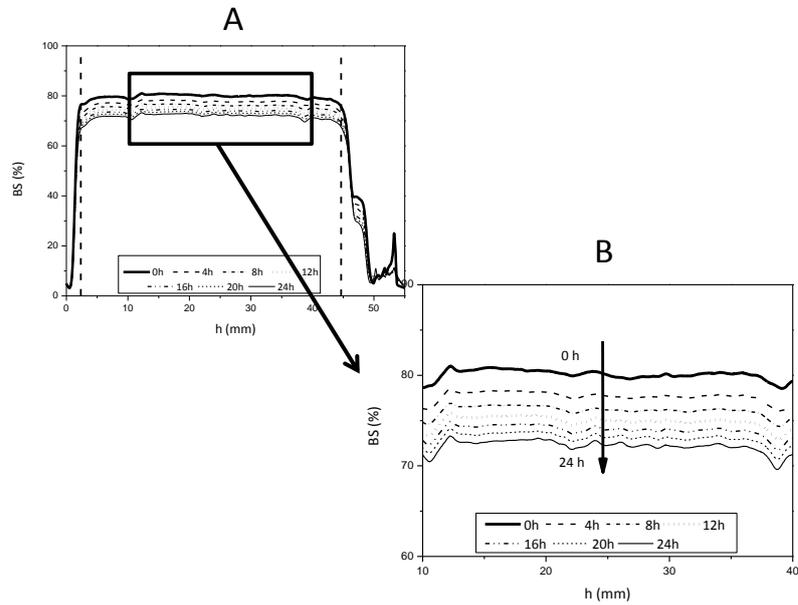


Figura 51.5. A: retrodifusión de luz (backscattering, BS) para la emulsión altamente concentrada del sistema agua/Span80/aceite de parafina, a una relación O/S 90/10 y 90 % de fase acuosa, durante 24 horas a 25 °C (sólo tiene significado físico la zona del espectro situada entre las dos líneas verticales discontinuas). B: ampliación para una altura (h) de muestra de 10 - 40 mm.

La evolución de la retrodifusión de luz respecto al tiempo, se calculó integrando las áreas de las curvas de retrodifusión mostradas en la figura 51.5, para una altura de muestra entre 10 – 40 mm. En la figura 51.6 se muestra tanto la evolución de la retrodifusión de luz respecto al tiempo, como la evolución de la retrodifusión de luz normalizada respecto al tiempo inicial. El valor inicial de retrodifusión de luz es de 80 % y su disminución es sólo del 10 % en 24 horas, indicación de que la emulsión se mantiene razonablemente estable.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

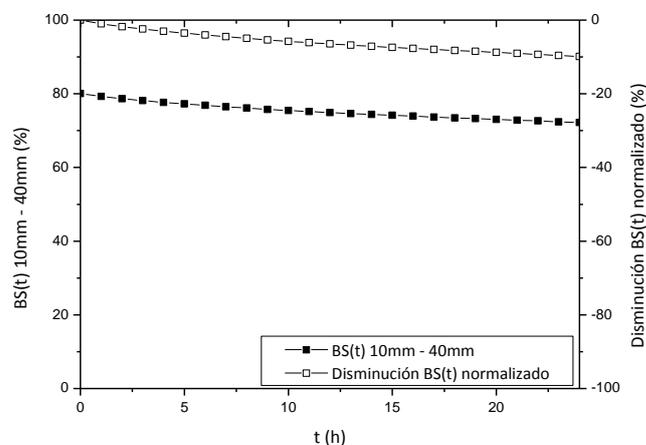


Figura 51.6. En el eje izquierdo, variación de la retrodifusión de luz (BS) para la emulsión altamente concentrada agua/Span80/aceite de parafina (O/S 90/10, 90 % fase acuosa) durante 24 horas a 25 °C (símbolos negros) y, en el derecho, disminución de la retrodifusión de luz normalizada respecto la retrodifusión inicial (símbolos blancos).

Los resultados obtenidos permitieron seleccionar el método de adición del componente acuoso a la mezcla de componentes oleoso y tensioactivo, como el más adecuado para los objetivos propuestos.

5.1.4. Resumen de la selección de componentes y del método de emulsificación

Los estudios preliminares permitieron seleccionar los siguientes componentes para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O:

- oleosos: aceite de parafina y escualano,
- tensioactivos: IS-202P y Span80,
- acuosos: solución de agua/propilenglicol 90/10.

Asimismo, se comprobó que metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, eran moléculas apropiadas como principios activos modelo.

A partir de los ensayos de formación de emulsiones altamente concentradas, y de la determinación de su estabilidad, se seleccionaron los siguientes sistemas en los que se llevarían a cabo los estudios posteriores:

- solución acuosa/Span80/aceite de parafina,
- solución acuosa/Span80/escualano,
- solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina,
- solución acuosa/IS-202P/escualano.

Además, estos ensayos preliminares permitieron seleccionar el método de adición de fase acuosa como el más adecuado para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en los sistemas seleccionados.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas en sistemas agua/tensioactivo no iónico/componente oleoso

Se estudió en primer lugar la formación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en los sistemas seleccionados en el apartado 5.1: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano. A continuación, se estudió la formación de emulsiones con los parabenos y se compararon los resultados.

5.2.1. Formación

Las emulsiones se formaron mediante el método de adición del componente acuoso sobre la mezcla del componente oleoso y tensioactivo. Para determinar las zonas de formación, la adición se hizo manualmente y la agitación mediante la utilización de un agitador vórtex. Se consideró que se había formado una emulsión concentrada cuando la emulsión no fluía y una emulsión altamente concentrada cuando, además de no fluir, se había superado el 74 % de fase acuosa.

5.2.1.1. Sin parabenos

Se determinó la zona de formación en los sistemas:

- A1: agua/Span80/aceite de parafina,
- B1: agua/Span80/escualano,
- C1: agua/IS-202P/aceite de parafina, y
- D1: agua/IS-202P/escualano.

En las figuras 52.1 - 52.4, se muestran las zonas de formación de emulsiones y emulsiones altamente concentradas de los sistemas A1, B1, C1 y D1.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

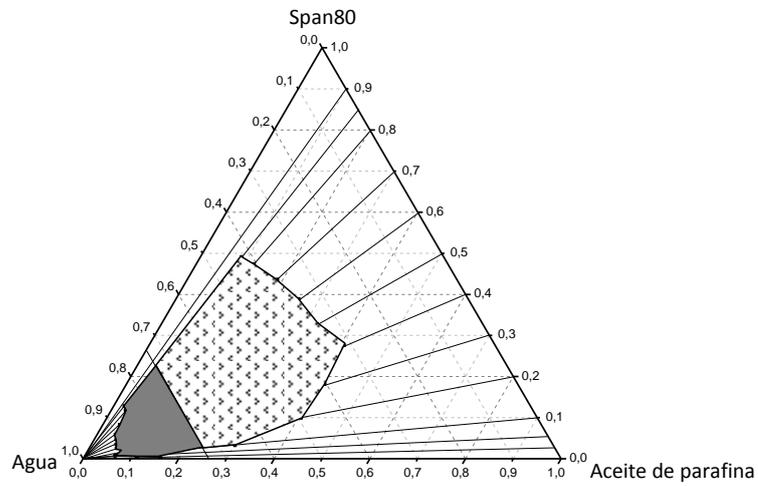


Figura 52.1. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema A1** (agua/Span80/aceite de parafina).

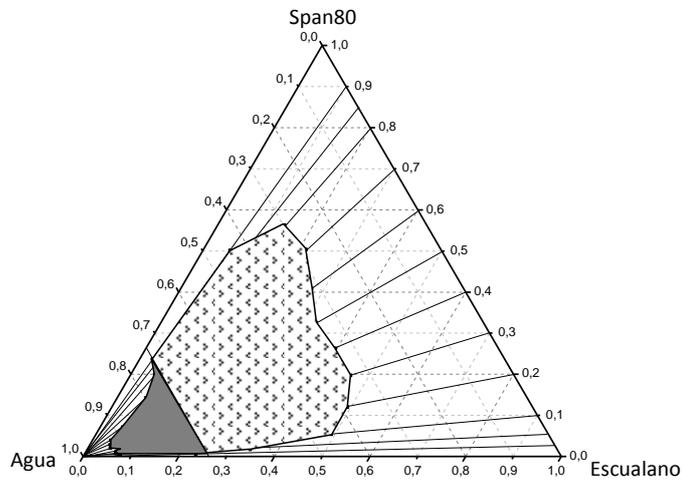


Figura 52.2. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema B1** (agua/Span80/escualano).

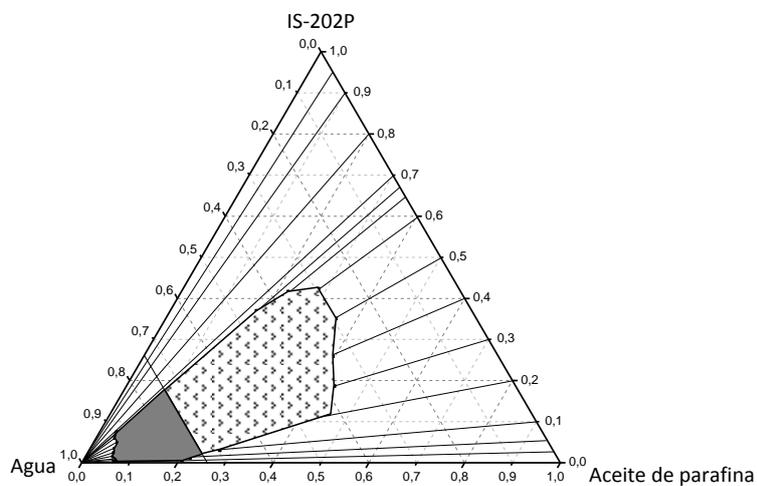


Figura 52.3. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema C1** (agua/IS-202P/aceite de parafina).

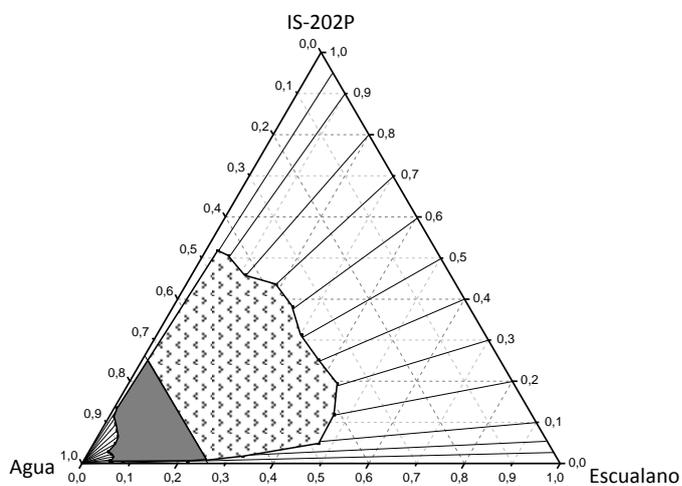


Figura 52.4. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema D1** (agua/IS-202P/escualano).

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

En la tabla 52.1 se indican los intervalos de concentración de agua en los que se forman emulsiones concentradas y altamente concentradas, para cada relación O/S.

Tabla 52.1. Formación de emulsiones concentradas y altamente concentradas para los sistemas: A1 (agua/Span80/aceite de parafina), B1 (agua/Span80/escualano), C1 (agua/IS-202P/aceite de parafina) y D1 (agua/IS-202P/escualano).

Nº	O/S	Intervalos de fase acuosa (%)			
		Sistema A1	Sistema B1	Sistema C1	Sistema D1
1	5/95	- ⁽¹⁾	- ⁽¹⁾	- ⁽¹⁾	46 - 86
2	10/90	- ⁽¹⁾	44 - 74	- ⁽¹⁾	44 - 88
3	15/85	42 - 85	- ⁽²⁾	- ⁽¹⁾	- ⁽²⁾
4	20/80	41 - 85	30 - 75	- ⁽¹⁾	43 - 88
5	30/70	38 - 88	28 - 80	- ⁽¹⁾	38 - 89
6	32,5/67,5	- ⁽²⁾	- ⁽²⁾	45 - 89	- ⁽²⁾
7	35/65	- ⁽²⁾	- ⁽²⁾	36 - 89	- ⁽²⁾
8	40/60	35 - 90	32 - 88	29 - 90	37 - 89
9	50/50	35 - 91	35 - 92	29 - 90	38 - 91
10	60/40	32 - 91	34 - 93	35 - 91	38 - 93
11	70/30	40 - 92	34 - 93	38 - 92	37 - 93
12	80/20	49 - 91	39 - 91	42 - 93	41 - 93
13	90/10	67 - 93	45 - 93	70 - 92	48 - 94
14	95/5	84 - 88	64 - 92	77 - 93	65 - 94
15	97,5/2,5	84 - 89	76 - 92	79 - 93	78 - 91

(1): no se forma emulsión concentrada ni altamente concentrada;

(2): no se ha determinado el intervalo de concentraciones.

Es destacable que se formaron emulsiones altamente concentradas para relaciones O/S muy elevadas (hasta 97,5/2,5) en todos los sistemas, indicando que ambos tensioactivos son muy eficientes para formar emulsiones. Las emulsiones altamente concentradas incorporaron un máximo de 90 % de fase acuosa para relaciones O/S hasta 40/60, y de 94 % de fase acuosa para O/S a partir de 50/50.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1.2. Con parabenos

La incorporación de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno se estudió considerando que en los posteriores estudios de liberación se tenían que cumplir las condiciones “sink”, es decir, que su concentración en la solución receptora fuese el 10 – 20 % de su solubilidad máxima [Gibaldi, 1967; Guy, 2003]. Como la solubilidad máxima del parabeno menos soluble, el propilparabeno, cuando está en una mezcla de los tres parabenos en agua en una proporción 1:1:1, es de $0,15 \pm 7,0 \times 10^{-4}$ mg/mL (sección 5.1.2) se seleccionó la concentración de 0,01 mg/mL. Así, se estudió la incorporación de una mezcla de parabenos en la fase acuosa de los sistemas:

- A2: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, y
- B2: solución acuosa/Span80/escualano.

(Solución acuosa: mezcla de los tres parabenos en una relación 1:1:1 en peso disueltos en agua en una concentración de 0,01 mg/mL para cada uno).

Los resultados obtenidos (tabla 52.2) fueron similares a los obtenidos sin la presencia de parabenos (tabla 52.1). Se formaron emulsiones concentradas y altamente concentradas con concentraciones muy bajas de tensioactivo (hasta relación O/S 97,5/2,5). Las emulsiones llegaron a incorporar un máximo de 89 % de fase acuosa para relaciones O/S hasta 40/60, y de 94 % de fase acuosa para O/S desde 50/50.

Tabla 52.2. Formación de emulsiones para los sistemas A2 (solución acuosa/ Span80/aceite de parafina) y B2 (solución acuosa/ Span80/escualano), donde la fase acuosa está compuesta de una solución acuosa de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno con una concentración de 0,01 mg/mL para cada uno.

Nº	O/Span80	Intervalos de fase acuosa (%)	
		Sistema A2	Sistema B2
1	5/95	57 - 79	50 - 79
2	10/90	37 - 80	48 - 83
3	20/80	25 - 85	43 - 83
4	30/70	20 - 86	43 - 84
5	40/60	22 - 86	41 - 89
6	50/50	25 - 91	37 - 92
7	60/40	24 - 94	36 - 92
8	70/30	31 - 94	34 - 93
9	80/20	39 - 93	38 - 91
10	90/10	61 - 93	45 - 91
11	95/5	75 - 92	63 - 90
12	97,5/2,5	80 - 91	73 - 91

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

A pesar del elevado porcentaje de fase acuosa de las emulsiones, las concentraciones de parabenos en dichas emulsiones resultaron ser muy bajas para poder realizar el seguimiento de los estudios de liberación mediante cromatografía líquida (HPLC). Por ello, se aumentó su concentración en la fase acuosa pasando de 0,01 mg/mL a 0,2 mg/mL. Este aumento implicó la sustitución del agua de la fase acuosa de las emulsiones por una mezcla agua/propilenglicol 90/10, ya que dicha mezcla aumentaba significativamente la solubilidad de los parabenos, como se puso de manifiesto en los estudios preliminares (sección 5.1.2). Además, en los posteriores estudios de liberación se optó por disminuir la cantidad de solución receptora para poder aumentar la concentración de parabeno respetando, en todo momento, las condiciones "sink". Así se estudiaron los sistemas:

- A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina,
- B: solución acuosa/Span80/escualano,
- C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina, y
- D: solución acuosa/IS-202P/escualano.

(Solución acuosa: mezcla de los tres parabenos, en relación 1:1:1 en peso, disueltos en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno).

En las figuras 52.5 - 52.8, se muestran las zonas de formación de emulsiones concentradas y altamente concentradas.

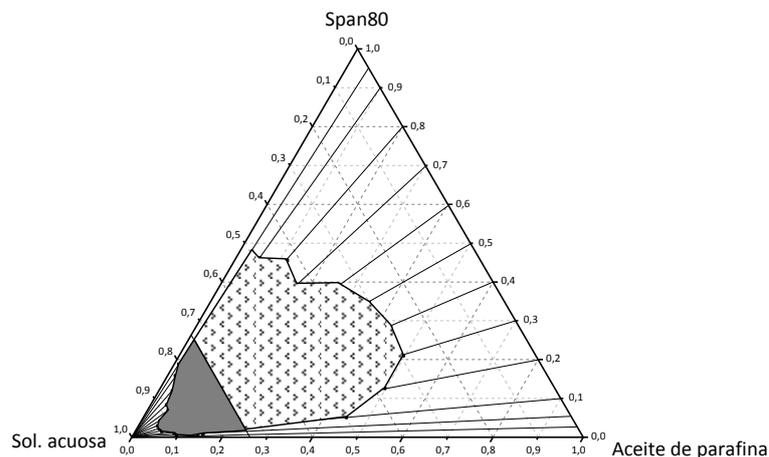


Figura 52.5. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema A** (solución acuosa/ Span80/aceite de parafina). La solución acuosa está compuesta por una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

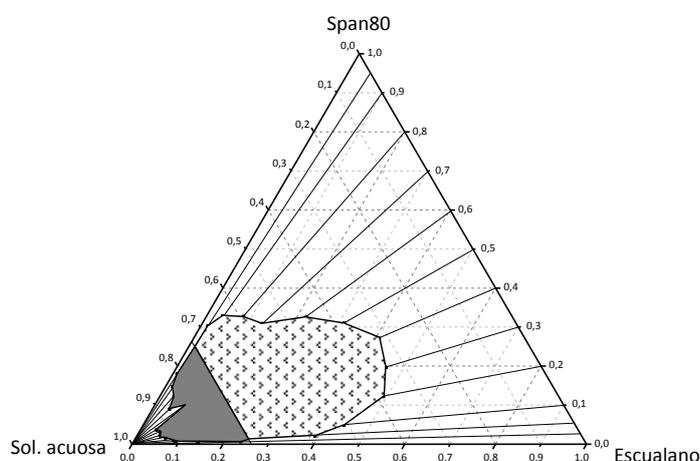


Figura 52.6. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema B** (solución acuosa/Span80/escualano). La solución acuosa está compuesta por una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno.

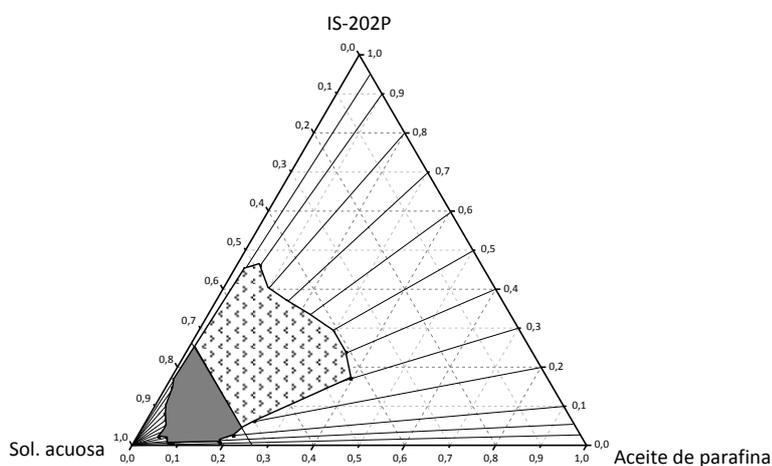


Figura 52.7. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema C** (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina). La solución acuosa está compuesta por una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

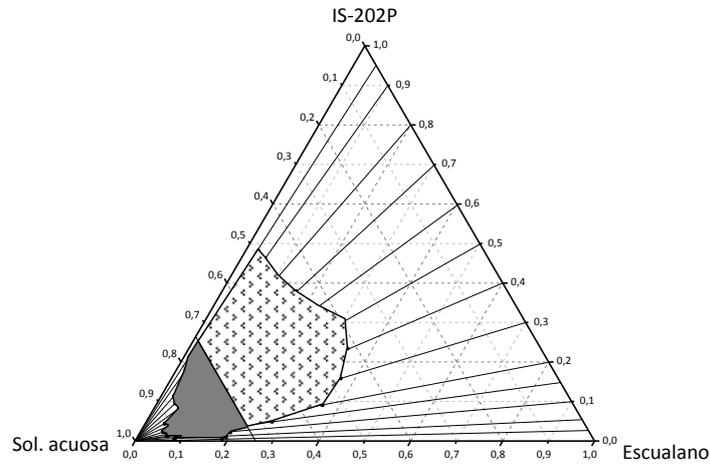


Figura 52.8. Zona de formación de emulsiones concentradas (zona punteada) y altamente concentradas (zona gris) de tipo W/O del **sistema D** (solución acuosa/IS-202P/escualano). La solución acuosa está compuesta por una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno.

En la tabla 52.3 se indican los intervalos de concentración de solución acuosa en los que se forman emulsiones concentradas y altamente concentradas para cada relación O/S.

Tabla 52.3. Formación de emulsiones para los sistemas A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina), B (solución acuosa/Span80/escualano), C (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina) y D (solución acuosa/IS-202P/escualano). La fase acuosa está compuesta de una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno.

Nº	O/S	Intervalos de fase acuosa (%)			
		Sistema A	Sistema B	Sistema C	Sistema D
1	5/95	49 - 80	68 - 81	53 - 82	49 - 78
2	10/90	49 - 82	64 - 84	49 - 84	49 - 80
3	20/80	43 - 85	59 - 85	50 - 87	48 - 86
4	30/70	44 - 88	56 - 87	48 - 89	46 - 86
5	40/60	34 - 88	45 - 83	44 - 89	43 - 86
6	50/50	30 - 92	38 - 93	41 - 90	39 - 91
7	60/40	28 - 93	32 - 92	41 - 91	42 - 91
8	70/30	29 - 93	34 - 93	43 - 93	47 - 93
9	80/20	38 - 93	39 - 92	70 - 91	55 - 92
10	90/10	50 - 90	51 - 90	76 - 92	78 - 89
11	95/5	84 - 90	59 - 90	80 - 92	80 - 91
12	97,5/2,5	85 - 87	76 - 85	80 - 91	81 - 91

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se había observado en los estudios preliminares (sección 5.1.2), se formaron emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en todos los sistemas estudiados, incluso para la relación O/S de 97,5/2,5, es decir, con muy baja concentración de tensioactivo. Además, se llegó a incorporar un máximo de 89 % de fase acuosa para las relaciones O/S hasta 40/60, y un máximo de 93 % para relaciones O/S desde 50/50.

Al comparar las zonas de formación de emulsiones altamente concentradas de los cuatro sistemas (tabla 52.3) con las zonas de formación en ausencia de parabenos y de propilenglicol (tabla 52.1), se puede observar que la presencia de parabenos y propilenglicol favorece la formación de emulsiones para más relaciones O/S. El mayor cambio en la zona de formación se produce en el sistema solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina, ya que en ausencia de parabenos y propilenglicol no se forman emulsiones hasta una relación O/S de 32,5/67,5 (tabla 52.1: sistema C1) y en su presencia se forman emulsiones a partir de la relación O/S 5/95 (tabla 52.3: sistema C).

Los resultados obtenidos con la concentración de parabenos de 0,2 mg/mL y añadiendo propilenglicol para los sistemas con Span80 (tabla 52.3: sistemas A y B) fueron similares a los obtenidos para una concentración 0,01 mg/mL sin propilenglicol (tabla 52.2: sistemas A2 y B2), ya que se formaron emulsiones altamente concentradas desde la relación O/S 5/95 hasta la 97,5/2,5, incorporando un máximo de un 93 % - 94 % de fase acuosa.

En todos los sistemas estudiados, se pudieron formar emulsiones altamente concentradas incorporando metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, en la fase acuosa a una concentración adecuada para poder realizar posteriormente estudios de liberación.

5.2.2. Caracterización

Se estudió el tamaño de gota, la estabilidad y las propiedades reológicas de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O de los sistemas:

- A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina,
- B: solución acuosa/Span80/escualano,
- C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina, y
- D: solución acuosa/IS-202P/escualano.

La solución acuosa estaba formada por una mezcla de los tres parabenos en agua/propilenglicol 90/10 con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno. Para el estudio de tamaño de gota y estabilidad, se seleccionó una relación O/S de 80/20 y dos porcentajes de fase acuosa, 80 % y 90 %. Asimismo, las propiedades reológicas se determinaron para dos relaciones O/S 70/30 y 90/10, y porcentajes de fase acuosa de 80 % y 90 %. Se seleccionaron estas relaciones O/S por la baja concentración de tensioactivo y por formar emulsiones altamente concentradas con todos los sistemas tanto a 80 %, como a 90 % de fase acuosa. Además, todas las emulsiones se formaron en las mismas condiciones de temperatura, de velocidad de agitación y de velocidad de adición de la fase acuosa.

5.2.2.1. Tamaño de gota

El tamaño de gota se caracterizó determinando el diámetro mediante microscopía óptica. La observación microscópica de las emulsiones altamente concentradas, puso de manifiesto que todas ellas presentaban una estructura compacta formada por gotas polidispersas. A modo de ejemplo se muestra una micrografía de una emulsión altamente concentrada del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) con una relación O/S de 80/20 y un 90 % de fase acuosa (figura 52.9).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

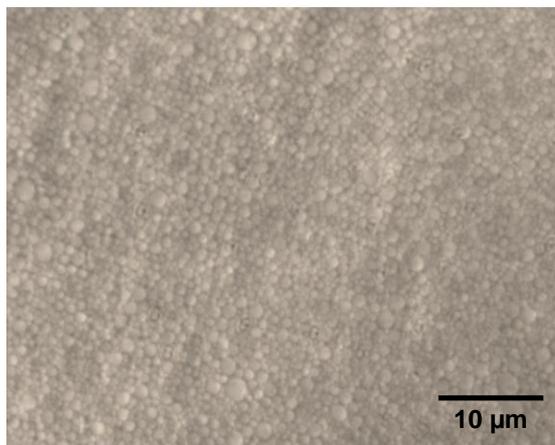


Figura 52.9. Micrografía de una emulsión altamente concentrada del **sistema A** (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) con una relación O/S de 80/20 y un 90 % de fase acuosa (mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y una concentración de 0,2 mg/mL de cada parabeno).

A partir de las micrografías se calculó el tamaño de gota de las emulsiones, midiendo el diámetro de 2.000 gotas por cada micrografía, calculando su distribución de tamaños y el índice de polidispersidad. A modo de ejemplo, se presenta en la figura 52.10 la distribución de tamaños de la emulsión del sistema A, cuya micrografía se ha mostrado en la figura 52.9 (las distribuciones de todas las emulsiones estudiadas, se muestran en el anexo A52.2.1).

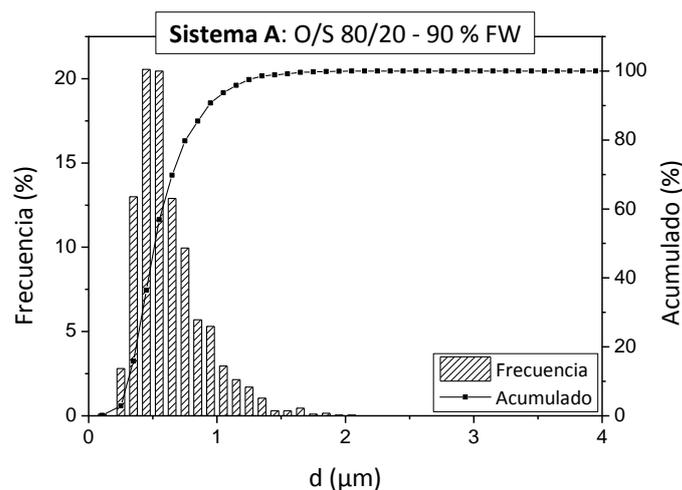


Figura 52.10. Distribución de tamaños de gota de la emulsión del sistema A de la figura 52.9.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

En la tabla 52.4 se muestran los tamaños (inferiores a 1 μm) y los índices de polidispersidad (entre 1,29 y 1,79) obtenidos para las emulsiones de los cuatro sistemas estudiados. Los resultados indican que existen pequeñas diferencias tanto en el diámetro como en el índice de polidispersidad. El tamaño más pequeño (0,56 μm) corresponde al sistema A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina (tabla 52.4: nº 2).

Tabla 52.4. Diámetro de gota (mediana y promedio), d , e índice de polidispersidad, PDI, de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O inmediatamente después de formarlas con diferentes porcentajes de fase acuosa, FW, a 25 °C (no se muestran los percentiles ni los intervalos de confianza del diámetro de gota para facilitar la lectura).

Nº	Sistema	Tensioactivo	Aceite	FW (%)	d (μm) mediana	d (μm) promedio	PDI
1	A	Span80	Aceite de parafina	80	0,71	0,81	1,76
2				90	0,56	0,63	1,62
3	B	Span80	Escualano	80	0,91	0,94	1,29
4				90	0,86	0,94	1,71
5	C	IS-202P	Aceite de parafina	80	0,84	0,92	1,65
6				90	0,81	0,93	1,79
7	D	IS-202P	Escualano	80	0,84	0,90	1,51
8				90	0,73	0,81	1,61

El promedio de tamaño no coincidía con la mediana debido a la polidispersidad. Aunque las distribuciones de tamaño eran bastante simétricas, no seguían una distribución normal. Para verificar si realmente había diferencias en dichas distribuciones, se realizó un análisis estadístico. Para ello se representaron las distribuciones del diámetro de gota mediante diagramas de caja o “box-plot” (figura 52.11) y se utilizó el test estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis (anexo A52.2.2).

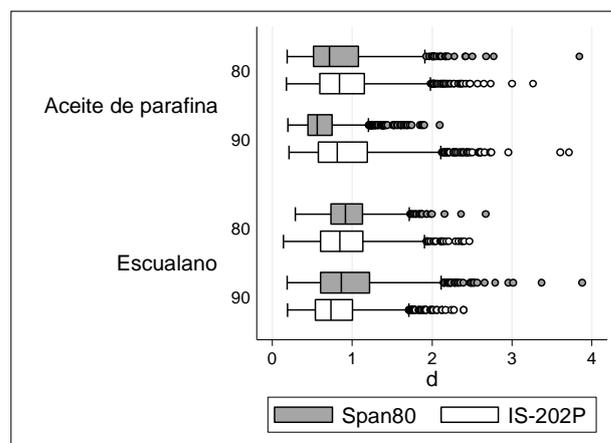


Figura 52.11. Diagramas de caja (box-plot) de las distribuciones del diámetro de gota de las emulsiones de los cuatro sistemas estudiados.

Al comparar las distribuciones de tamaño de los cuatro sistemas estudiados (por el tensioactivo y el aceite utilizado, así como el porcentaje de fase acuosa), se puede afirmar con 95 % de confianza que las distribuciones de tamaño son significativamente distintas (anexo A52.2.2). Asimismo, se puede afirmar con un 95 % de confianza que, para los sistemas A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina), B (solución acuosa/Span80/escualano) y D (solución acuosa/IS-202P/escualano) existen diferencias significativas en las distribuciones de tamaño al aumentar la fase acuosa de 80 % a 90 %. Sin embargo, no se detectan diferencias significativas para el sistema C (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina). Posiblemente, para este sistema se necesitaría una variación mayor de fase acuosa para poder observar diferencias significativas en las distribuciones de tamaño.

5.2.2.2. Estabilidad

La estabilidad se estudió haciendo un seguimiento de los cambios macroscópicos de las emulsiones y del tamaño de gota en función del tiempo a 25 °C. Además, también se utilizó una técnica espectroscópica como la retrodifusión de luz o “backscattering”.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

A nivel macroscópico, se observó si la emulsión fluía o no y si era homogénea o presentaba separación de fases. Todas las emulsiones preparadas mostraron el mismo aspecto visual a tiempo inicial: eran homogéneas, de color blanco y no fluían. Como ejemplo, en la figura 52.12, se muestra la fotografía de una emulsión altamente concentrada del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) acabada de preparar. Con el tiempo, se observó que las emulsiones empezaban a fluir al desestabilizarse, hasta presentar un aspecto heterogéneo en el que se observaban zonas de emulsión y zonas de fase acuosa.

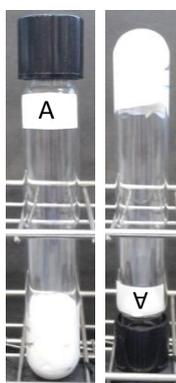


Figura 52.12. Fotografías de una emulsión altamente concentrada del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) acabada de preparar (solución acuosa: mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol (90/10) con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno).

En la tabla 52.5, se muestran los resultados de estabilidad por observación visual a 25 °C. Con Span80 se obtuvieron resultados similares para los dos aceites (tabla 52.5, nº: 1-4), al igual que con IS-202P (tabla 52.5, nº: 5-8). Al comparar los resultados en función de los dos tensioactivos, se observó que las emulsiones formadas con Span80 no presentaban cambios macroscópicos durante los primeros 28 días (tabla 52.5: nº 1 - 4) a diferencia de las emulsiones formadas con IS-202P que sólo se mantenían sin cambios durante 7 o 14 días (tabla 52.5: nº 5 - 8). Este hecho se atribuyó a que el Span80 posee una estructura más compacta que el IS-202P, y posiblemente por este motivo estabiliza mejor la interfase.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 52.5. Estabilidad por observación visual de cambios macroscópicos en emulsiones altamente concentradas de tipo W/O con diferentes porcentajes de fase acuosa, FW, a 25 °C.

Nº	Sistema	Tensioactivo	Aceite	% FW	Tiempo (días) sin observar cambios
1	A	Span80	Aceite de parafina	80	28
2				90	28
3	B	Span80	Escualano	80	28
4				90	28
5	C	IS-202P	Aceite de parafina	80	14
6				90	7
7	D	IS-202P	Escualano	80	14
8				90	7

Asimismo, se realizó un estudio de la estabilidad de las emulsiones de los sistemas A, B, C y D por variación de la retrodifusión de luz o “backscattering” (BS) durante 24 horas, a 25 °C. A modo de ejemplo, se muestran los espectros de retrodifusión de luz a lo largo de la altura, h, de la muestra, de una emulsión del sistema A (figura 52.13). Los resultados de todas las emulsiones estudiadas se muestran en el anexo A52.2.3.

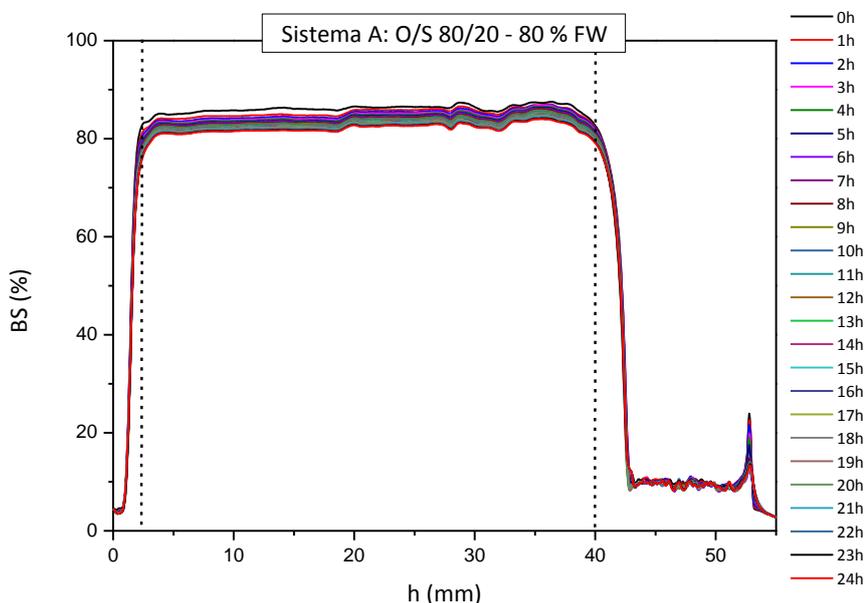


Figura 52.13. Espectros de retrodifusión de luz o “backscattering” (BS) a lo largo de la altura de la muestra (h) a 25 °C, para una emulsión altamente concentrada de tipo W/O del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) con O/S 80/20 y un 80 % de fase acuosa. Sólo tiene significado físico la zona del espectro situada entre las dos líneas discontinuas.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

En todas las emulsiones se observó que, independientemente del tiempo, la intensidad de retrodifusión de luz se mantenía constante a lo largo de toda la muestra, indicación de que las emulsiones eran homogéneas. Asimismo, disminuía en función del tiempo por lo que los principales mecanismos de desestabilización podrían ser coalescencia y/o “Ostwald ripening”. Si se hubiese producido sedimentación o cremado se observaría un aumento o disminución, respectivamente, de la intensidad de luz retrodifusa en la parte inferior de la muestra.

Independientemente del tensioactivo (Span80 o IS-202P), al aumentar la fase acuosa de 80 % a 90 % se producía una mayor disminución de la intensidad de luz retrodifusa a lo largo de toda la muestra. Posiblemente al haber más porcentaje de fase acuosa, la concentración de tensioactivo disponible para estabilizar la interfase es menor y la emulsión tiene mayor tendencia a desestabilizarse. En la figura 52.14, se muestra un ejemplo de los espectros de retrodifusión de luz ampliados de una emulsión del sistema B (solución acuosa/Span80/escualano) y otra del sistema D (solución acuosa/IS-202P/escualano), ambas con un 90 % de fase acuosa (espectros completos en anexo A52.2.3). Se observa que la disminución de la intensidad de luz retrodifusa con el tiempo, es menor para la emulsión con Span80 (figura 52.14, sistema B).

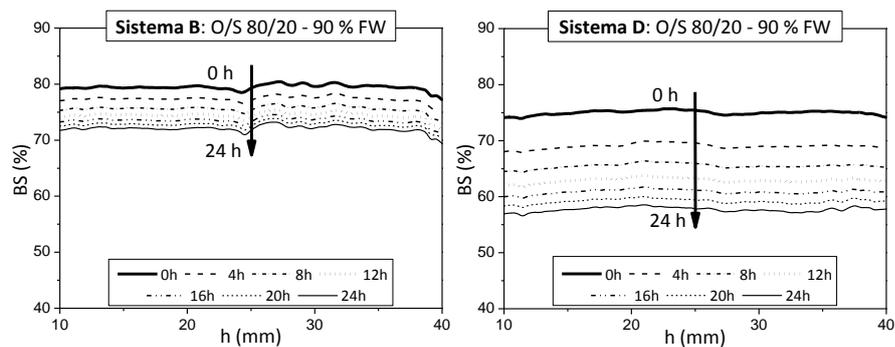


Figura 52.14. Ampliación de los espectros de retrodifusión de luz o “backscattering” (BS), entre 10 y 40 mm de la altura de la muestra (h), para una emulsión altamente concentrada de tipo W/O del sistema B (izquierda) y otra del sistema D (derecha) (espectros completos en anexo A52.2.3).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para analizar la evolución de la intensidad de luz retrodifusa en función del tiempo, se calculó el porcentaje de variación de la retrodifusión entre 10 mm – 40 mm de altura de la muestra (tabla 52.6; en el anexo A52.2.4 se muestra una tabla ampliada). El valor inicial de retrodifusión de luz para un 80 % y un 90 % de fase acuosa es similar en todos los sistemas. Sin embargo a las 24 horas, las formulaciones con IS-202P (sistemas C y D), presentan un valor menor de retrodifusión de luz respecto a las mismas composiciones con Span80. En consecuencia, las formulaciones con Span80 son más estables. Sin embargo, la variación de la intensidad de luz retrodifusa en 24 horas no es superior a un 17 % en ninguno de los sistemas estudiados.

Tabla 52.6. Porcentaje de variación del “backscattering” (BS) respecto al tiempo para una altura de muestra de 10-40 mm a 25 °C, para emulsiones de los sistemas A, B, C y D (fase acuosa, FW, formada por una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y con una concentración de 0,2 mg/mL de cada uno).

Tiempo (h)	Disminución BS 10mm-40mm (%)							
	Sistema A		Sistema B		Sistema C		Sistema D	
	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW
0	86,30	79,47	81,18	73,86	84,80	76,87	81,46	75,00
24	82,33	72,06	77,68	62,60	75,87	61,79	71,22	57,71

Con el propósito de comparar los resultados de retrodifusión de luz en función del tiempo de los cuatro sistemas, se calculó el porcentaje de variación de la retrodifusión entre 10 – 40 mm de altura de la muestra y se normalizó respecto al valor de retrodifusión inicial de cada muestra (figura 52.15). En todos los sistemas estudiados la variación de la retrodifusión de luz para las formulaciones con un 80 % de fase acuosa es menor que con un 90 %. Este hecho sería atribuible a que al aumentar el porcentaje de fase acuosa, manteniendo la relación O/S constante, disminuye la concentración de tensioactivo y la formulación tendría más tendencia a desestabilizarse.

Mediante este estudio, se confirmó que las emulsiones formadas con Span80 presentaban una menor disminución en la retrodifusión de luz respecto las formadas con IS-202P, siendo las emulsiones del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) y del sistema B (solución acuosa/Span80/escualano) con un 80% de fase acuosa, las que presentaban una menor disminución. Este hecho indica que el Span80 proporciona mayor estabilidad

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

que el IS-202P, ya que con bajas concentraciones de dicho tensioactivo se forman emulsiones más estables. Asimismo, la emulsión con mayor variación, y en consecuencia menor estabilidad, es la del sistema D (solución acuosa/IS-202P/escualano) con un 90 % de fase acuosa. Por todo lo mencionado, los análisis de retrodifusión de luz indican que con Span80 se forman emulsiones más estables que con IS-202P.

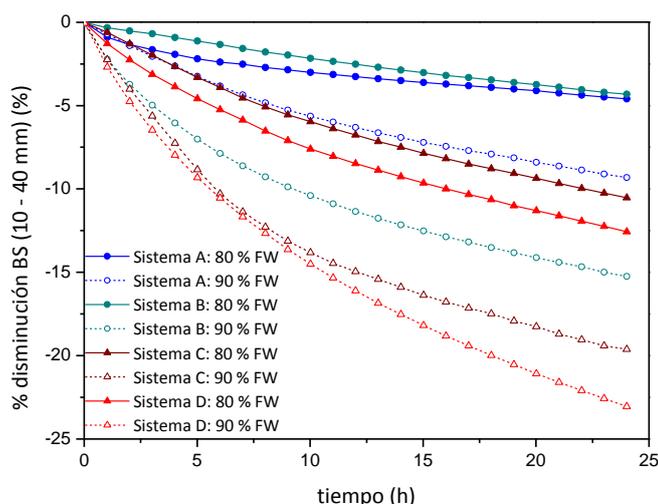


Figura 52.15. Variación de la intensidad de retrodifusión de luz, “backscattering” (BS), con el tiempo a 25 °C para una altura de la muestra entre 10-40 mm, normalizado respecto el BS inicial de cada formulación.

Paralelamente a los estudios macroscópicos y de retrodifusión de luz, se realizó un seguimiento microscópico de la distribución del tamaño de gota e índice de polidispersidad de las emulsiones en función del tiempo, a 25 °C. A partir de las micrografías obtenidas, se midieron los diámetros de 2.000 gotas y se calculó la distribución de tamaños, el diámetro medio así como el índice de polidispersidad, como se indica en la parte experimental (sección 4.3). En la figura 52.16 se muestran los resultados obtenidos durante 21 días para una emulsión del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) con 80 % de fase acuosa. La emulsión acabada de preparar presentaba gotas compactas (figura 52.16 a 0 días) y al aumentar el tiempo se observaba un aumento del tamaño de gota. Ello se reflejó en las distribuciones de tamaño de gota que se desplazaban ligeramente hacia tamaños mayores a medida que aumentaba el tiempo. Asimismo, la polidispersidad también aumentó con el tiempo debido a la aparición de gotas más grandes.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

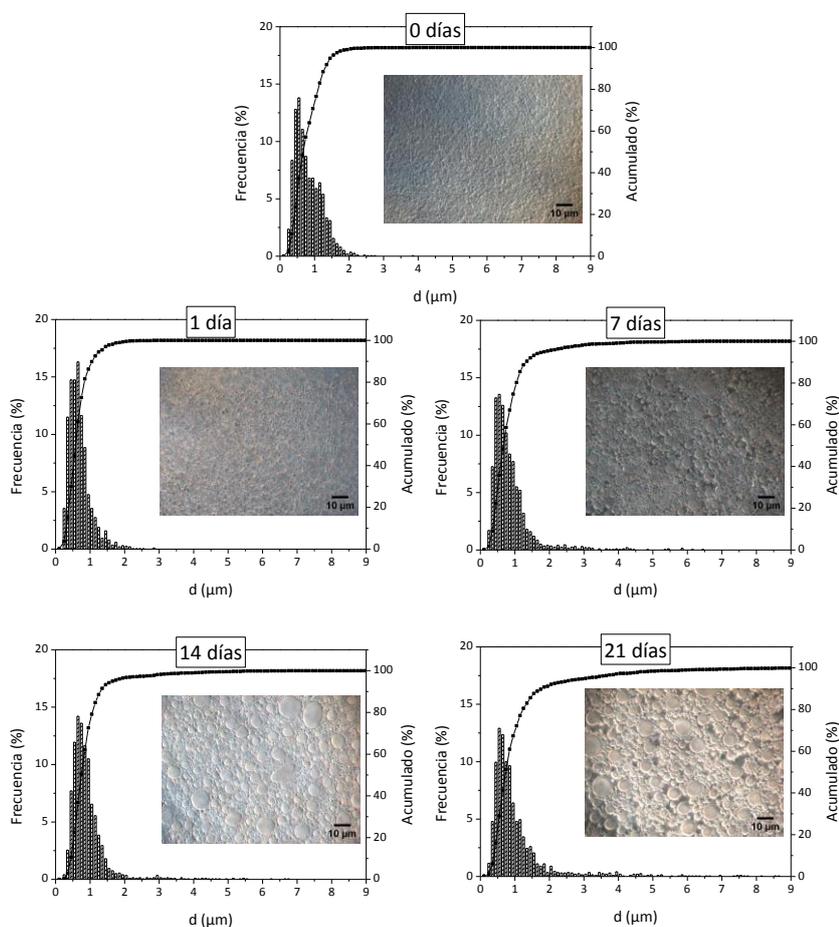


Figura 52.16. Micrografías y distribuciones de tamaños de gota de emulsiones altamente concentradas del sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) con 80 % de fase acuosa durante 21 días a 25 °C.

En el anexo A52.2.1 se muestran las distribuciones a tiempo inicial de las emulsiones de los sistemas A, B, C y D, y en el anexo A52.2.5 se muestran las distribuciones justo antes de que se produjera la desestabilización. En todos los sistemas estudiados se observó la misma tendencia de desplazamiento de las distribuciones de tamaño hacia tamaños mayores.

Las emulsiones de los sistemas con Span80 (sistemas A y B) no presentaron cambios macroscópicos durante 28 días, sin embargo las emulsiones de los sistemas con IS-202P (sistemas C y D) presentaron separación de fases al cabo de 14 y 21 días, respectivamente. Este comportamiento se reflejó en los estudios microscópicos.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

En las tablas 52.7 y 52.8, se muestra la evolución con el tiempo del diámetro de gota, expresado como mediana, y el índice de polidispersidad para emulsiones formadas con Span80 (sistemas A y B) e IS-202P (sistemas C y D), respectivamente. Para facilitar la lectura no se muestran los intervalos de confianza expresados en forma del percentil al 5 % y 95 % (dicha información se encuentra en el anexo A52.2.6).

Tabla 52.7. Evolución de la mediana del diámetro de gota (d) y del índice de polidispersidad (PDI) con el tiempo, a 25 °C, para las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O formadas con Span80 de los sistemas A y B.

Nº	Tiempo (días)	Sistema A (Span80/aceite parafina)				Sistema B (Span80/escualano)			
		80 % FW		90 % FW		80 % FW		90 % FW	
		d (µm)	PDI	d (µm)	PDI	d (µm)	PDI	d (µm)	PDI
1	0	0,71	1,8	0,56	1,6	0,91	1,3	0,86	1,7
2	1	0,63	1,9	0,94	2,9	0,96	1,9	0,89	3,4
3	7	0,72	4,1	0,67	12	0,62	5,9	0,67	11
4	14	0,80	4,9	0,73	16	0,65	5,0	0,65	15
5	21	0,79	5,5	0,66	24	0,62	13	0,76	17
6	28	0,66	18	0,67	37	0,61	14	0,84	19

Tabla 52.8. Evolución de la mediana del diámetro de gota (d) y del índice de polidispersidad (PDI) con el tiempo, a 25 °C, para las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O formadas con IS-202P de los sistemas C y D (FW: fase acuosa; (1): emulsión desestabilizada).

Nº	Tiempo (días)	Sistema C (IS-202P/aceite parafina)				Sistema D (IS-202P/escualano)			
		80 % FW		90 % FW		80 % FW		90 % FW	
		d (µm)	PDI	d (µm)	PDI	d (µm)	PDI	d (µm)	PDI
1	0	0,84	1,7	0,81	1,8	0,84	1,5	0,73	1,6
2	1	1,5	2,8	0,94	3,0	1,0	3,3	1,3	5,2
3	7	0,95	11	0,65	29	0,82	12	0,51	19
4	14	0,77	15	(1)		(1)		(1)	
5	21	(1)							

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las tablas 52.7 y 52.8 indican que el valor del diámetro de gota de las emulsiones, expresado en forma de mediana, no varía. Estos resultados parecen estar en contradicción con las distribuciones de tamaño (figura 52.16 y anexos A52.2.1 y A52.2.5), ya que se desplazaban ligeramente hacia valores mayores. No obstante, debe destacarse que la polidispersidad aumenta con el tiempo, corroborando el aumento en la amplitud de las distribuciones de tamaño hacia tamaños mayores. Para verificar estas tendencias, se analizaron las distribuciones de tamaño mediante el test estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis (anexo A52.2.7). Los resultados obtenidos permiten afirmar con un 95 % de confianza que para cada emulsión estudiada hay diferencias significativas, por lo tanto las distribuciones de tamaño varían de forma significativa con el tiempo.

Así pues, los resultados obtenidos mediante microscopía óptica, confirmaron los resultados obtenidos mediante observación visual y retrodifusión de luz. Las emulsiones de todos los sistemas estudiados, poseen estabilidad suficiente para poder realizar estudios de liberación (con una duración de 24 horas). Además, también se confirmó que las emulsiones con Span80 (sistemas A y B) son más estables que las formadas con IS-202P (sistemas C y D).

5.2.2.3. Propiedades reológicas

Se realizaron ensayos oscilatorios para determinar las propiedades viscoelásticas de las emulsiones. Así, primero se estudió la variación del módulo elástico y viscoso respecto a la deformación para un valor de frecuencia constante, con el objetivo de determinar la zona de viscoelasticidad lineal. Posteriormente, y para un valor de deformación seleccionado dentro de la zona de viscoelasticidad lineal, se determinó la variación de los módulos elástico y viscoso en función de la frecuencia.

Se realizó un estudio sistemático de las propiedades reológicas de emulsiones con parabenos, de los sistemas A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina), B (solución acuosa/Span80/escualano), C (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina) y D (solución acuosa/IS-202P/escualano), con un O/S de 70/30 y un 80 % de fase acuosa formada por agua/propilenglicol (90/10) con metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, con una concentración de 0,2 mg/mL de cada uno.

En la figura 52.17 y 52.18, se muestra la evolución del módulo elástico, G' , y viscoso, G'' , en función de la deformación y de la frecuencia, respectivamente, para emulsiones de los sistemas A, B, C y D.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

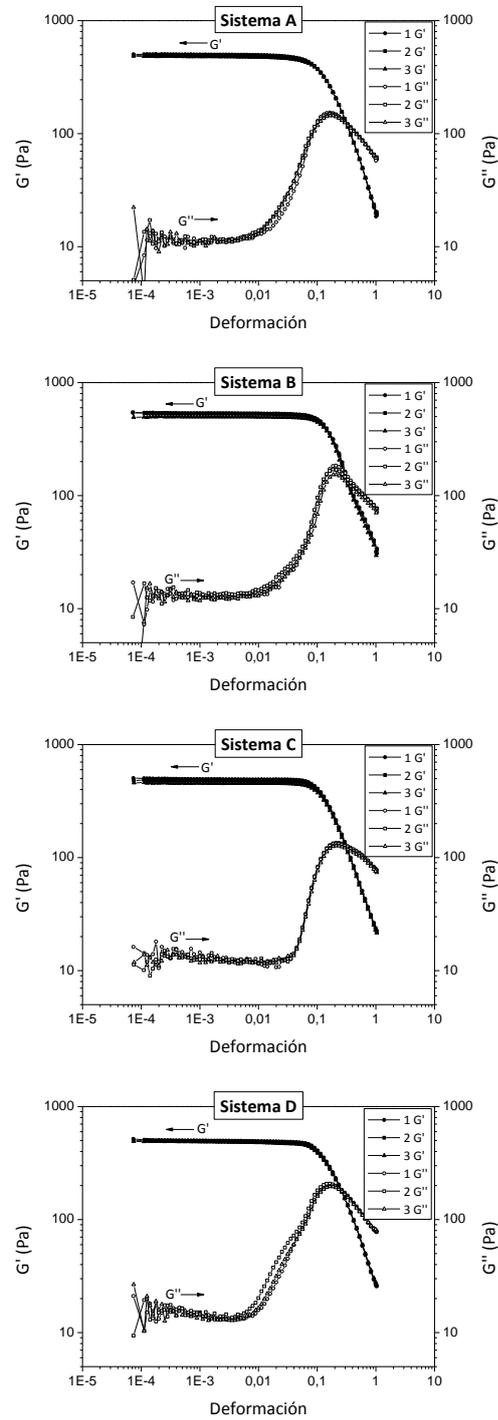


Figura 52.17. Evolución del módulo elástico, G' , y viscoso, G'' , con la deformación para emulsiones altamente concentradas con O/S 70/30 y 80 % de fase acuosa, de los sistemas A, B, C y D. Los ensayos se realizaron por triplicado (réplicas 1, 2 y 3) a 25 °C y una frecuencia de 1 Hz.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

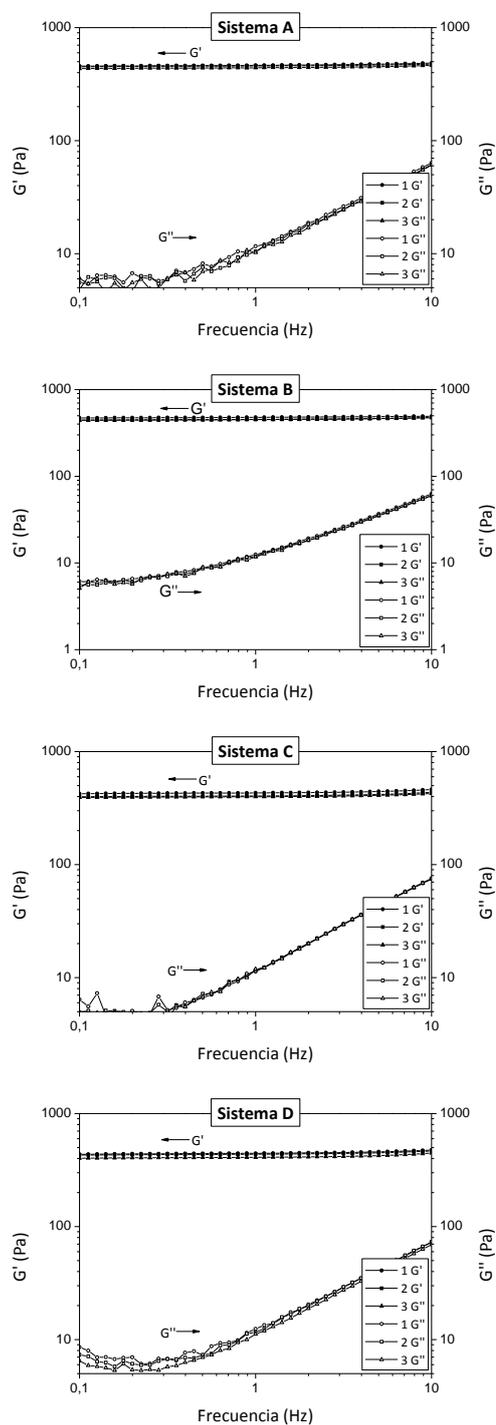


Figura 52.18. Evolución del módulo elástico, G' , y viscoso, G'' , con la frecuencia para emulsiones altamente concentradas con O/S 70/30 y 80 % de fase acuosa, de los sistemas A, B, C y D. Los ensayos se realizaron por triplicado (réplicas 1, 2 y 3) a 25 °C y una deformación del 0,5 %.

5.2. Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas

Los perfiles de deformación, al igual que los de frecuencia, son muy similares para los cuatro sistemas estudiados. El módulo elástico (G') es superior al viscoso (G'') debido al comportamiento predominantemente elástico de estas emulsiones que ya se encuentra descrito en la bibliografía [Princen, 1983; Pons, 1993; Jager-Lézer, 1998]. Al comparar el valor del módulo elástico de los cuatro sistemas, se puso de manifiesto que dicho módulo es superior para las emulsiones formadas con Span80, sistemas A y B (en la sección 5.4.7, se realiza un análisis detallado de estos resultados).

Asimismo, para determinar si la presencia de parabenos influía en las propiedades reológicas de las emulsiones altamente concentradas, se estudiaron emulsiones con y sin parabenos. A modo de ejemplo, se muestran los resultados de módulo elástico, G' , y el módulo viscoso, G'' , en función de la frecuencia, para emulsiones del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con O/S 90/10 y un 90 % de fase acuosa, con y sin parabenos (figura 52.19). Se observó que, tanto el módulo elástico (G') como el viscoso (G'') mostraban comportamientos similares en presencia o ausencia de parabenos.

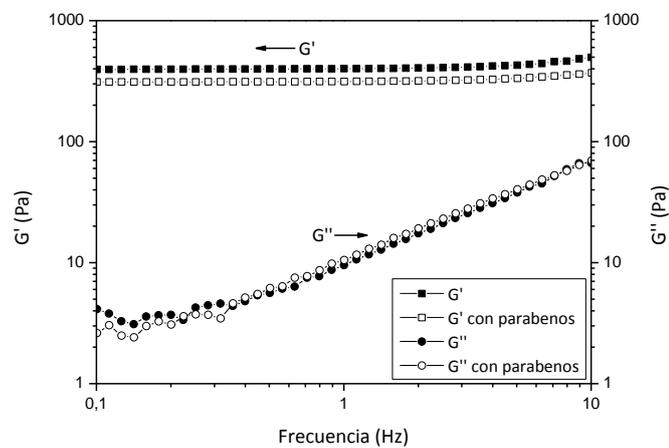


Figura 52.19. Módulo elástico, G' (cuadrados), y viscoso, G'' (círculos), respecto a la frecuencia para las emulsiones altamente concentradas del sistema solución acuosa/ Span80/aceite de parafina, con O/S 90/10 y un 90 % de fase acuosa, con y sin parabenos (símbolos blancos y negros, respectivamente). Los ensayos se han realizado a 25 °C con una geometría plato - plato (25 mm) y una deformación del 0,5 %.

5.2.3. Resumen de los resultados de formación y caracterización

Se han formado y caracterizado emulsiones altamente concentradas de tipo W/O para los sistemas solución acuosa/Span80/aceite de parafina, solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano. Los resultados más destacables de esta sección son los siguientes:

- Se han formado emulsiones altamente concentradas de tipo W/O incorporando un máximo de un 93 % de fase acuosa con bajas concentraciones de tensioactivo (O/S 97,5/2,5).
- Los sistemas con Span80 permiten formar emulsiones altamente concentradas de menor tamaño de gota que los sistemas con IS-202P.
- Las propiedades de emulsiones altamente concentradas de los sistemas estudiados, prácticamente no han variado al incorporar parabenos en la fase acuosa de dichas emulsiones.
- Los estudios de estabilidad han puesto de manifiesto que, en todos los sistemas seleccionados, se han formado emulsiones con estabilidad suficiente para realizar estudios de liberación de 24 horas, siendo las emulsiones formadas con Span80 las más estables.
- Las propiedades reológicas fueron similares para las emulsiones estudiadas con y sin parabenos, presentando todas ellas un comportamiento predominantemente elástico.

El análisis de los resultados obtenidos, permitió seleccionar el sistema A (solución acuosa/Span80/aceite de parafina) como sistema modelo, por ser el sistema en el que se obtenían emulsiones más estables y con menor tamaño de gota.

5.3. Estudios de liberación de moléculas activas desde emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras

Con el objeto de estudiar y modelizar la liberación de los parabenos incorporados en emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, se realizaron ensayos de liberación utilizando membranas de diálisis y agua/propilenglicol 90/10, como solución receptora. En una primera etapa, se estudió separadamente la liberación de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, durante 25 horas a 25 °C, desde soluciones acuosa y micelar, y desde emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo (sistema A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina), con una relación O/S de 70/30 y un 75 % de fase acuosa. En una segunda etapa, se realizó el mismo estudio con una mezcla de las tres moléculas activas en una relación 1:1:1 en peso.

Las soluciones micelares se prepararon utilizando el tensioactivo Tween80 en una concentración de 7,5 mg/mL, concentración muy superior a su concentración micelar crítica (CMC) que según la bibliografía es de $2,4 \times 10^{-2}$ mg/mL [Patist, 2000]. En todos los experimentos, se cumplieron las condiciones "Sink", es decir, la concentración de parabeno en la solución receptora no sobrepasó el 10 – 20 % de su solubilidad máxima.

5.3.1. Emulsiones con metilparabeno

Los resultados del estudio de liberación de metilparabeno a una solución receptora se muestran en la figura 53.1.

Las curvas de liberación desde la solución acuosa y la solución micelar, aumentan de un modo más pronunciado que desde la emulsión a tiempos cortos y luego tienden a un valor constante o "plateau", excepto para la emulsión que no se alcanza un valor constante en 25 horas. La liberación del metilparabeno es más rápida desde la solución acuosa que desde la solución micelar y, es mucho menor desde la emulsión altamente concentrada. La liberación de metilparabeno desde la solución acuosa es prácticamente completa, indicación de que no se produce interacción entre la membrana de diálisis y dicha molécula.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de micelas produce una disminución en el perfil de liberación del metilparabeno respecto al de la solución acuosa (sin micelas). Además no se produce la liberación completa, hecho que confirmaría la interacción descrita en la literatura entre los parabenos y algún tensioactivo no iónico como el polisorbato80 (Tween80) [Rowe, 2009]. Desde la emulsión altamente concentrada se obtuvo el perfil de liberación más lento, ya que la molécula de parabeno tiene que difundir desde el interior de la gota de agua de la emulsión a la fase continua y, posteriormente, a la solución receptora.

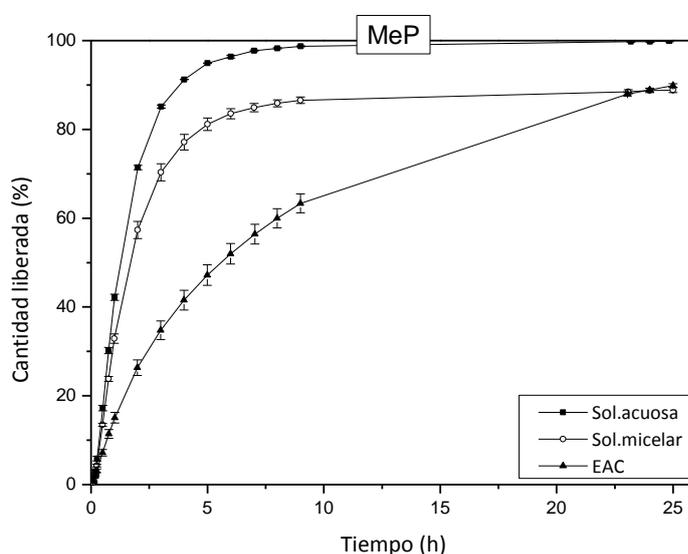


Figura 53.1. Curvas de liberación de metilparabeno (MeP) desde la solución acuosa (cuadrados), solución micelar (círculos) y emulsión altamente concentrada (EAC) de tipo W/O (triángulos) a 25 °C (las líneas son una guía visual).

El porcentaje de liberación al cabo de 8 y 24 horas, se muestra en la tabla 53.1. Al pasar de 8 a 24 horas se observa que el porcentaje liberado desde la solución acuosa y la solución micelar, prácticamente no varía a diferencia del porcentaje liberado desde la emulsión que aumenta. Al cabo de 8 horas prácticamente se ha alcanzado la liberación máxima para el metilparabeno cuando está en solución acuosa y solución micelar. Sin embargo, desde la solución micelar no se libera completamente debido a la interacción con el tensioactivo Tween80, como se ha comentado anteriormente. La concentración de metilparabeno

liberada desde la emulsión altamente concentrada al cabo de 24 horas es similar a la liberada desde la solución micelar, aunque desde la emulsión no se ha alcanzado un valor constante.

Tabla 53.1. Concentración de metilparabeno (MeP) liberado a 8 y 24 horas, y a 25 °C, desde cada medio estudiado (EAC: emulsión altamente concentrada) a una solución receptora.

	Concentración liberada (%)		
	Solución acuosa	Solución micelar	EAC
MeP 8 h	98,3 ± 0,6	85,9 ± 3,5	60,0 ± 9,3
MeP 24 h	99,7 ± 0,7	88,7 ± 2,0	88,9 ± 1,7

5.3.2. Emulsiones con etilparabeno

El estudio de la liberación del etilparabeno puso también de manifiesto que la liberación es más rápida desde la solución acuosa, que desde la solución micelar y que desde la emulsión altamente concentrada (figura 53.2). Al cabo de 8 horas, el perfil de liberación desde la solución prácticamente alcanza el “plateau”, la solución micelar lo alcanza a las 24 horas, y la emulsión altamente concentrada no lo alcanza durante las 25 horas del experimento. Ello se evidencia considerando las concentraciones máximas liberadas de etilparabeno al cabo de 8 y 24 horas (tabla 53.2). De 8 a 24 horas se observa que el porcentaje liberado desde la solución acuosa prácticamente permanece constante, y, sin embargo, aumenta desde la solución micelar y desde la emulsión. Para todas las muestras ensayadas, las concentraciones máximas liberadas son menores comparadas con las obtenidas para el metilparabeno (tabla 53.1). Este hecho se atribuyó a la diferente longitud de la cadena hidrocarbonada de los dos parabenos, ya que a menor longitud está más favorecido el proceso de liberación. Debe destacarse que con la solución acuosa no se produce la liberación completa (100 %) de etilparabeno posiblemente debido a que su difusión es más lenta y se necesitarían tiempos más largos para alcanzar dicho valor. La concentración liberada a las 24 horas desde la solución micelar es ligeramente inferior al compararla con el metilparabeno (tabla 53.1), posiblemente por producirse una mayor

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

interacción con el Tween80. Además, desde la emulsión altamente concentrada el porcentaje liberado de etilparabeno (tabla 53.2) fue menor que el de metilparabeno (tabla 53.1), poniendo de manifiesto la dificultad de difundir del parabeno al aumentar la cadena hidrocarbonada.

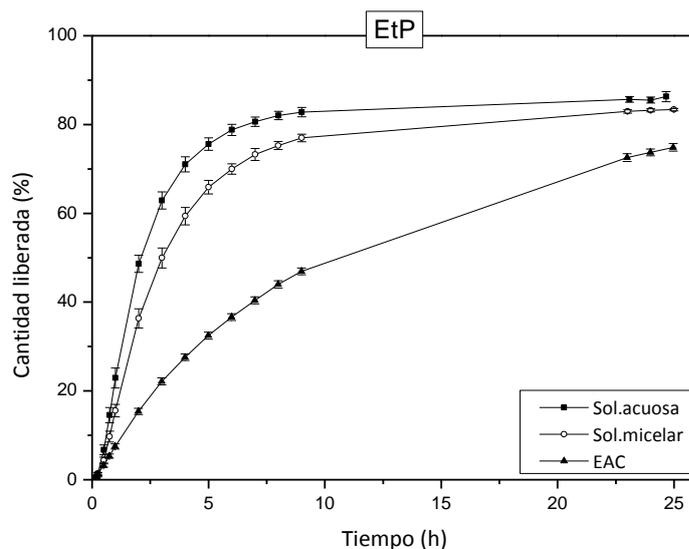


Figura 53.2. Curvas de liberación de etilparabeno (EtP) desde la solución acuosa (cuadrados), solución micelar (círculos) y emulsión altamente concentrada (EAC) de tipo W/O (triángulos) a 25 °C (las líneas son una guía visual).

Tabla 53.2. Concentración de etilparabeno (EtP) liberado a 8 y 24 horas, y a 25 °C, desde cada medio estudiado (EAC: emulsión altamente concentrada) a una solución receptora.

	Concentración liberada (%)		
	Solución acuosa	Solución micelar	EAC
EtP 8 h	82,0 ± 4,0	75,3 ± 3,8	44,0 ± 3,4
EtP 24 h	85,5 ± 3,0	83,2 ± 1,6	73,7 ± 3,3

5.3.3. Emulsiones con propilparabeno

Puesto que de los tres parabenos seleccionados, el propilparabeno es el que tiene mayor longitud de cadena hidrocarbonada era de esperar que la liberación de esta molécula fuese todavía más lenta que la de los otros dos parabenos. Los resultados obtenidos (figura 53.3) confirmaron estas predicciones. Sin embargo la tendencia fue la misma, la liberación del propilparabeno es más rápida desde la solución acuosa, que desde la solución micelar y desde la emulsión altamente concentrada, siendo esta última mucho más lenta que las otras dos. A diferencia de los otros parabenos, durante las 25 horas del estudio no se alcanzó el “plateau” en ningún medio.

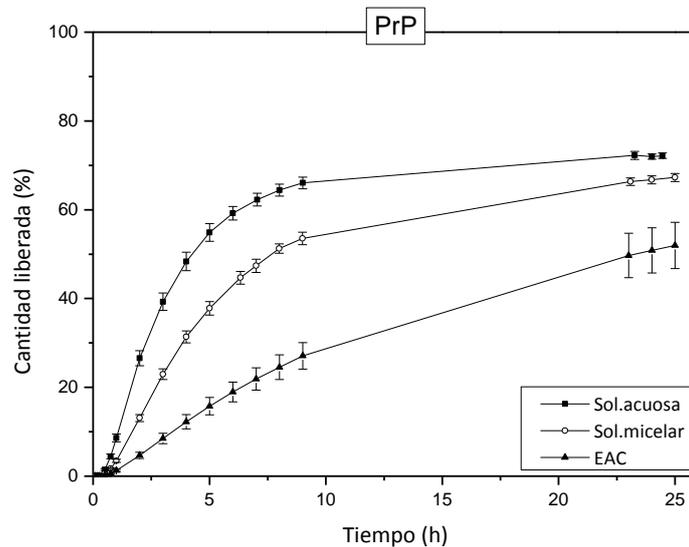


Figura 53.3. Curvas de liberación de propilparabeno (PrP) desde la solución acuosa (cuadrados), solución micelar (círculos) y emulsión altamente concentrada (EAC) de tipo W/O (triángulos) a 25 °C (las líneas son una guía visual).

Por ello y a diferencia de los otros dos parabenos, al pasar de 8 a 24 horas se produce un aumento en la concentración liberada desde los tres medios estudiados (tabla 53.3), poniendo de manifiesto que el propilparabeno es, de los tres parabenos, el que presenta una liberación más lenta. Asimismo, como era previsible, la concentración máxima liberada de propilparabeno, tanto a 8, como a 24 horas, se obtiene desde la solución acuosa (tabla 53.3), siendo

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

inferior a los valores obtenidos con los otros dos parabenos como se ha mencionado previamente.

Tabla 53.3. Concentración de propilparabeno (PrP) liberado a 8 y 24 horas, y a 25 °C, desde cada medio estudiado (EAC: emulsión altamente concentrada) a una solución receptora.

	Concentración liberada (%)		
	Solución acuosa	Solución micelar	EAC
PrP 8 h	64,4 ± 5,9	51,3 ± 4,6	24,5 ± 11,9
PrP 24 h	72,0 ± 2,5	66,7 ± 3,9	50,8 ± 21,8

5.3.4. Emulsiones con una mezcla de los tres parabenos

Los resultados de liberación con una mezcla de los tres parabenos, en una relación 1:1:1 en peso, se muestran en la figura 53.4. De forma similar a los estudios realizados individualmente con cada parabeno, la liberación es más rápida desde la solución acuosa que desde la solución micelar y que desde la emulsión altamente concentrada. Estos resultados son similares a los obtenidos para cada parabeno individualmente (figuras 53.1, 53.2 y 53.3). Sin embargo, cuando están los tres parabenos juntos, su liberación es un poco más lenta como se evidencia al considerar las concentraciones liberadas a 8 y 24 horas (tablas 53.1, 53.2, 53.3 y 53.4). Al aumentar la cadena hidrocarbonada del parabeno, aumentan las diferencias entre las concentraciones liberadas a 8 y 24 horas desde todos los medios, (tabla 53.4). Desde la emulsión altamente concentrada se observa una mayor diferencia, de modo similar a los estudios de los parabenos individualmente (tablas 53.1, 53.2 y 53.3). Asimismo, la máxima concentración liberada se produce con el parabeno de menor longitud de cadena hidrocarbonada, el metilparabeno.

A pesar de las ligeras diferencias que se producen en la liberación cuando los parabenos se estudian individualmente o conjuntamente, las tres moléculas son apropiadas para estudiar la influencia de los factores de composición y formación de dichas emulsiones en la liberación desde emulsiones altamente concentradas.

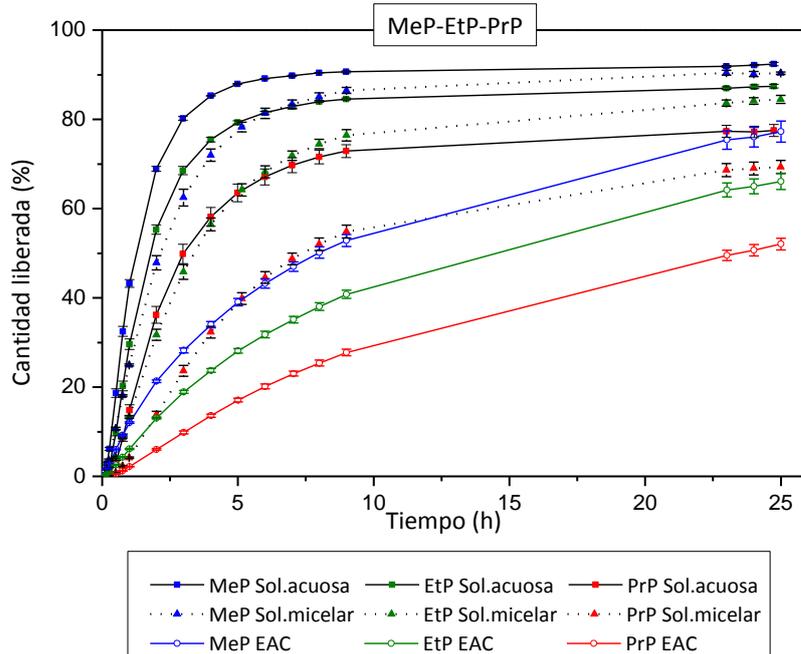


Figura 53.4. Curvas de liberación para una mezcla de metilparabeno/etilparabeno/propilparabeno (MeP/EtP/PrP) 1:1:1, desde una solución acuosa (cuadrados con línea negra continua), una solución micelar (triángulos con línea negra discontinua) y una emulsión altamente concentrada (EAC) de tipo W/O del sistema A (círculos con líneas de colores) a 25 °C (el color azul representa al metilparabeno, el verde al etilparabeno, el rojo al propilparabeno).

Tabla 53.4. Concentraciones de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP), liberados a 8 y 24 horas, y a 25 °C, desde cada medio estudiado (EAC: emulsión altamente concentrada del sistema A) a una solución receptora.

	Concentración liberada (%)		
	Solución acuosa	Solución micelar	EAC
MeP 8 h	90,4 ± 0,2	85,1 ± 3,8	50,1 ± 5,5
MeP 24 h	92,2 ± 0,8	90,2 ± 2,5	76,0 ± 9,5
EtP 8 h	84,0 ± 0,9	74,5 ± 4,5	38,0 ± 3,7
EtP 24 h	87,3 ± 1,8	84,1 ± 3,2	65,0 ± 7,2
PrP 8 h	71,6 ± 6,6	52,0 ± 6,1	25,4 ± 2,8
PrP 24 h	77,2 ± 5,4	69,0 ± 6,3	50,7 ± 5,5

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se comprobó si la liberación de los tres parabenos desde las emulsiones altamente concentradas (figura 53.4) seguía un modelo de difusión según la ley de Fick o un modelo cinético de primer orden. Para ello, se compararon los resultados experimentales con los dos modelos teóricos durante las primeras 9 horas de liberación, ya que era dónde se producían los mayores cambios. En la figura 53.5, se muestran los resultados experimentales de los tres parabenos liberados desde la emulsión altamente concentrada, y dos ajustes realizados, uno según la ley de Fick (figura 53.5, A) y otro según un modelo cinético de primer orden (figura 53.5, B).

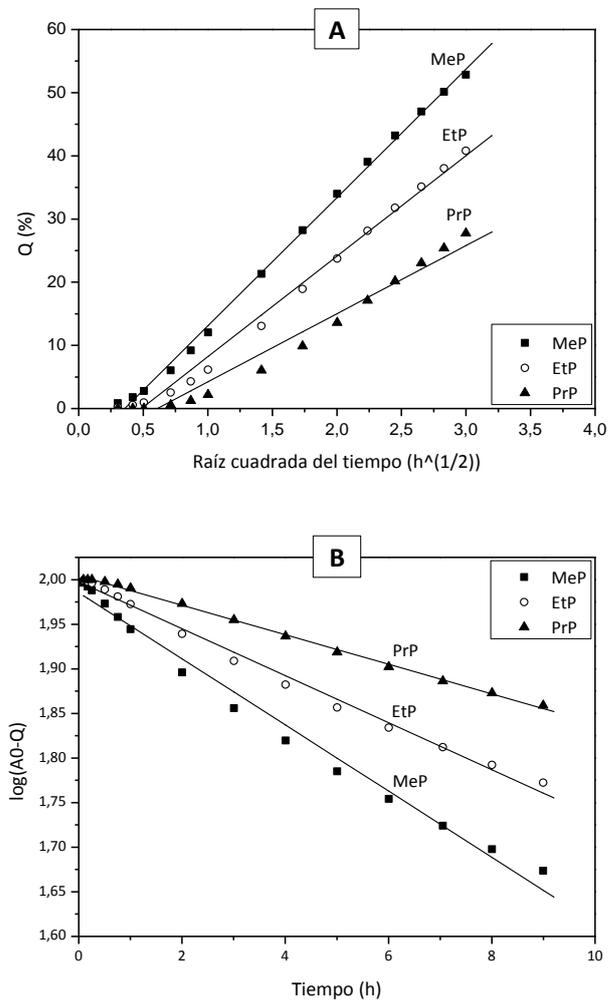


Figura 53.5. Liberación de una mezcla de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP), desde la emulsión altamente concentrada (figura 53.4), y dos ajustes realizados (líneas continuas), uno según la ley de Fick (A) y otro según un modelo cinético de primer orden (B).

A medida que aumenta la longitud de la cadena hidrocarbonada de los parabenos, las curvas liberación presentan mayores desviaciones respecto al modelo de Fick (figura 53.5, A) y se ajustan mejor al modelo cinético de primer orden (figura 53.5, B) poniendo de manifiesto la complejidad de los mecanismos de difusión desde emulsiones altamente concentradas para los parabenos. En la literatura, aparece descrito que para mezclas de emulsiones hidrogenadas y fluoradas, a menor longitud de cadena hidrocarbonada del parabeno, el proceso de liberación viene determinado por la difusión desde el interior de la gota a la fase continua. Sin embargo, a mayor longitud de cadena hidrocarbonada, el proceso de liberación está más influenciado por la difusión desde la fase continua a la solución receptora [Rocca, 1998]. Por todo ello, y en base a los resultados obtenidos, se podría afirmar que cuanto más lipófila sea la molécula, más lenta será su liberación y más desviaciones presentará del modelo de difusión de Fick.

5.3.5. Resumen de los resultados de liberación

Se determinaron los perfiles de liberación del metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, tanto individualmente como en mezclas de los tres en una relación 1:1:1 en peso, desde soluciones acuosas, soluciones micelares y emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo (sistema A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina). Independientemente del medio de partida, la liberación del metilparabeno es mayor que la del etilparabeno y, ésta a su vez que la del propilparabeno. Es decir, a menor longitud de cadena hidrocarbonada de la molécula, mayor liberación, comportamiento esperado y que ya se había descrito previamente en la literatura [Rocca, 1998; Esposito, 2003].

Los resultados obtenidos con la solución micelar demostraron que, como aparece descrito en la literatura [Rowe, 2009], los parabenos interaccionan con el polisorbato80 (Tween80), ya que se alcanzó el “plateau” sin liberar completamente (el 100 %) de dichas moléculas.

La liberación de los parabenos desde la emulsión altamente concentrada, era más lenta que desde la solución acuosa y la solución micelar. Hecho atribuible a la estructura de dichas emulsiones y por ello, los mecanismos de difusión desde emulsiones altamente concentradas son más complejos.

Cabe destacar que el comportamiento de los parabenos fue similar cuando se estudiaron individual o conjuntamente. Por ello, se pueden incorporar de forma conjunta en la fase acuosa de emulsiones altamente concentradas del sistema modelo (sistema A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina), para estudiar su liberación simultáneamente, siendo éste uno de los propósitos de esta tesis.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

En esta sección se describen los resultados que se obtuvieron al estudiar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, para modelizar su formulación. Con este objetivo, y aplicando un diseño de experimentos factorial, se estudiaron propiedades como el tamaño de gota, propiedades reológicas, así como la liberación de moléculas activas incorporadas en la fase acuosa de dichas emulsiones.

5.4.1. Selección de las composiciones a estudiar

En una primera etapa se estudió la influencia de las variables de composición del sistema agua/Span80/aceite de parafina en el tamaño de gota y el módulo elástico de las emulsiones. Posteriormente, se estudiaron tanto las variables de composición como las del proceso de formación, utilizando como fase acuosa una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en una relación en peso 1:1:1, disuelta en agua/propilenglicol 90/10.

Variables de composición

Las emulsiones se formaron mediante el método convencional de adición de la fase acuosa, manteniendo constantes la velocidad de agitación, a 800 rpm (se escogió este valor porque era la agitación mínima a la que se formaban emulsiones), la velocidad de adición de la fase acuosa, a 2 g/min., y otras variables como el tipo de eje de agitación utilizado y su posición, la posición del tubo de adición de la fase acuosa y la temperatura de trabajo.

Las variables de composición a estudiar fueron el porcentaje de fase acuosa (FW) y la relación aceite/tensioactivo (O/S), y los límites fueron 75 % y 90 % para el componente acuoso, y 2,33 (70/30) y 9,0 (90/10) para la relación O/S. Dichos límites se seleccionaron dentro de la zona de formación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema agua/Span80/aceite de parafina (figura 52.1). Las variables respuesta a estudiar fueron el tamaño de gota expresado como diámetro (d) y el módulo elástico (G'). Se utilizó un diseño de superficie de respuesta tipo diseño central compuesto (CCD) para dos variables con tres puntos centrales (figura 54.1), así se realizaron un total de 11 experimentos en orden aleatorio analizando el diámetro de gota y el

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

módulo elástico. Los resultados se muestran en la tabla 54.1. Para un porcentaje de agua de 82,5 % y un O/S de 0,95 (tabla 54.1: experimento 3), así como para un 90,0 % y una relación O/S 2,33 (tabla 54.1: experimento 5), no se pudieron formar emulsiones altamente concentradas en las condiciones de formación descritas previamente.

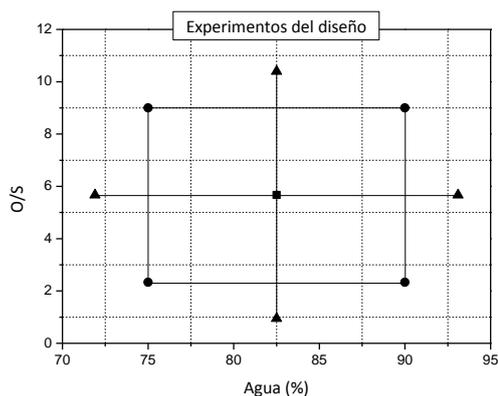


Figura 54.1. Representación gráfica de los experimentos a realizar en el diseño central compuesto.

Tabla 54.1. Factores del diseño central compuesto (FW: fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo) y variables respuesta (d: diámetro de gota, G'; módulo elástico).

Experimento	FW (%)	O/S ⁽¹⁾	d (μm)	G' (Pa)
1	93,1	5,67	1,2	356
2	75,0	9,00	2,1	127
3	82,5	0,95	--	--
4	82,5	5,67	1,2	458
5	90,0	2,33	--	--
6	75,0	2,33	0,9	312
7	82,5	10,4	1,6	241
8	90,0	9,00	1,3	394
9	82,5	5,67	1,0	472
10	82,5	5,67	1,1	363
11	71,9	5,67	2,0	125

(1) 0,95 = 49/51; 2,33 = 70/30; 5,67 = 85/15; 9,00 = 90/10; 10,4 = 91/9.

A partir de los resultados obtenidos, se procedió a analizar las variables respuesta, diámetro de gota y módulo elástico, relacionándolas con las variables de composición.

Variables de composición y diámetro de gota

En relación al análisis de la variable respuesta diámetro de gota (d), se comprobó que la variable no seguía una distribución normal. Sin embargo se decidió seguir el análisis con la variable sin normalizar aplicando el teorema del límite central ya que se comprobó que con la variable normalizada y sin normalizar se obtenían resultados similares. Se realizó un análisis de la influencia de efectos principales aplicando el test estadístico ANOVA y con la ayuda de los diagramas de Pareto (figura 54.2). En el diagrama de Pareto, los efectos que están por encima de la línea de significación son factores influyentes en el modelo. En el análisis realizado se observó que el factor cuadrático de B, es decir, de la relación O/S, no era influyente por lo que se eliminó del modelo (figura 54.2). De esta forma, y con un 95 % de confianza, se concluyó que los factores que influían en el tamaño eran la relación O/S, el porcentaje de agua en sus componentes lineal y cuadrático, y la interacción del porcentaje de agua con O/S (figura 54.2).

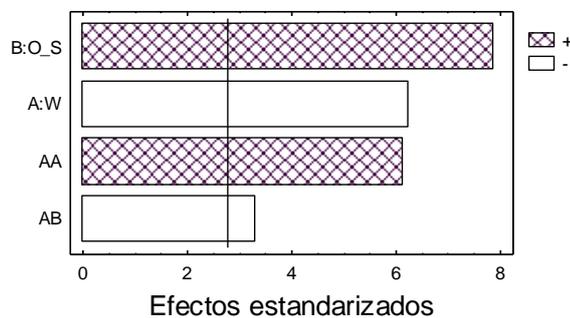


Figura 54.2. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el tamaño de gota, d , de las emulsiones según el diseño de experimentos propuesto (Factor A: fase acuosa, Factor B: relación O/S).

Se comprobó que los residuos del modelo no siguieran ningún patrón, requisito imprescindible para que el modelo fuese válido. Como se muestra en la figura 54.3, los residuos se distribuyen de forma aleatoria por lo que se puede suponer que el modelo ajustado es correcto.



Figura 54.3. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados de tamaño de gota.

El modelo determinado para el diámetro de gota, explica un 98 % de la variabilidad total, y su ecuación se indica a continuación:

$$d = 28,8 - 0,705 FW + 0,809 O/S + 0,004 FW^2 - 0,008 W O/S \quad \text{Ec. 54.1}$$

Mediante este modelo, se observa que hay un valor de porcentaje de agua que actúa como punto de inflexión en el tamaño de gota (figura 54.4). A porcentajes de agua más bajos, y para una relación O/S determinada, el diámetro de gota disminuye al aumentar la concentración de fase acuosa. Esta tendencia se justificó por la concentración de tensioactivo presente en el medio. Al agitar a velocidad constante y aumentar la concentración de agua, el tamaño de gota disminuye debido a la disponibilidad de tensioactivo para formar gotas más pequeñas. Sin embargo, a mayores porcentajes de agua, el diámetro de gota aumenta al aumentar la fase acuosa. Este hecho, que ya se encuentra descrito en la bibliografía [Princen, 1979], se atribuye a que, para porcentajes elevados de agua, el factor limitante para formar nuevas gotas es el tensioactivo, y por este motivo el tamaño de gota aumenta. También se observa que manteniendo el porcentaje de agua constante, al aumentar la relación O/S aumenta el tamaño de gota, como consecuencia de la disminución de la concentración de tensioactivo y el aumento de la tensión interfacial entre los componentes acuoso y oleoso.

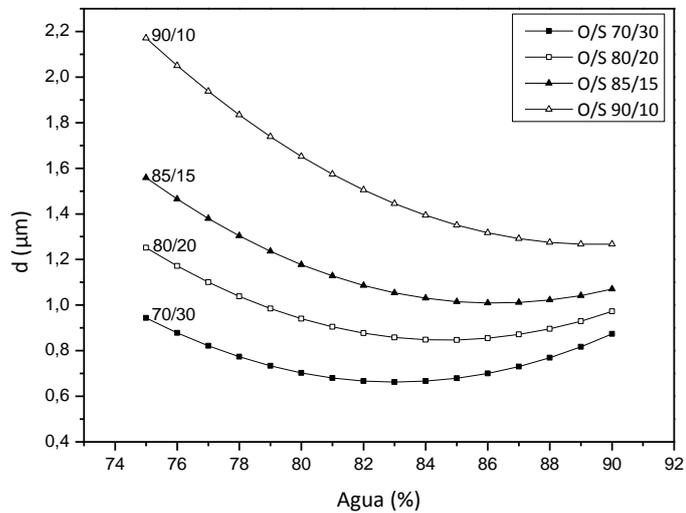


Figura 54.4. Predicción del diseño de experimentos para el diámetro de gota de las emulsiones del sistema agua/Span80/aceite de parafina.

Variables de composición y módulo elástico

Para analizar los resultados obtenidos con el módulo elástico, G' , se procedió de forma similar al análisis del diámetro de gota. La variable G' no seguía una distribución normal, pero se decidió seguir el análisis con la variable sin normalizar aplicando el teorema del límite central ya que se comprobó que con la variable normalizada y sin normalizar se obtenían resultados similares. Se analizó la influencia de efectos principales aplicando el test estadístico ANOVA y los diagramas de Pareto (figura 54.5). Ni el factor cuadrático de la variable O/S, ni la interacción O/S con W, eran influyentes por lo que se eliminaron del modelo. De esta forma, y con un 95 % de confianza, se concluyó que los factores que influían en el módulo elástico eran el porcentaje de agua y su cuadrático, así como la relación O/S (figura 54.5).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

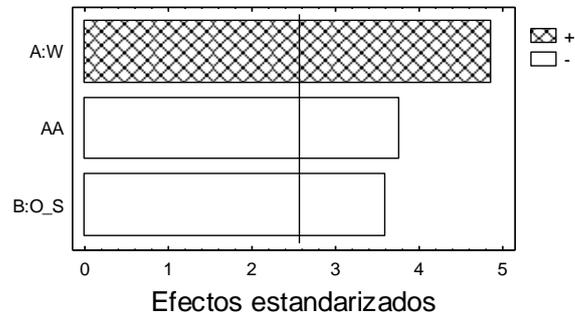


Figura 54.5. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el módulo elástico, G' , de las emulsiones, según el diseño de experimentos propuesto (Factor A: fase acuosa, Factor B: relación O/S).

Después de comprobar que los residuos del modelo no seguían ningún patrón (figura 54.6), se confirmó que el modelo utilizado era correcto.

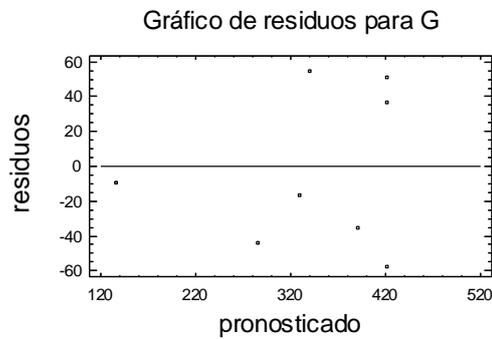


Figura 54.6. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados del módulo elástico.

Se determinó la ecuación del modelo para el módulo elástico que explicaba un 89 % de su variabilidad total (ecuación 54.2).

$$G' = -11034,5 - 268,1 FW - 28,9 O/S - 1,5 FW^2$$

Ec. 54.2

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

De forma similar al tamaño de gota, se puso de manifiesto que había un valor de porcentaje de agua a partir del cual el módulo elástico, G' , cambia de tendencia (figura 54.7). Independientemente de la relación O/S, al aumentar la concentración de agua aumenta el módulo elástico hasta un cierto valor a partir del cual, dicho módulo, disminuye ligeramente. El aumento del módulo elástico se atribuyó a la estructura más compacta de las gotas debido al aumento del porcentaje de fase acuosa, hecho que provoca un aumento en la elasticidad del sistema [Princen, 1986]. La ligera disminución del módulo elástico a porcentajes mayores de agua, se atribuyó al aumento del tamaño de gota que, como predijeron Princen y Kiss [Princen, 1986], provoca una disminución en el módulo elástico. También se observó que al aumentar la relación O/S, manteniendo el porcentaje de agua constante, el módulo elástico disminuye, posiblemente por la disminución de la concentración de tensioactivo que produce un aumento del tamaño de gota.

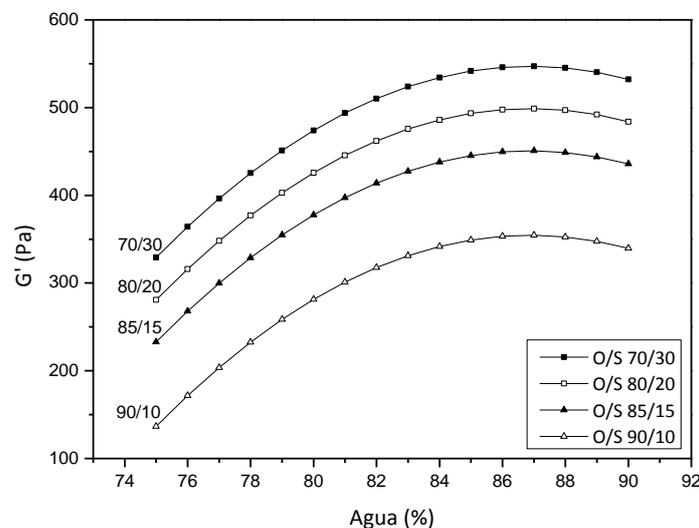


Figura 54.7. Predicción del diseño de experimentos para el módulo elástico de las emulsiones del sistema agua/Span80/aceite de parafina.

Variables de composición y del proceso de formación

Una vez comprobada la variación del tamaño de gota y del módulo elástico respecto a las variables de composición, se estudió simultáneamente la influencia de las variables de composición (relación aceite tensioactivo, O/S, y porcentaje de fase acuosa, FW) y del proceso de formación (velocidad de agitación, w , y velocidad de adición de la fase acuosa, v). Para establecer los límites, y para simplificar el estudio, se formaron emulsiones en ausencia de parabenos y propilenglicol, ya que las zonas de formación de emulsiones altamente concentradas son similares con o sin estos principios activos (sección 5.2). Así, se estudiaron las relaciones O/S 70/30, 85/15 y 90/10 y los porcentajes de fase acuosa de 75 %, 80 % y 90 %. Se seleccionaron dos velocidades de agitación, 800 rpm (porque era la velocidad mínima a la que se habían formado emulsiones en estudios previos) y 1000 rpm (porque a velocidades mayores se producían salpicaduras hacia las paredes del vaso encamisado y no se formaban emulsiones). Asimismo, para establecer los límites superiores de los factores a estudiar, la velocidad de adición de fase acuosa se fijó en 5,0 g/min., por ser la velocidad máxima según la bomba peristáltica utilizada. Los resultados obtenidos respecto a la formación de emulsiones en las condiciones experimentales mencionadas, se muestran en la tabla 54.2.

Tabla 54.2. Formación de emulsiones altamente concentradas en el sistema agua/Span80/aceite de parafina con una velocidad de adición de fase acuosa de 5,0 g/min. (O/S: relación aceite/tensioactivo; FW: porcentaje de fase acuosa; w : velocidad de agitación; EAC: emulsión altamente concentrada).

Nº	O/S	FW (%)	w (rpm)	Formación EAC
1	70/30	75	800	Sí
2		90	800	Sí
3		75	1000	Sí
4		90	1000	Sí
5	85/15	80	800	Sí
6		90	800	Sí
7		80	1000	Sí
8		90	1000	Sí
9	90/10	75	800	No
10		90	800	No
11		75	1000	No
12		90	1000	No

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Se observó que para las relaciones O/S 70/30 y 85/15, se forman emulsiones para todos los porcentajes de agua estudiados y para las dos velocidades de agitación seleccionadas (tabla 54.2: nº 1 - 8), a diferencia de la relación O/S 90/10 para la que no se forma ninguna emulsión (tabla 54.2: nº 9 - 12). Asimismo, se comprobó que las relaciones O/S 70/30 y 85/15, así como los porcentajes de fase acuosa de 80 % y 90 %, estaban dentro de la zona de formación de emulsiones altamente concentradas del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina en presencia de parabenos y propilenglicol que se había determinado previamente, adicionando el componente acuoso manualmente y con agitación vórtex. En la figura 54.8 se muestra una ampliación de dicha zona de formación (figura 52.5) y la zona seleccionada después de preparar las emulsiones con agitación y adición de fase acuosa controladas mecánicamente.

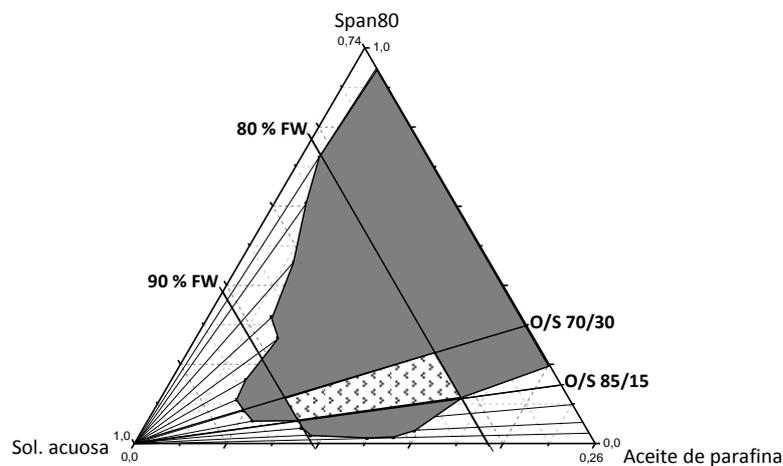


Figura 54.8. Ampliación de la zona de formación de emulsiones altamente concentradas de la figura 52.5 (zona gris) y zona seleccionada (zona punteada) para posteriores estudios.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para modelizar la formulación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en el sistema A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina (con fase acuosa formada por una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10 en una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno), se consideró inicialmente un diseño factorial con dos factores a tres niveles y dos factores a dos niveles. Las variables respuesta fueron el tamaño de gota, propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas. En la tabla 54.3 se resumen los factores a estudiar así como los límites y niveles de cada uno. Asimismo, y al igual que en el diseño anterior, otros parámetros, como el tipo de eje utilizado, su posición, el reactor utilizado, la temperatura, así como la posición del tubo de adición de fase acuosa, se mantuvieron constantes.

Tabla 54.3. Descripción de las variables de composición y formación a estudiar, sus niveles y sus límites.

Factor	Porcentaje fase acuosa	Relación aceite/tensioactivo	Velocidad de adición de la fase acuosa	Velocidad de agitación
Abreviatura	FW	O/S	v	ω
Unidades	%	--	g/min	rpm
Niveles	3	3	2	2
Nivel bajo	80	70/30 = 2,33	2,5	800
Nivel alto	90	85/15 = 5,67	5,0	1000

El diseño seleccionado implicaba la realización de 36 experimentos ($3^2 \times 2^2 = 36$ experimentos). Sin embargo, se consideró la utilización de un diseño factorial fraccionado, seleccionando los experimentos de forma adecuada para que realizando menos ensayos se pudiera establecer un modelo empírico. Por este motivo, se partió de un diseño de experimentos factorial 2^4 , en el que había 4 factores a dos niveles, y se añadieron dos factores más convirtiéndolo en un factorial fraccionado del tipo 2^{6-2} , que implicó la realización de 16 experimentos ($2^4 = 16$ experimentos). La matriz del diseño se calculó transformando la matriz del factorial 2^{6-2} (anexo A54.1.1) de forma que, con la semisuma de los factores A y B, y con la semisuma de los factores C y D, la matriz quedase con un total de 4 factores, dos de ellos a dos niveles y los otros dos a tres niveles (tabla 54.4).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Tabla 54.4. Matriz del diseño de experimentos factorial fraccionario de 4 factores, dos a tres niveles y otros dos a dos niveles, obtenido a partir de un factorial 2^{5-2} (FW: porcentaje fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de la fase acuosa y w: velocidad de agitación; A, B, C, D, E y F: factores del diseño 2^{6-2} , ver anexo 54.1.1; -1, 0, 1: nivel bajo, nivel intermedio y nivel alto).

Factores	FW	O/S	v	w
Unidades	%	--	g/min.	rpm
Niveles	3	3	2	2
Experimento	(A+B)/2	(C+D)/2	E	F
1	-1	-1	-1	-1
2	0	-1	1	-1
3	0	-1	1	1
4	1	-1	-1	1
5	-1	0	1	1
6	0	0	-1	1
7	0	0	-1	-1
8	1	0	1	-1
9	-1	0	-1	1
10	0	0	1	1
11	0	0	1	-1
12	1	0	-1	-1
13	-1	1	1	-1
14	0	1	-1	-1
15	0	1	-1	1
16	1	1	1	1

Una vez obtenida la matriz del diseño de experimentos, se modificó el orden de ejecución de los experimentos de forma aleatoria para evitar la posible influencia de errores sistemáticos. Para analizar el diseño de experimentos, se utilizó el programa Statgraphics y la matriz del diseño factorial completo ($3^2 \times 2^2$) con el objetivo de poder evaluar los posibles efectos cuadráticos. Asimismo, siempre se tuvieron en cuenta los factores principales aunque no fuesen significativos ya que se pretendía hacer un estudio comparativo. Paralelamente, y con el programa STATA se analizaron los resultados, utilizando el test de verosimilitudes ("Likelihood-ratio test"), llegando a las mismas conclusiones. En los siguientes apartados se discuten los resultados más relevantes obtenidos para cada variable respuesta así como, el proceso de optimización en la formulación de emulsiones altamente concentradas del tipo W/O en el sistema modelo.

5.4.2. Tamaño de gota

El tamaño de gota se caracterizó mediante las variables respuesta de diámetro de gota (d) e índice de polidispersidad (PDI), cuyos resultados se muestran en la tabla 54.5 (en el anexo A54.2.1, se muestran las distribuciones de tamaño a partir de las cuales se han obtenido estos datos). Aunque los resultados no seguían una distribución normal, se decidió realizar el análisis con las variables sin normalizar aplicando el teorema del límite central, ya que se comprobó que con la variable normalizada y sin normalizar se obtenían modelos similares.

Tabla 54.5. Resultados obtenidos para el tamaño de gota en los experimentos realizados del diseño factorial fraccionado 2^{6-2} (Exp.: número de experimento, FW: porcentaje fase acuosa; O/S: relación aceite/tensioactivo; v: velocidad de adición de la fase acuosa; w: velocidad de agitación; d: diámetro de gota; PDI: índice de polidispersidad).

Exp.	FW (%)	O/S ⁽¹⁾	v (g/min)	w (rpm)	d (μm)	PDI
1	85	5,67	2,5	800	0,65	2,01
2	90	5,67	5,0	1000	1,04	2,2
3	85	5,67	2,5	1000	0,89	1,81
4	80	2,33	2,5	800	0,84	1,41
5	80	4,0	2,5	1000	0,72	1,70
6	90	4,0	5,0	800	0,92	1,61
7	90	4,0	2,5	800	1,05	1,59
8	85	4,0	2,5	800	0,96	1,64
9	80	4,0	5,0	1000	0,88	1,65
10	80	5,67	5,0	800	1,12	2,00
11	90	2,33	2,5	1000	0,66	1,48
12	85	4,0	5,0	800	1,03	1,66
13	85	4,0	2,5	1000	0,73	1,80
14	85	2,33	5,0	1000	0,75	1,47
15	85	4,0	5,0	1000	0,95	1,58
16	85	2,33	5,0	800	0,95	2,49

(1) 2,33 = 70/30; 4,0 = 80/20; 5,67 = 85/15.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Se realizó un análisis de la influencia de efectos principales para el diámetro de gota (d) aplicando el test estadístico ANOVA y, con la ayuda de los diagramas de Pareto, se observó que, con un 95 % de confianza, los factores principales que influyen en el tamaño de gota son la velocidad de adición de fase acuosa, v (C), la interacción de la relación O/S (B) con la velocidad de agitación, w (D), y la velocidad de agitación (figura 54.9).

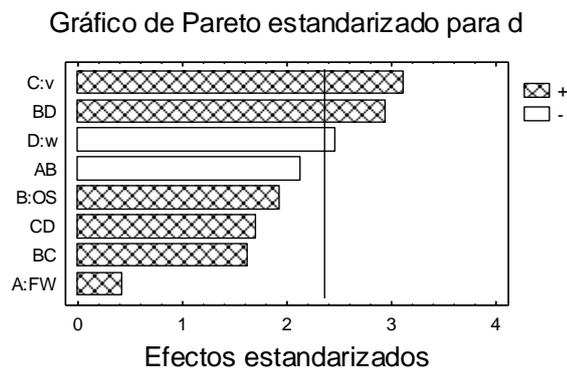


Figura 54.9. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el diámetro de gota, d , según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

En la figura 54.10, se muestran los residuos en función de los valores pronosticados por el modelo.

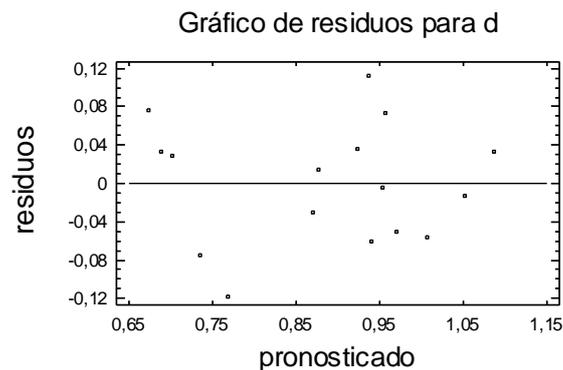


Figura 54.10. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados del diámetro de gota.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez comprobado que los residuos del modelo no seguían ningún patrón que indicase la correlación entre factores (figura 54.10), se determinó la ecuación del modelo para el diámetro de gota que describía un 82 % de su variabilidad total (ecuación 54.3).

$$d = -1,7 + 9,6x10^{-2} FW + 1,0 OS - 4,4x10^{-1} v - 6,2x10^{-3} w - \\ - 2,3x10^{-2} FW OS + 2,5x10^{-2} OS v + 9,9x10^{-4} OS w + \\ + 4,4x10^{-4} v w \quad \text{Ec. 54.3}$$

R²: 81,8

El modelo predice (figura 54.11) un aumento del tamaño de gota al aumentar el porcentaje de fase acuosa comportamiento ya descrito en la sección anterior en los resultados del diseño de experimentos central compuesto. Asimismo, se produce un aumento del tamaño al aumentar la relación O/S hecho atribuible a la disminución de la concentración de tensioactivo. También se observa un aumento de tamaño al aumentar la velocidad de adición, posiblemente porque al aumentar más rápidamente la cantidad de solución acuosa por unidad de tiempo, la formación de gotas pequeñas no es tan favorable. Sin embargo, se produce una disminución del tamaño de gota al aumentar la velocidad de agitación (figura 54.11), ya que al aumentar la velocidad, aumenta la cizalla aplicada al sistema favoreciendo la formación de gotas pequeñas.

Al analizar el efecto de la interacción significativa, correspondiente a la relación O/S con la velocidad de agitación (figura 54.12), se observa que la influencia de la agitación en el tamaño de gota es mayor a relaciones O/S pequeñas, es decir cuando la concentración de tensioactivo no es el factor limitante para la formación de dichas gotas.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

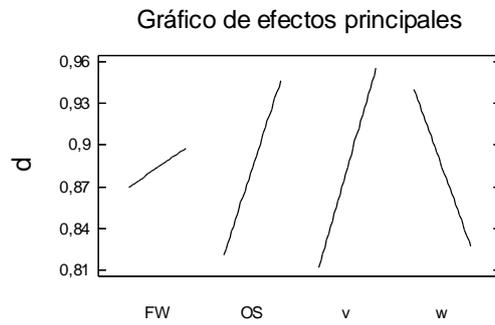


Figura 54.11. Efectos principales para el diámetro de gota (FW: porcentaje de fase acuosa, OS: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa y w: velocidad de agitación).

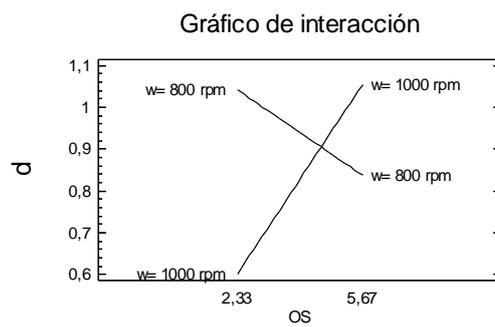


Figura 54.12. Interacción de la relación O/S con la velocidad de agitación, w (interacción BD en el gráfico de Pareto de la figura 54.9).

Se analizaron, asimismo, los resultados referentes al índice de polidispersidad (PDI) de las distribuciones de tamaño de gota y el diagrama de Pareto se muestra en la figura 54.13.

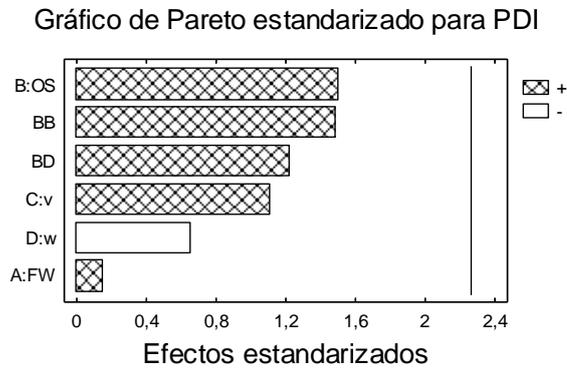


Figura 54.13. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el índice de polidispersidad, PDI, según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

No se encontraron influencias significativas de ningún factor estudiado por lo que su efecto puede asimilarse al del error experimental, pudiendo considerar que el índice de polidispersidad no varía entre las distintas emulsiones preparadas dentro de los límites seleccionados del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina.

5.4.3. Propiedades reológicas

Las propiedades reológicas se caracterizaron mediante:

- ensayos oscilatorios, determinando la deformación crítica o “critical strain” (γ_c), el “melting strain” (γ_m), el módulo elástico a 1 Hz de frecuencia (G'_{1Hz}), así como la energía de cohesión (E_c); y,
- ensayos de flujo, determinando el umbral de fluencia (σ_y).

En los anexos A54.3.1, A54.3.2 y A54.3.3, se encuentran los reogramas de los barridos de deformación, de frecuencia y los ensayos de flujo, a partir de los cuales se han obtenido los resultados que se muestran en la tabla 54.6.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Tabla 54.6. Composición y propiedades reológicas de las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O estudiadas en los experimentos del diseño factorial fraccionado 2^{6-2} (Exp.: número de experimento; FW: porcentaje fase acuosa; O/S: relación aceite/tensioactivo; v: velocidad de adición de fase acuosa; w: velocidad de agitación; γ_c : deformación crítica; γ_m : "melting strain"; G'_{1Hz} : módulo elástico a 1 Hz; E_c : energía de cohesión; σ_y : umbral de fluencia).

Exp.	FW (%)	O/S ⁽¹⁾	v (g/min)	w (rpm)	γ_c ($\times 10^{-2}$)	γ_m ($\times 10^{-1}$)	G'_{1Hz} (Pa)	E_c ($\times 10^{-2}$) (J/m ³)	σ_y (Pa)
1	85	5,67	2,5	800	2,72	3,13	328,3	12,9	10,4
2	90	5,67	5,0	1000	2,00	3,56	375,9	9,05	7,85
3	85	5,67	2,5	1000	2,43	3,11	346,8	11,2	13,3
4	80	2,33	2,5	800	1,08	3,07	388,3	2,40	9,21
5	80	4,0	2,5	1000	2,62	2,69	337,3	12,9	10,7
6	90	4,0	5,0	800	1,66	3,70	404,3	6,23	5,46
7	90	4,0	2,5	800	1,65	3,51	486,8	7,42	7,93
8	85	4,0	2,5	800	1,86	3,29	408,1	7,80	16,0
9	80	4,0	5,0	1000	2,24	2,79	327,7	8,96	11,6
10	80	5,67	5,0	800	2,42	2,51	213,8	6,95	9,70
11	90	2,33	2,5	1000	2,16	4,14	494,4	12,3	23,2
12	85	4,0	5,0	800	2,82	3,33	381,4	15,9	19,5
13	85	4,0	2,5	1000	2,24	3,28	438,0	12,4	20,5
14	85	2,33	5,0	1000	2,82	3,82	520,2	21,9	19,5
15	85	4,0	5,0	1000	2,24	3,36	387,8	10,6	17,1
16	85	2,33	5,0	800	3,16	3,78	466,7	24,8	19,3

(1) 2,33 = 70/30; 4,0 = 80/20; 5,67 = 85/15.

Deformación crítica (γ_c)

La deformación crítica o "critical strain", valor de deformación a partir del cual la muestra empieza a perder su estructura inicial, se determinó mediante ensayos oscilatorios de deformación. Al analizar mediante el test estadístico ANOVA los resultados de deformación crítica, con la ayuda de los diagramas de Pareto, se determinó con un 95 % de confianza, que el factor principal que influye en la deformación crítica es la interacción entre la relación O/S y la velocidad de adición (figura 54.14). Además de esta interacción, se consideraron los factores principales así como las interacciones indicadas en el diagrama de Pareto ya que mediante el test de verosimilitudes ("Likelihood-ratio test") se comprobó que si se descartaban dichas interacciones, el modelo ajustado variaba significativamente.

Gráfico de Pareto estandarizado para la def. crítica

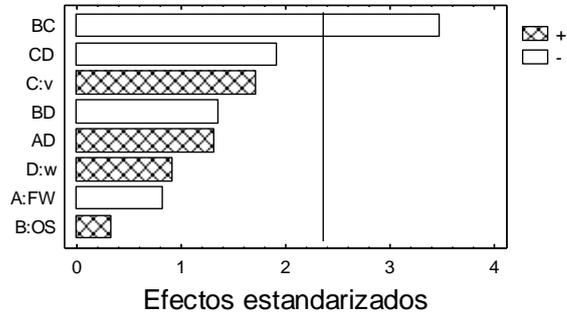


Figura 54.14. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en la deformación crítica según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Después de comprobar que los residuos del modelo no seguían ningún patrón (figura 54.15), se describió la ecuación del modelo (ecuación 54.4) que explica un 76 % de la variabilidad total de la deformación crítica.

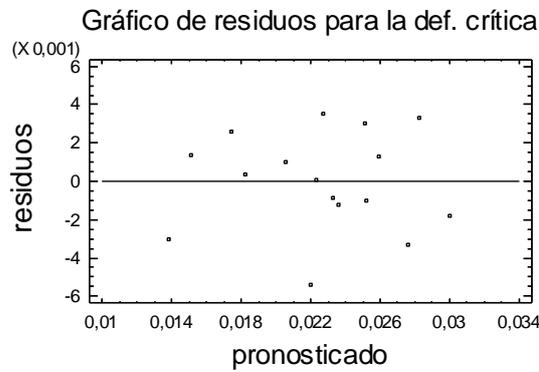


Figura 54.15. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados de la deformación crítica.

$$\begin{aligned}
 \gamma_c = & 2,14x10^{-1} - 3,90x10^{-3} FW + 1,96x10^{-2} OS + 2,46x10^{-2} v - \\
 & - 2,41x10^{-4} w + 4,09x10^{-6} FW w - 2,57x10^{-3} OS v - \\
 & - 1,08x10^{-5} OS w - 1,45x10^{-5} v w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.4}$$

R²: 76,2

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Mediante el gráfico de efectos principales (figura 54.16), se puso de manifiesto que la deformación crítica aumenta con la relación O/S, con la velocidad de adición y la velocidad de agitación, y, por el contrario, disminuye al aumentar el porcentaje de fase acuosa. Al aumentar la concentración de fase acuosa, como se ha mencionado anteriormente, inicialmente el tamaño de gota disminuye hasta llegar a una concentración de fase acuosa a partir de la cual, el tamaño de gota aumenta (figura 54.4). La disminución de la deformación crítica debida al aumento de fase acuosa, se podría atribuir a que predomina el efecto del aumento de tamaño. Es decir, al aumentar la fase acuosa aumenta el tamaño de gota y disminuye la fase continua, la estructura es más frágil y por lo tanto, menos elástica. Sin embargo, el factor más influyente en este modelo es la interacción de la relación O/S con la velocidad de adición de fase acuosa (figura 54.17). Se observó que a velocidades de adición bajas la relación O/S favorece la deformación crítica mientras que a velocidades de adición altas, la relación O/S produce el efecto contrario.

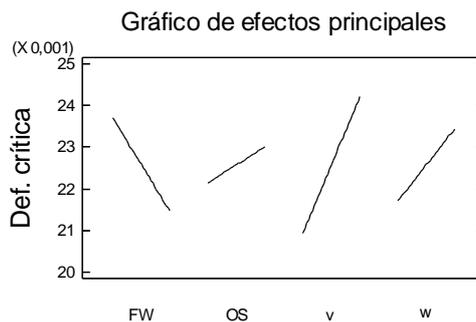


Figura 54.16. Efectos principales para la deformación crítica (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

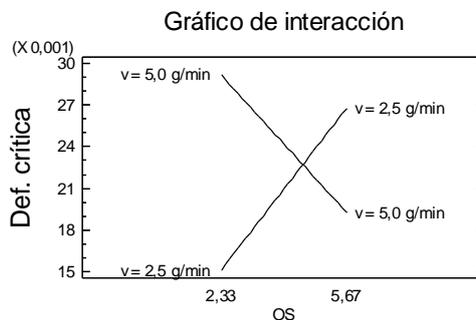


Figura 54.17. Interacción de la relación O/S con la velocidad de adición, v (interacción BC en el gráfico de Pareto de la figura 54.14).

“Melting strain” (MS o γ_m)

El “melting strain” se determinó mediante ensayos oscilatorios de deformación, y es un valor de deformación que está situado fuera de la zona de viscoelasticidad lineal, por lo que es difícil la aplicación de modelos matemáticos y su interpretación. Sin embargo, algunos autores consideran que en dicho valor de deformación, la muestra ha perdido totalmente su estructura [Saiki, 2008; Tadros, 2010, 2013]. Por ello, se consideró este valor como una referencia orientativa de la deformación a partir de la cual la emulsión había perdido su estructura inicial. Al aplicar el test estadístico ANOVA y los diagramas de Pareto a los resultados de “melting strain”, se observó, con un 95 % de confianza, que los factores principales que influyen en su variabilidad son el porcentaje de fase acuosa, la relación O/S, la interacción de la fase acuosa con la velocidad de agitación, la interacción de O/S con la velocidad de adición, la velocidad de adición y la de agitación (figura 54.18).

Gráfico de Pareto estandarizado para el MS

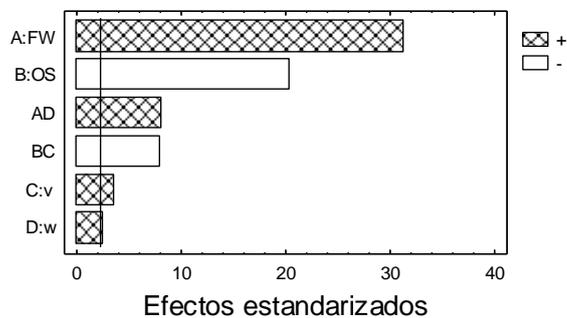


Figura 54.18. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el “melting strain” (MS) según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Se comprobó que los residuos no presentasen ningún patrón (figura 54.19) y se describió la ecuación que explicaba un 99 % de la variabilidad total del “melting strain” (ecuación 54.5).

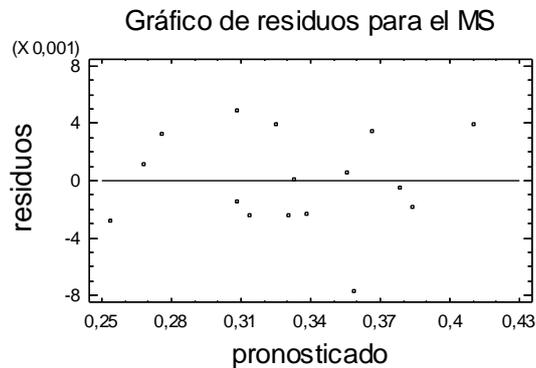


Figura 54.19. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados del “melting strain” (MS).

$$\gamma_m = 1,67 - 1,65 \times 10^{-2} FW + 6,89 \times 10^{-3} OS + 3,05 \times 10^{-2} v - 2,44 \times 10^{-3} w + 2,90 \times 10^{-5} FW w - 6,83 \times 10^{-3} OS v$$

Ec. 54.5

R²: 99,4

El “melting strain” aumenta con el porcentaje de fase acuosa de manera más intensa cuanto mayor es la velocidad de agitación (figuras 54.20 y 54.21), y por el contrario, disminuye al aumentar la relación O/S, también de manera más intensa al aumentar la velocidad de adición de la fase acuosa. El aumento en la compactación de las gotas al aumentar la fase acuosa, provocaría un aumento en las propiedades elásticas, y haría que la estructura de las emulsiones se recupere mejor después de aplicar una deformación provocando un aumento del “melting strain”. Por el contrario, el aumento de la relación O/S provoca una disminución del “melting strain”, posiblemente por la disminución en la concentración de tensioactivo que produciría una menor estabilización de la interfase. En general, el aumento de la velocidad de adición de fase acuosa y la de agitación también producen un aumento en el “melting strain”, aunque de los cuatro efectos principales, son los que menos influencia presentan en el modelo.



Figura 54.20. Efectos principales para el “melting strain”, MS (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

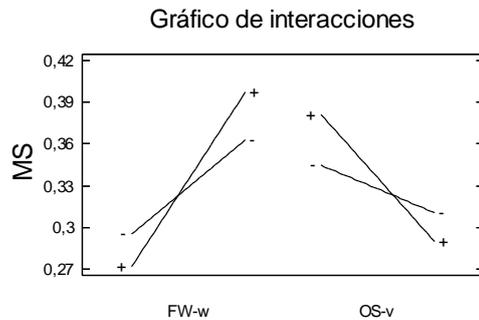


Figura 54.21. Interacciones de la fase acuosa con la velocidad de agitación, w, y de la relación O/S con la velocidad de adición, v, (interacciones AD y BC, respectivamente, en el gráfico de Pareto de la figura 54.18).

Módulo elástico (G')

El módulo elástico se determinó a partir de ensayos oscilatorios de frecuencia. Se realizó un análisis de la influencia de efectos principales para los resultados del módulo elástico aplicando el test estadístico ANOVA y, con la ayuda de los diagramas de Pareto, se observó que, con un 95 % de confianza, los factores principales que influyen en su variación son la relación O/S, el porcentaje de fase acuosa y la interacción entre O/S y la velocidad de adición (figura 54.22). Sin embargo, también se tuvieron en cuenta otros factores que estaban cerca del límite de significación en los test estadísticos como la interacción de la fase acuosa y la relación O/S, así como con la velocidad de adición, la velocidad de agitación y la interacción de la fase acuosa con la velocidad de adición.

Gráfico de Pareto estandarizado para G'

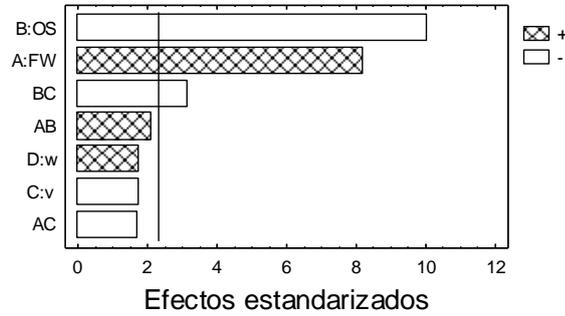


Figura 54.22. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el módulo elástico, G' , según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Después de comprobar el modelo mediante la representación de los residuos (figura 54.23), se describió la ecuación del modelo que explicaba un 96 % de la variación del módulo elástico (ecuación 54.6).

Gráfico de residuos para G'

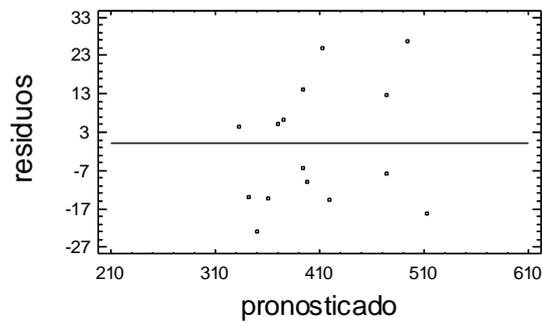


Figura 54.23. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados del módulo elástico, G' .

$$G' = -319,5 + 7,9FW - 330,6 OS + 285,8 v + 9,4x10^{-2} w + 3,9 FW OS - 2,9FW v - 11,4 OS v$$

$R^2: 95,9$

Ec. 54.6

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 54.24 y 54.25, se muestran efectos principales y sus interacciones, respectivamente.

El aumento del módulo elástico con la fase acuosa (figura 54.24) se atribuyó a la distribución más compacta de las gotas al aumentar la fase acuosa, provocando un aumento en las propiedades elásticas de la emulsión. También se observó que un aumento en la velocidad de agitación provoca un aumento en el módulo elástico (figura 54.24), posiblemente debido a la disminución del tamaño de gota. Sin embargo, el aumento en la relación O/S produce una disminución en el módulo elástico, que se atribuyó a la disminución en la concentración de tensioactivo presente en la interfase. Asimismo, el módulo elástico disminuye con la velocidad de adición de fase acuosa, como se ha comentado anteriormente, se podría atribuir a la mayor dificultad para que se formen gotas pequeñas cuando la cantidad de solución acuosa por unidad de tiempo aumenta, por lo que aumenta el tamaño de gota.

Asimismo, se puso de manifiesto que para relaciones O/S bajas se obtienen módulos elásticos elevados, si bien la variación atribuible al incremento de la fase acuosa es moderado (figura 54.25). Por el contrario, relaciones O/S elevadas conducen a módulos elásticos menores, aunque están mucho más afectados por el incremento de la fase acuosa. La velocidad de adición favorece la disminución del módulo elástico producida por el aumento de la relación O/S, mientras que disminuye el efecto positivo del incremento de la fase acuosa en la variación del módulo.

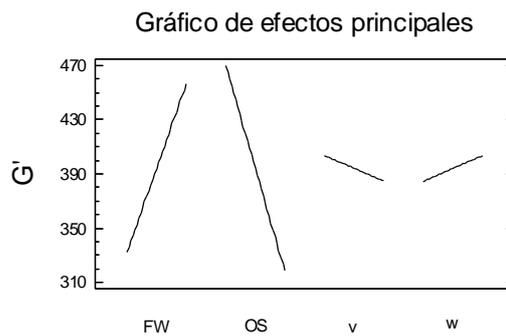


Figura 54.24. Efectos principales para el módulo elástico, G' (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

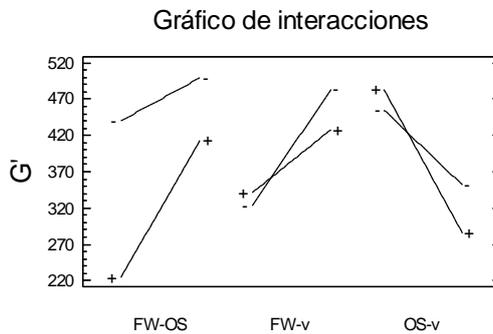


Figura 54.25. Interacciones fase acuosa con relación O/S, fase acuosa con velocidad de adición y relación O/S con velocidad de adición (interacciones AB, AC y BC, respectivamente, en el gráfico de Pareto de la figura 54.22).

Energía de cohesión (Ec)

Se ha descrito que la estabilidad de emulsiones altamente concentradas se puede evaluar mediante la energía de cohesión: cuanto mayor es la energía de cohesión entre las gotas de la emulsión, mayor estabilidad [Ramsay, 1986; Sohm, 1989; Tadros, 1990]. Por ello, se calculó la energía de cohesión para las emulsiones preparadas en el diseño de experimentos factorial y se realizó un análisis de la influencia de los factores principales aplicando el test estadístico ANOVA. Con la ayuda del diagrama de Pareto, se observó que, con un 95 % de confianza, el factor principal que influye en la energía de cohesión es la interacción entre la relación O/S y la velocidad de adición de fase acuosa (figura 54.26).

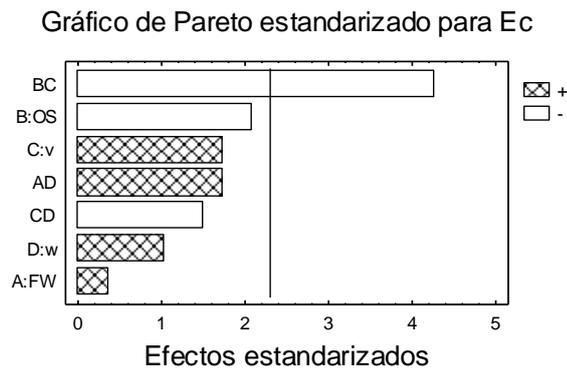


Figura 54.26. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en la energía de cohesión, Ec, según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se comprobó que los residuos del modelo no siguieran ningún patrón que indicase la correlación entre factores (figura 54.27) y se determinó la ecuación del modelo para el diámetro de gota que describía un 79 % de su variabilidad total (ecuación 54.7).

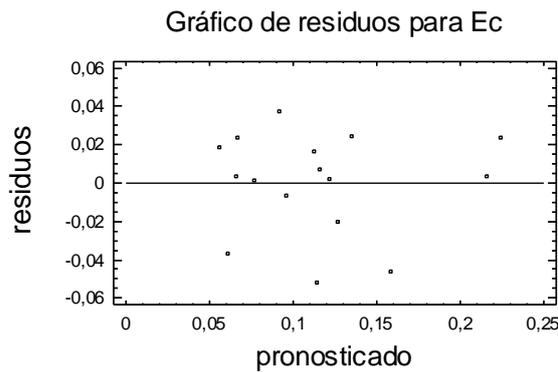


Figura 54.27. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados de la energía de cohesión.

$$\begin{aligned}
 Ec = & 3,04 - 4,48 \times 10^{-2} FW + 9,69 \times 10^{-2} OS + 2,30 \times 10^{-1} v - \\
 & - 3,82 \times 10^{-3} w + 5,08 \times 10^{-5} FW w - 3,01 \times 10^{-2} OS v - \\
 & - 1,08 \times 10^{-4} v w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.7}$$

R²: 78,5

El modelo predice la variación de la energía de cohesión al variar el porcentaje de fase acuosa, su velocidad de adición, la velocidad de agitación y la relación O/S (figuras 54.28 y 54.29). El ligero aumento de la energía de cohesión debido al aumento de fase acuosa, podría atribuirse al aumento en la compactación de las gotas. La variación de la energía de cohesión con la relación O/S (figura 54.29) depende de la velocidad de adición. A velocidades bajas el aumento de O/S mejora la energía de cohesión, mientras que a velocidades elevadas el incremento de O/S provoca la disminución de la energía de cohesión que podría justificarse por la disminución de la concentración de tensioactivo. El efecto provocado por la velocidad de adición, podría explicarse por el aumento de la viscosidad que se produciría al aumentar la concentración de fase acuosa por unidad de tiempo. Por ello, se produciría un aumento en el valor de la energía a aplicar para deformar la estructura de la emulsión, indicación de que

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

la energía de cohesión sería más elevada. El aumento en la velocidad de agitación, provoca la disminución del tamaño de gota de la emulsión y, en consecuencia, una compactación de las gotas, lo que podría provocar que aumente la energía de cohesión.

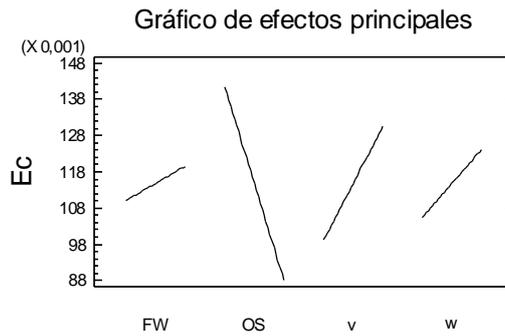


Figura 54.28. Efectos principales para la energía de cohesión (Ec: energía de cohesión, FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

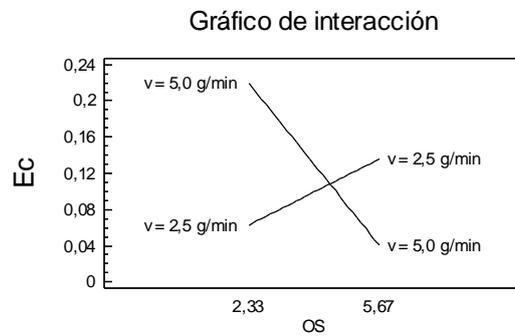


Figura 54.29. Interacción relación O/S con velocidad de adición (interacción BC en el gráfico de Pareto de la figura 54.26).

Umbral de fluencia (σ_y)

El umbral de fluencia se determinó mediante ensayos de flujo. Los principales factores que influyen en el modelo que describe la variación del umbral de fluencia son el factor O/S, el cuadrático de la fase acuosa, la interacción de la fase acuosa con la velocidad de adición, la velocidad de agitación, la interacción de la velocidad de adición y la de agitación (figura 54.30).

Gráfico de Pareto estandarizado para el umbral de fluencia

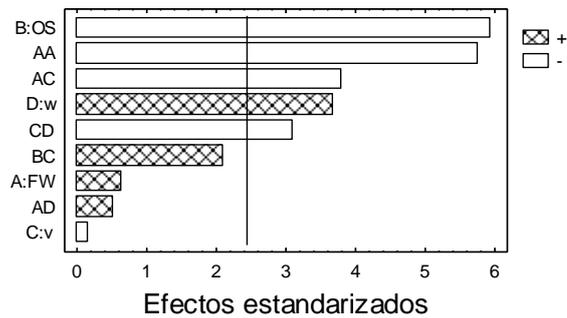


Figura 54.30. Diagrama de Pareto para los factores influyentes en el umbral de fluencia según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Después de comprobar que los residuos no siguiesen ningún patrón (figura 54.31) se describió la ecuación del modelo obtenido para el umbral de fluencia, la cual explicaba un 96 % de su variabilidad total (ecuación 54.8).

Gráfico de residuos para el umbral de fluencia

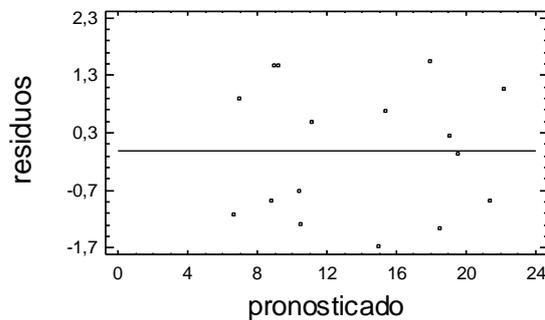


Figura 54.31. Residuos del modelo respecto a los valores pronosticados del umbral de fluencia.

$$\begin{aligned} \sigma_y = & -2634,8 + 61,2 FW - 7,0 OS + 37,4 v - 2,0x10^{-2} w - \\ & - 3,6x10^{-1} FW FW - 3,8x10^{-1} FW v + 9,1x10^{-4} FW w + \\ & + 1,3 OS v - 1,1x10^{-2} v w \end{aligned} \quad \text{Ec. 54.8}$$

R²: 95,7

El modelo indica que se produce un máximo en el umbral de fluencia para valores intermedios del porcentaje de fase acuosa, y que al alejarse de dichos valores se produce una disminución (figuras 54.32 y 54.33). Este hecho se podría relacionar con el empaquetamiento compacto de las gotas de agua a medida que aumenta la concentración de fase acuosa. Además, el valor crítico de fase acuosa que predice este modelo, podría estar relacionado con los resultados obtenidos en el primer diseño de experimentos, en el que el tamaño de gota disminuía al aumentar la fase acuosa hasta llegar a un valor crítico a partir del cual aumentaba (figura 54.4). Por otro lado, se observó que al aumentar la relación O/S disminuye el umbral de fluencia (figura 54.32), si bien este efecto disminuye con la velocidad de adición (figura 54.33), todo ello posiblemente como consecuencia de la disminución del tensioactivo en la interfase y el aumento de la tensión interfacial entre componente acuoso y oleoso. Asimismo, se puso de manifiesto que la velocidad de adición de fase acuosa puede hacer aumentar o disminuir el umbral de fluencia según si la velocidad de agitación es pequeña o elevada (figura 54.33). Por el contrario, al aumentar la velocidad de agitación se produce un aumento del umbral fluencia (figura 54.32) posiblemente por la formación de gotas pequeñas y su distribución de forma compacta. Asimismo, en la interacción de la velocidad de adición con la de agitación (figura 54.33), se pone de manifiesto que la influencia que ejerce la velocidad de agitación en el umbral de fluencia de las emulsiones, es más pronunciado para velocidades de adición cercanas a 2,5 g/min.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

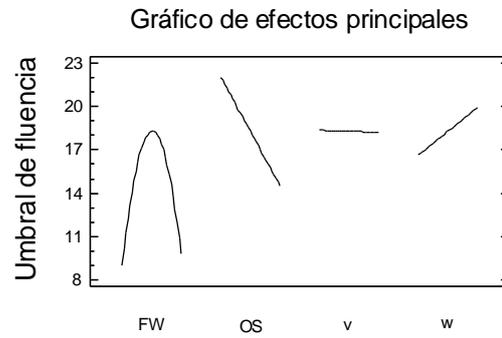


Figura 54.32. Efectos principales para el umbral de fluencia (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

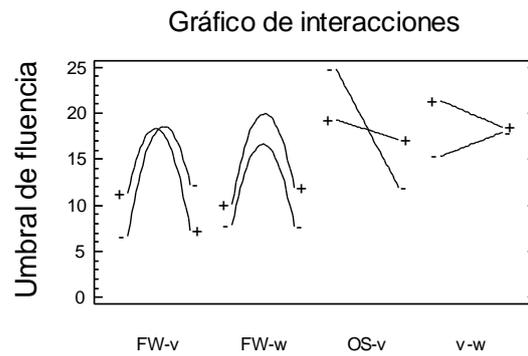


Figura 54.33. Interacciones del porcentaje de fase acuosa (FW) con la velocidad de adición (v), porcentaje de fase acuosa con la velocidad de agitación (w), relación O/S con la velocidad de adición y velocidad de adición con la velocidad de agitación (interacciones AC, AD, BC y CD en el gráfico de Pareto de la figura 54.30).

5.4.4. Liberación de moléculas a soluciones receptoras

Se estudió la liberación simultánea de los tres parabenos desde emulsiones altamente concentradas a una solución receptora haciendo un seguimiento del porcentaje liberado mediante HPLC. El estudio de liberación se realizó utilizando una solución de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP), en agua/propilenglicol 90/10 en una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno, como componente acuoso de las emulsiones altamente concentradas del sistema modelo. Las curvas de liberación se muestran en el anexo A54.4.1 y en la tabla 54.7, se muestran las concentraciones, de cada parabeno, liberadas al cabo de 4, 8, 24 y 30 horas (las condiciones de cada experimento del diseño, son las mismas que las descritas en las tablas 54.5 y 54.6). A continuación, se analizan los modelos de liberación obtenidos para cada principio activo.

Tabla 54.7. Resultados de liberación de moléculas activas desde emulsiones altamente concentradas de los experimentos realizados del diseño factorial fraccionado 2^{6-2} (Exp.: número de experimento, MeP: metilparabeno; EtP: etilparabeno; PrP: propilparabeno).

Exp. (1)	Concentraciones liberadas (%)											
	4h			8h			24h			30h		
	MeP	EtP	PrP	MeP	EtP	PrP	MeP	EtP	PrP	MeP	EtP	PrP
1	50,1	35,5	17,4	70,9	55,1	32,4	92,5	79,7	58,1	94,9	83,0	63,0
2	53,9	39,6	21,3	73,7	60,0	38,6	90,1	80,3	63,6	92,1	83,4	69,3
3	53,5	38,7	20,2	74,3	58,9	36,1	93,6	82,2	63,3	93,7	83,2	65,8
4	33,5	20,9	8,4	52,6	36,8	17,7	80,1	65,0	38,1	84,2	70,2	42,9
5	44,9	30,6	14,6	64,4	47,8	26,4	88,9	73,7	48,6	92,2	77,7	53,4
6	48,1	36,8	19,6	66,3	55,1	34,0	86,0	78,6	60,6	88,8	83,2	65,3
7	46,1	34,0	16,5	66,2	54,1	31,3	86,6	80,0	59,4	90,6	84,4	65,2
8	46,0	32,9	15,1	64,7	51,2	27,6	84,4	75,3	50,9	87,0	78,6	55,3
9	40,5	27,2	12,9	58,7	43,3	24,1	83,1	69,6	47,7	87,2	74,6	53,7
10	39,0	26,3	12,1	57,9	43,6	24,0	81,3	69,7	49,1	81,7	71,2	52,1
11	31,9	21,9	10,4	48,2	36,2	19,7	69,7	59,0	39,7	73,1	62,8	43,7
12	47,2	33,4	17,3	65,6	49,8	29,8	85,3	72,2	52,8	88,1	75,3	56,9
13	42,4	31,1	15,2	60,8	48,3	27,3	83,6	74,6	52,2	85,7	77,5	56
14	34,7	22,6	10,6	52,9	37,7	20,1	78,9	64,0	41,6	82,3	68,4	46,4
15	44,0	31,6	14,8	62,0	50,1	28,4	82,6	76,2	54,0	86,8	80,1	57,7
16	36,4	24,2	10,6	52,5	38,7	19,9	76,4	65,1	42,0	80,7	70,2	46,6

(1) Las condiciones de cada experimento son las mismas que las de las tablas 54.5 y 54.6.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Metilparabeno

Al analizar la influencia de los factores de composición y formación en la liberación del metilparabeno, se observó que la relación O/S influye significativamente durante todo el proceso de liberación junto con la interacción de la fase acuosa con la velocidad de agitación (figura 54.34). Asimismo, la fase acuosa influye durante las primeras 8 horas, la interacción de la fase acuosa con la relación O/S a partir de 8 horas, y la velocidad de adición a partir de las 24 horas (en el anexo A54.4.2, se muestra una tabla con los valores de significación).

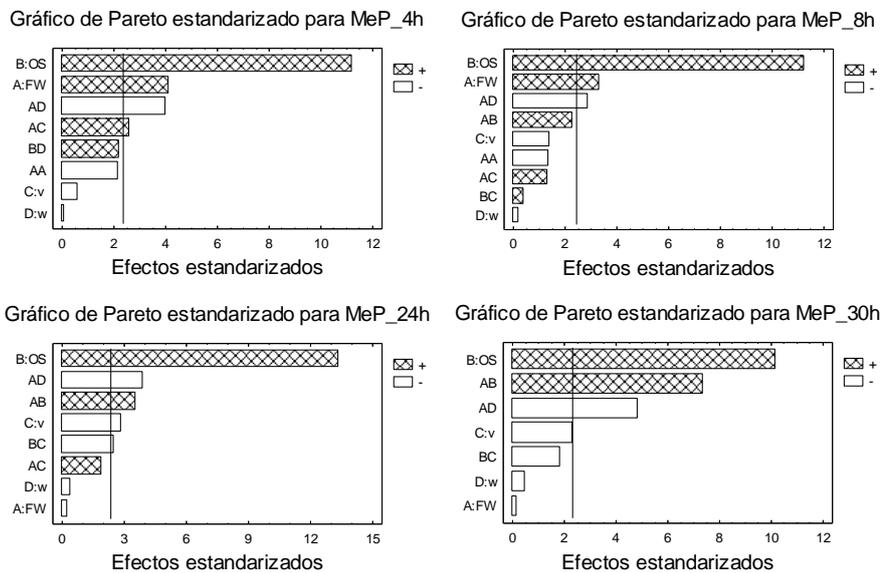


Figura 54.34. Diagramas de Pareto para los factores influyentes en la liberación de metilparabeno (MeP) a 4, 8, 24 y 30 horas, según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Puesto que los residuos de los modelos no seguían ningún patrón (figura 54.35) se describieron las ecuaciones por las que se regían (ecuaciones 54.9 – 54.12).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

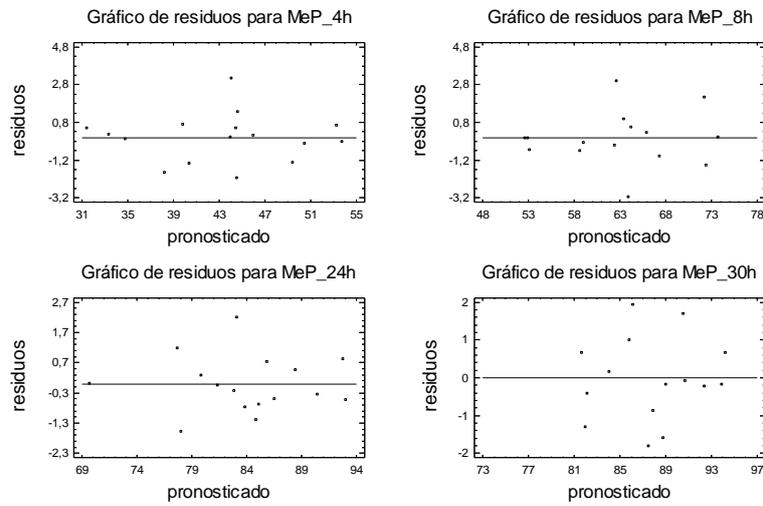


Figura 54.35. Residuos de los modelos respecto a los valores pronosticados para la liberación de metilparabeno (MeP) a 4, 8, 24 y 30 horas.

$$\begin{aligned}
 MeP_{4h} = & -881,3 + 18,1FW - 4,6 OS - 27,6 v + 4,1x10^{-1} w - \\
 & - 8,2x10^{-2} FW FW + 3,2x10^{-1}FW v - 5,3x10^{-3}FW w + \\
 & + 1,0x10^{-2} OS w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.9}$$

R²: 96,4

$$\begin{aligned}
 MeP_{8h} = & -1011,8 + 21,3FW - 32,5 OS - 21,5 v + 5,4x10^{-1} w - \\
 & - 1,0x10^{-1} FW FW + 4,3x10^{-1}FW OS + 2,3x10^{-1}FW v - \\
 & - 6,4x10^{-3}FW w + 3,0x10^{-1} OS v
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.10}$$

R²: 96,8

$$\begin{aligned}
 MeP_{24h} = & -66,4 + 1,5FW - 29,1 OS - 15,7 v + 3,8x10^{-1} w + \\
 & + 4,2x10^{-1}FW OS + 2,1x10^{-1}FW v - 4,4x10^{-3}FW w - \\
 & - 6,8x10^{-1} OS v
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.11}$$

R²: 97,6

$$\begin{aligned}
 MeP_{30h} = & -153,4 + 2,6FW - 49,7 OS + 1,4 v + 4,9x10^{-1} w + \\
 & + 6,4x10^{-1}FW OS - 5,8x10^{-3}FW w - 5,3x10^{-1} OS v
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.12}$$

R²: 96,3

En la figura 54.36, se muestran los gráficos de efectos principales así como las interacciones para la liberación de metilparabeno en función del tiempo. Los efectos principales influyen de igual forma en la liberación del metilparabeno durante 30 horas, a excepción del porcentaje de fase acuosa, que a 4 y 8 horas

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

aumenta la liberación hasta alcanzar un máximo a partir del cual, se observa una ligera disminución, y a 24 y 30 horas prácticamente no influye (figura 54.36). El aumento inicial de la liberación al aumentar el porcentaje de fase acuosa, sería atribuible al aumento de moléculas de parabeno presentes en la emulsión, ya que favorecería la difusión desde la emulsión hasta la solución receptora. Sin embargo, tanto a 24 como a 30 horas, el porcentaje de fase acuosa prácticamente no modifica la liberación del metilparabeno posiblemente porque se esté más cerca de alcanzar el valor de liberación máxima o “plateau” (gráficos de liberación en anexo A54.4.1).

También se observó un aumento en la liberación del metilparabeno al aumentar la relación O/S, siendo éste el efecto más significativo durante todo el proceso de liberación. Este hecho se podría justificar porque al aumentar la relación O/S disminuye la concentración de tensioactivo, por lo que el film interfacial sería menos rígido, lo que facilitaría el proceso de difusión de la molécula de parabeno desde el interior de la gota a la fase continua de la emulsión.

Asimismo, se puso de manifiesto que la liberación disminuía ligeramente al aumentar la velocidad de adición de fase acuosa. Al aumentar la velocidad de adición de fase acuosa, como se ha mencionado anteriormente, aumenta el tamaño de gota y en consecuencia disminuye la rigidez del film interfacial. Por ello, se esperaría que la liberación aumentase y sin embargo se observa una ligera disminución. Posiblemente, se podría atribuir a que, como ya aparece descrito en la literatura [Rocca, 1998], las gotas grandes podrían actuar como un “almacén” de moléculas activas disminuyendo así su liberación.

Al aumentar la velocidad de agitación, se ha visto previamente, que se producía una disminución en el tamaño de gota implicando un aumento en la compactación de la estructura de la emulsión. Este hecho, podría provocar que la interfase fuese más rígida y que la difusión de la molécula a través de dicha interfase fuese más lenta, explicando así la ligera disminución en su liberación.

Las interacciones de la fase acuosa con la velocidad de agitación (FW-w), junto con la interacción fase acuosa con la relación O/S (FW-OS), son las interacciones más influyentes durante todo el proceso (figura 54.36). Durante el proceso de liberación, a valores bajos de velocidad de agitación, la liberación del metilparabeno está favorecida al aumentar la fase acuosa, excepto a las 8 horas que se observa el efecto contrario. Asimismo, para valores altos de O/S, la liberación de metilparabeno está favorecida al aumentar la fase acuosa.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

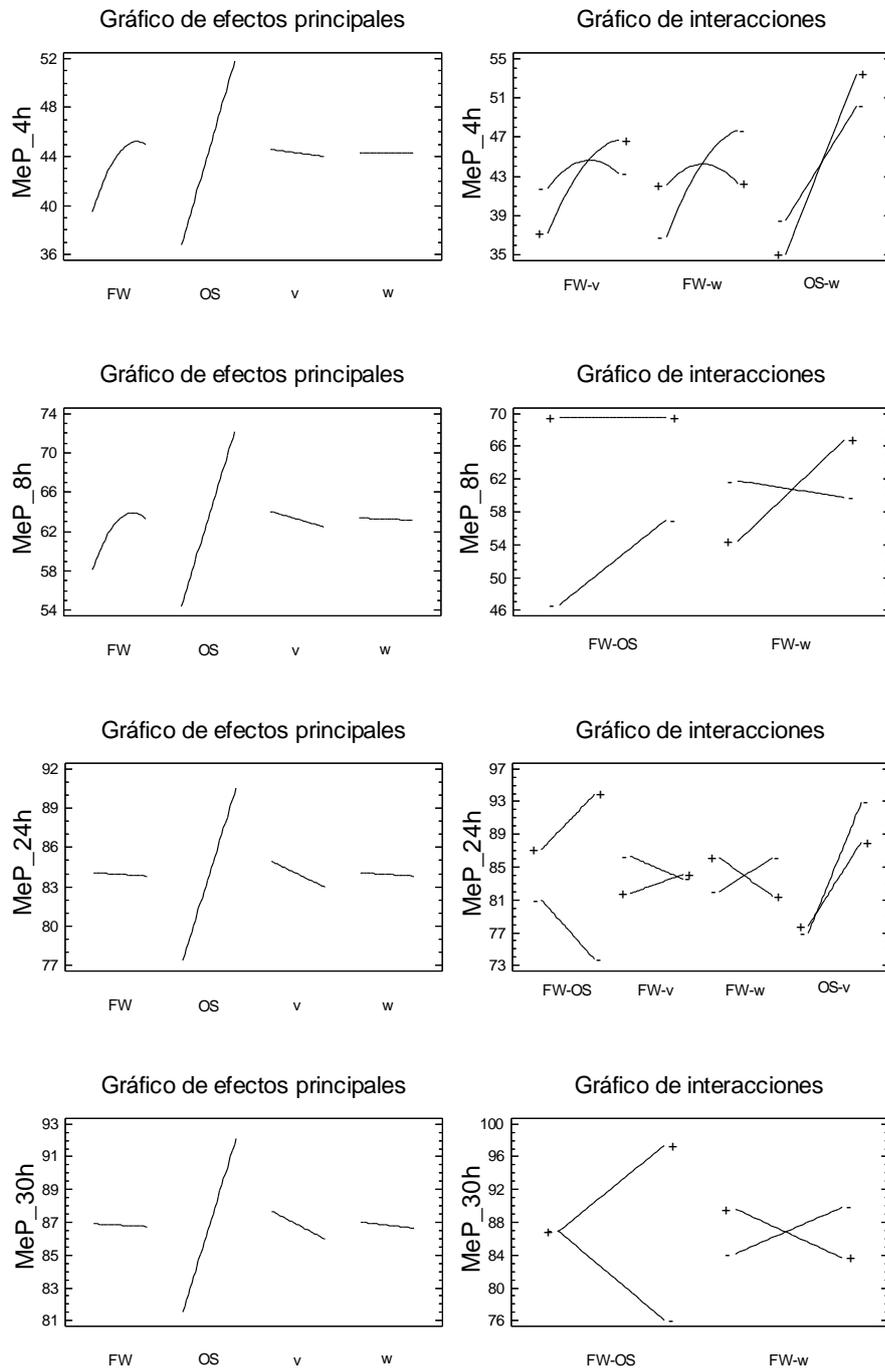


Figura 54.36. Efectos principales e interacciones para el metilparabeno (MeP) liberado a 4, 8, 24 y 30 horas (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etilparabeno

Al igual que para el metilparabeno, se analizó la influencia de los factores principales en la liberación del etilparabeno a 4, 8, 24 y 30 horas, observando que la relación O/S y el porcentaje de fase acuosa son los factores principales que influyen significativamente durante todo el proceso de liberación (figura 54.37). Asimismo, la interacción de la fase acuosa con la velocidad de agitación influye de forma significativa durante las 30 horas (en el anexo A54.4.3, se muestra una tabla con los valores de significación).

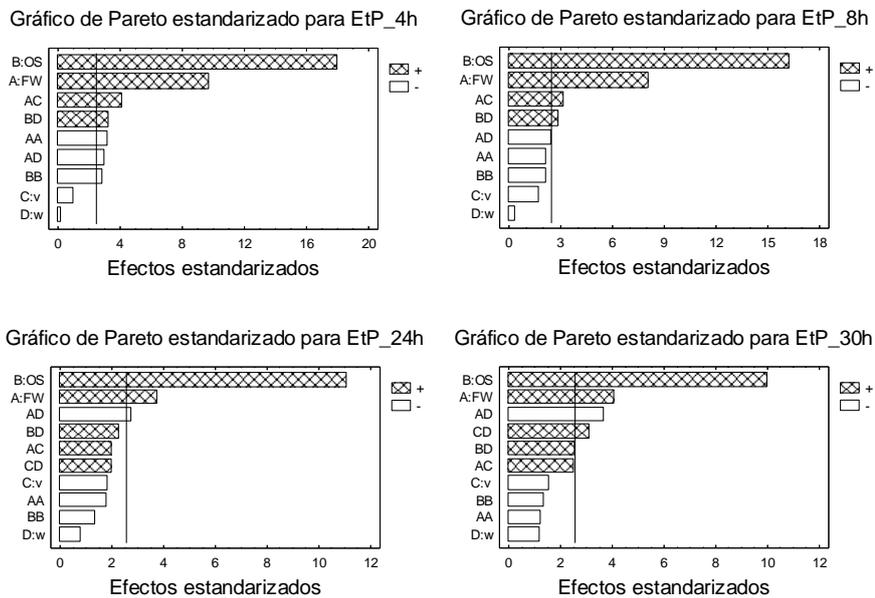


Figura 54.37. Diagramas de Pareto para los factores influyentes en la liberación de etilparabeno (EtP) a 4, 8, 24 y 30 horas, según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Se confirmó que los modelos eran adecuados para explicar la liberación del etilparabeno, ya que los residuos de dichos modelos no seguían ningún patrón (figura 54.38), y se describieron las ecuaciones (ecuaciones 54.13 – 54.16).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

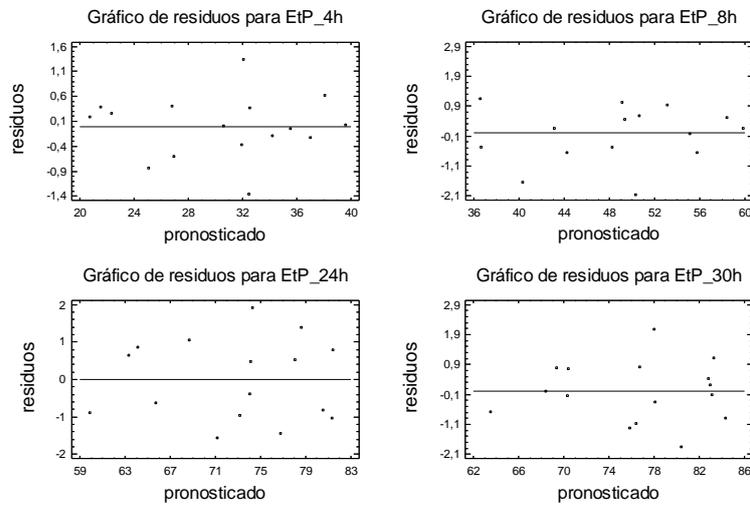


Figura 54.38. Residuos de los modelos respecto a los valores pronosticados para la liberación de etilparabeno a 4, 8, 24 y 30 horas.

$$\begin{aligned}
 EtP_{4h} = & -623,5 + 13,1 FW + 2,5 OS - 22,8 v + 2,2x10^{-1} w - \\
 & - 6,3x10^{-2} FW FW + 2,7x10^{-1} FW v - 3,0x10^{-3} FW w - \\
 & - 7,2x10^{-1} OS OS + 7,8x10^{-3} OS w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.13}$$

R²: 98,9

$$\begin{aligned}
 EtP_{8h} = & -665,7 + 14,0 FW + 2,1 OS - 26,7 v + 2,7x10^{-1} w - \\
 & - 6,5x10^{-2} FW FW + 3,1x10^{-1} FW v - 3,7x10^{-3} FW w - \\
 & - 8,1x10^{-1} OS OS + 1,1x10^{-2} OS w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.14}$$

R²: 98,6

$$\begin{aligned}
 EtP_{24h} = & -727,7 + 15,6 FW + 1,7x10^{-1} OS - 28,3 v + \\
 & + 3,6x10^{-1} w - 6,7x10^{-2} FW FW + 2,5x10^{-1} FW v - \\
 & - 5,2x10^{-3} FW w - 6,5x10^{-1} OS OS + 1,1x10^{-2} OS w + \\
 & + 7,5x10^{-3} v w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.15}$$

R²: 97,5

$$\begin{aligned}
 EtP_{30h} = & -621,2 + 12,6 FW - 1,3 OS - 34,6 v + 4,5x10^{-1} w - \\
 & - 4,4x10^{-2} FW FW + 2,9x10^{-1} FW v - 6,4x10^{-3} FW w - \\
 & - 6,0x10^{-1} OS OS + 1,1x10^{-2} OS w + 1,1x10^{-2} v w
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 54.16}$$

R²: 97,6

En la figura 54.39, se muestran los gráficos de efectos principales así como las interacciones para la liberación de etilparabeno en función del tiempo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

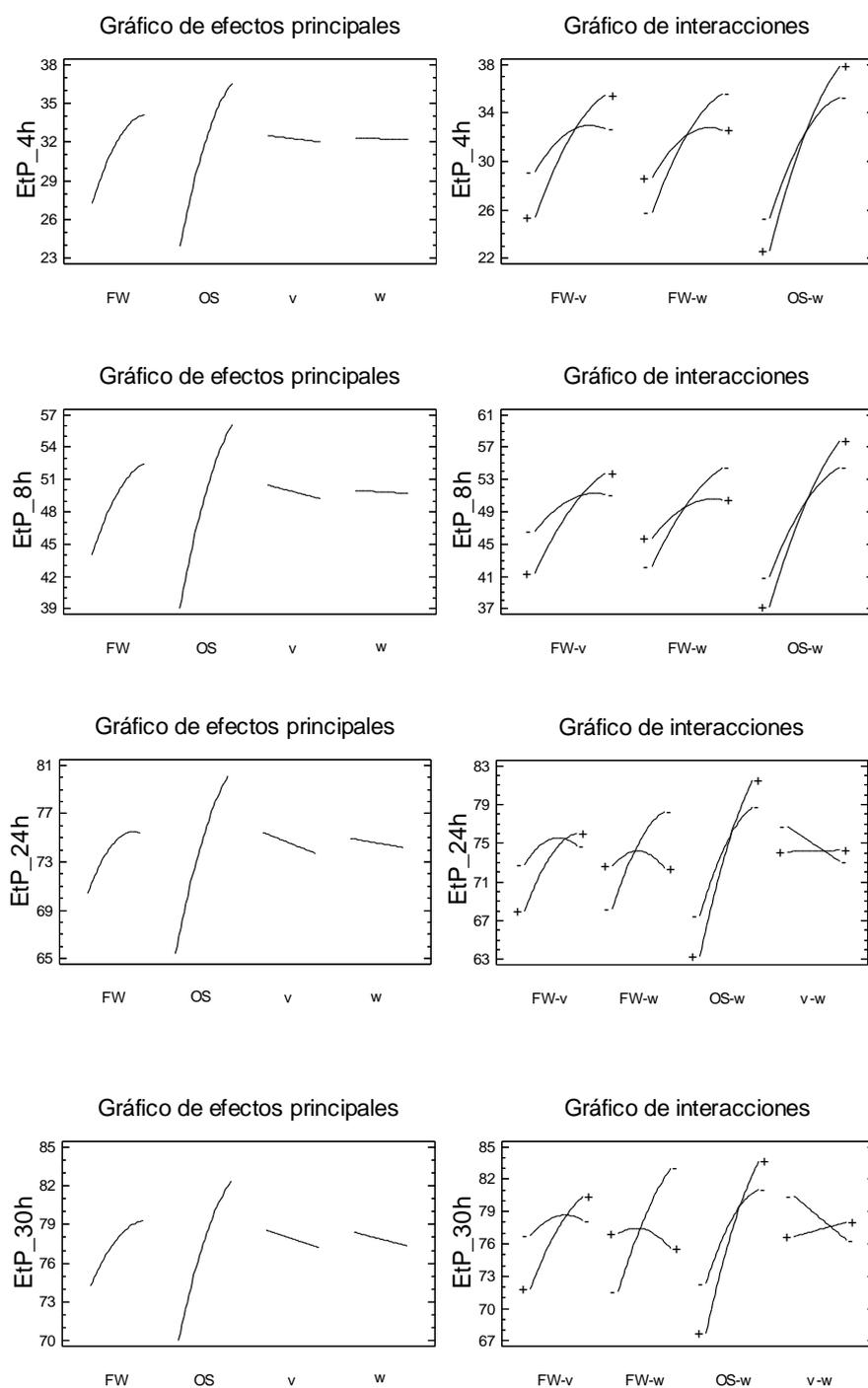


Figura 54.39. Efectos principales e interacciones para el etilparabeno (EtP) liberado a 4, 8, 24 y 30 horas (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

En la figura 54.39, se observa que la liberación del etilparabeno aumenta con la fase acuosa y la relación O/S, y disminuye con la velocidad de adición de fase acuosa y la velocidad de agitación. El comportamiento es similar al del metilparabeno (figura 54.36), excepto que con el etilparabeno no hay diferencias en los efectos de los factores principales durante toda la liberación. Este hecho podría ser debido a que la curva de liberación de etilparabeno no alcanza la concentración de equilibrio o "plateau" durante las 30 horas de estudio (gráficos de liberación en el anexo A54.4.1).

Asimismo, la interacción de la fase acuosa con la velocidad de agitación (FW-w), es la interacción que influye significativamente durante las 30 horas. Dicha interacción indica que a valores de velocidad de agitación pequeños, el aumento del porcentaje de fase acuosa favorece la liberación de etilparabeno

Propilparabeno

Al igual que para el metilparabeno y el etilparabeno, se analizó la influencia de los factores principales en la liberación del propilparabeno a 4, 8, 24 y 30 horas, observando que, de forma similar, la relación O/S y el porcentaje de fase acuosa, influyen significativamente durante todo el proceso de liberación (figura 54.40). Además, la interacción del porcentaje de fase acuosa con la velocidad de agitación, influye significativamente a partir de las 8 horas de la liberación (en el anexo A54.4.4, se muestra una tabla con los valores de significación).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

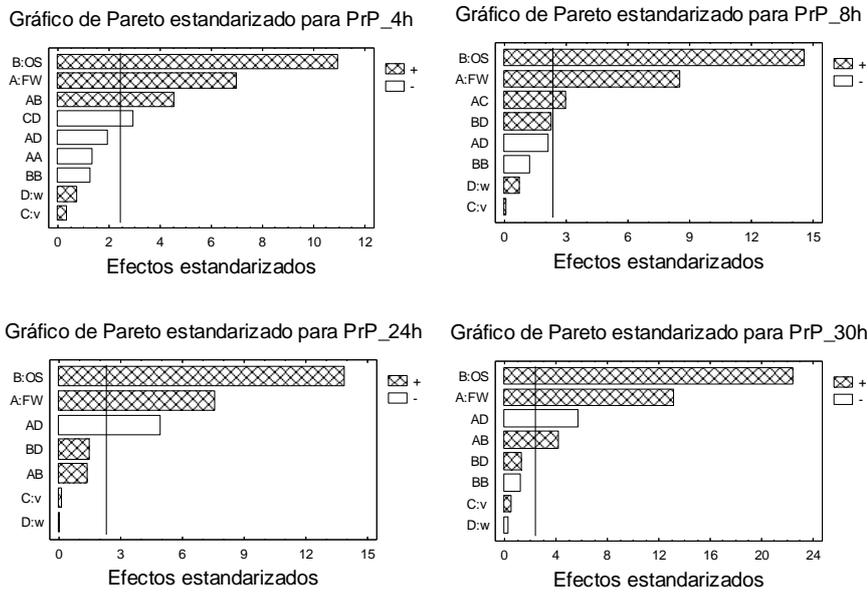


Figura 54.40. Diagramas de Pareto para los factores influyentes en la liberación de propilparabeno a 4, 8, 24 y 30 horas, según el diseño de experimentos factorial fraccionado.

Del mismo modo que para los otros dos parabenos, se comprobó que los residuos de los cuatro modelos no seguían ningún patrón (figura 54.41) y se describieron las ecuaciones de los modelos (ecuaciones 54.17 – 54.20).

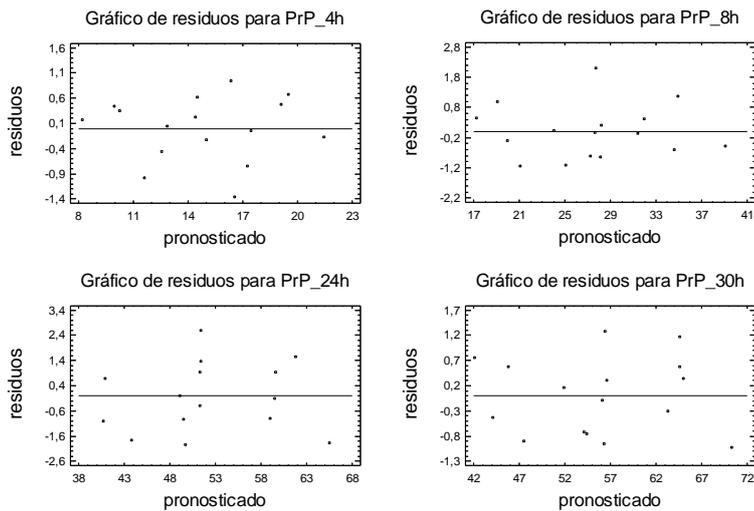


Figura 54.41. Residuos de los modelos respecto a los valores pronosticados para la liberación de propilparabeno a 4, 8, 24 y 30 horas.

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

$$\begin{aligned} PrP_{4h} = & - 303,3 + 5,6 FW - 22,0 OS + 6,2 v + 1,9x10^{-1} w - \\ & - 2,7x10^{-2} FW FW + 3,2x10^{-1}FW OS - 2,0x10^{-3}FW w - \\ & - 3,2x10^{-1}OS OS - 6,8x10^{-3} v w \end{aligned} \quad \text{Ec. 54.17}$$

$$R^2: 97,2$$

$$\begin{aligned} PrP_{8h} = & - 170,6 + 2,3 FW + 7,6x10^{-1} OS - 21,6 v + 2,1x10^{-1} w + \\ & + 2,5x10^{-1} FW v - 2,8x10^{-3}FW w - 4,1x10^{-1}OS OS + \\ & + 7,3x10^{-3} OS w \end{aligned} \quad \text{Ec. 54.18}$$

$$R^2: 98,0$$

$$\begin{aligned} PrP_{24h} = & - 444,6 + 5,9 FW - 20,6 OS + 5,4x10^{-2}v + 5,1x10^{-1}w + \\ & + 2,2x10^{-1}FW OS - 6,5x10^{-3}FW w + 8,4x10^{-3}OS w \end{aligned} \quad \text{Ec. 54.19}$$

$$R^2: 97,3$$

$$\begin{aligned} PrP_{30h} = & - 394,8 + 5,2 FW - 29,8 OS + 1,3x10^{-1}v + 5,2x10^{-1}w + \\ & + 4,0x10^{-1}FW OS - 6,4x10^{-3}FW w - 3,7x10^{-1}OS OS + \\ & + 4,5x10^{-3} OS w \end{aligned} \quad \text{Ec. 54.20}$$

$$R^2: 99,2$$

En la figura 54.42, se muestra la influencia de los factores principales y de las interacciones, en la liberación del propilparabeno. Al igual que con el etilparabeno (figura 54.39), se observa que la liberación del propilparabeno aumenta con la fase acuosa y la relación O/S. En las curvas de liberación del propilparabeno también se observa que no se alcanza el “plateau” (anexo A54.4.1) y por este motivo su comportamiento es más parecido al etilparabeno que al metilparabeno. Sin embargo, a diferencia de los otros dos parabenos, al considerar la velocidad de adición de fase acuosa y la velocidad de agitación, se intuye un ligero aumento de la liberación (figura 54.42). Posiblemente, este hecho se podría atribuir a que el propilparabeno es el parabeno más hidrófobo de los tres estudiados. Por ello, los mecanismos de difusión desde el interior de las gotas de fase acuosa hacia la fase continua de las emulsiones podrían estar más favorecidos que con los otros dos parabenos.

La interacción del porcentaje de fase acuosa con la velocidad de agitación (FW-w) es una de las más influyentes durante todo el proceso de liberación del propilparabeno (figura 54.42). Para valores bajos de velocidad de agitación, el aumento en la fase acuosa favorece la liberación de propilparabeno. El efecto de esta interacción, ya se ha puesto de manifiesto de forma similar con el metilparabeno (figura 54.36) y el etilparabeno (figura 54.39).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

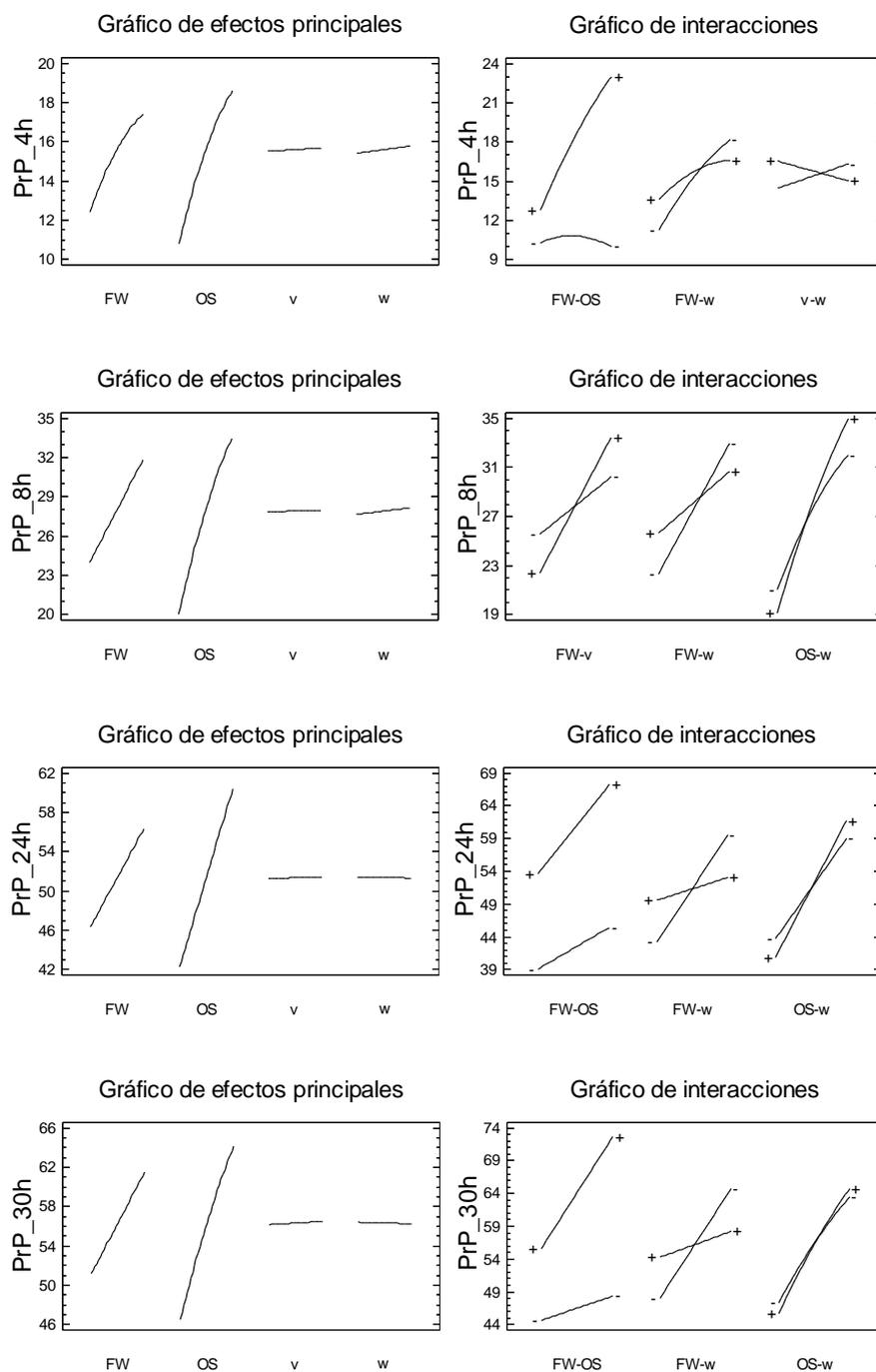


Figura 54.42. Efectos principales e interacciones para el propilparabeno (PrP) liberado a 4, 8, 24 y 30 horas (FW: porcentaje de fase acuosa, O/S: relación aceite/tensioactivo, v: velocidad de adición de fase acuosa, w: velocidad de agitación).

5.4.5. Optimización del sistema modelo

El objetivo era obtener una emulsión que tuviese el tamaño de gota mínimo con la máxima estabilidad. Por este motivo, la formulación con el mínimo valor posible de diámetro de gota, debía presentar los máximos valores de deformación crítica, “melting strain” y módulo elástico. Asimismo, se quería demostrar que se podía obtener una emulsión altamente concentrada incorporando moléculas activas, que liberase dichas moléculas lentamente durante las primeras 8 horas y que a las 24 horas hubiese liberado la máxima cantidad posible. Por ello, se pretendía encontrar un modelo que minimizara la cantidad liberada a las 8 horas y la maximizase a las 24 horas. Además, se optó por incluir en el modelo los resultados de liberación del metilparabeno descartando los de etilparabeno y propilparabeno ya que, mediante matrices de dispersión, se observó que existían correlaciones lineales entre ellos (figura 54.43) y, por lo tanto, si se incluían en el modelo serían variables que aportarían información redundante.

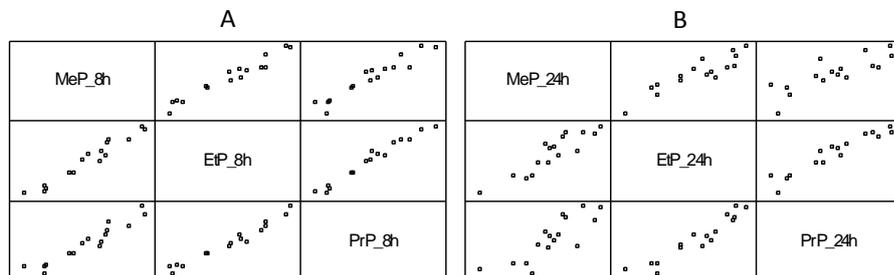


Figura 54.43. Correlaciones entre la liberación de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP) desde emulsiones altamente concentradas de tipo W/O a soluciones receptoras a 8 horas (A) y a 24 horas (B).

También se observó que existían correlaciones en la liberación de metilparabeno a 8 y 24 horas (figura 54.44).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

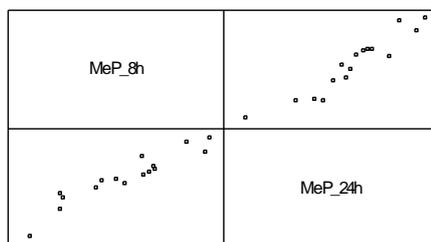


Figura 54.44. Correlaciones entre la liberación de metilparabeno (MeP) desde emulsiones altamente concentradas de tipo W/O a soluciones receptoras a 8 y a 24 horas.

A pesar de ello, se incluyeron las dos variables ya que por un lado se pretendía minimizar la liberación a 8 horas y por otro lado, maximizarla a 24 horas. A modo de resumen, en la tabla 54.8, se muestran las variables seleccionadas y el objetivo fijado para optimizar el sistema modelo.

Tabla 54.8. Variables seleccionadas y objetivos fijados para optimizar el sistema modelo.

Nº	Variable	Descripción	Objetivo
1	d (μm)	Diámetro de gota	Minimizar
2	γ_c	Deformación crítica	Maximizar
3	γ_m	“Melting strain”	Maximizar
4	$G'_{1\text{Hz}}$ (Pa)	Módulo elástico	Maximizar
5	$\text{MeP}_{8\text{h}}$ (%)	% liberación MeP 8h	Minimizar
6	$\text{MeP}_{24\text{h}}$ (%)	% liberación MeP 24h	Maximizar

Una vez seleccionadas las variables respuesta a estudiar, y con el objetivo de optimizarlas, se aplicó la función de conveniencia que se obtiene por combinación de las variables seleccionadas siguiendo la metodología descrita por Montgomery [Montgomery, 2001]. De este modo, se determinó la región óptima del diagrama de superficie de respuesta (figura 54.45), los valores de las variables de formación y composición que optimizaban el modelo estudiado (tabla 54.9), así como los valores teóricos de las variables respuesta (tabla 54.10).

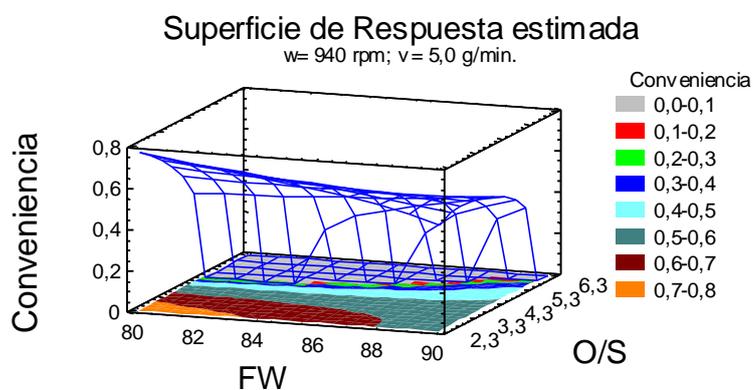


Figura 54.45. Superficie de respuesta para la función de conveniencia del sistema modelo optimizado.

Tabla 54.9. Valores óptimos para las variables de composición y formación del modelo optimizado.

Nº	Factor	Descripción	Óptimo
1	FW (%)	Porcentaje de fase acuosa	80,0 %
2	O/S	Relación aceite/ tensioactivo	2,33 (70/30)
3	v (g/min.)	Velocidad de adición de la fase acuosa	5,0 g/min.
4	w (rpm)	Velocidad de agitación	940 rpm

Tabla 54.10. Valores teóricos de las variables respuesta según el óptimo para las variables de formación y composición del modelo optimizado.

Nº	Variable	Descripción	Objetivo	Óptimo teórico
1	d (μm)	Diámetro de gota	Minimizar	0,44 μm
2	γ_c	Deformación crítica	Maximizar	$2,60 \times 10^{-2}$
3	γ_m	“Melting strain”	Maximizar	$3,11 \times 10^{-1}$
4	$G'_{1\text{Hz}}$ (Pa)	Módulo elástico	Maximizar	462 Pa
5	MeP _{8h} (%)	% liberación MeP 8h	Minimizar	54,5 %
6	MeP _{24h} (%)	% liberación MeP 24h	Maximizar	82,6 %

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de establecer las condiciones óptimas, se preparó una emulsión altamente concentrada, mediante la adición de la fase acuosa a la oleosa, con los valores óptimos de las variables de composición y formación. Una vez preparada se procedió a su caracterización y se compararon los resultados obtenidos experimentalmente con los establecidos teóricamente por el modelo.

Al analizar la distribución de tamaño se observó que el valor teórico estaba aproximadamente en el centro de la distribución (figura 54.46).

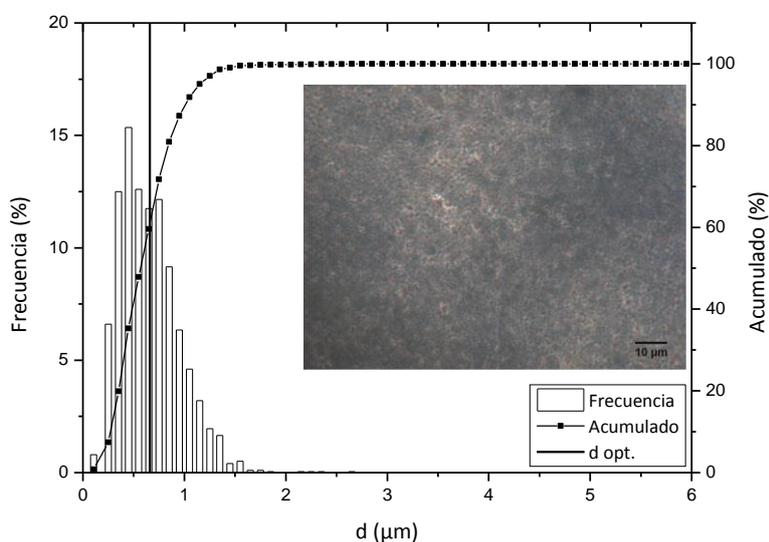


Figura 54.46. Resultados experimentales (distribución de tamaños y micrografía) de la emulsión altamente concentrada óptima y valor teórico del tamaño óptimo (línea vertical).

Las propiedades reológicas de la emulsión altamente concentrada preparada según las condiciones óptimas del modelo, también se ajustaban razonablemente a los valores predichos por el modelo (figura 54.47).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

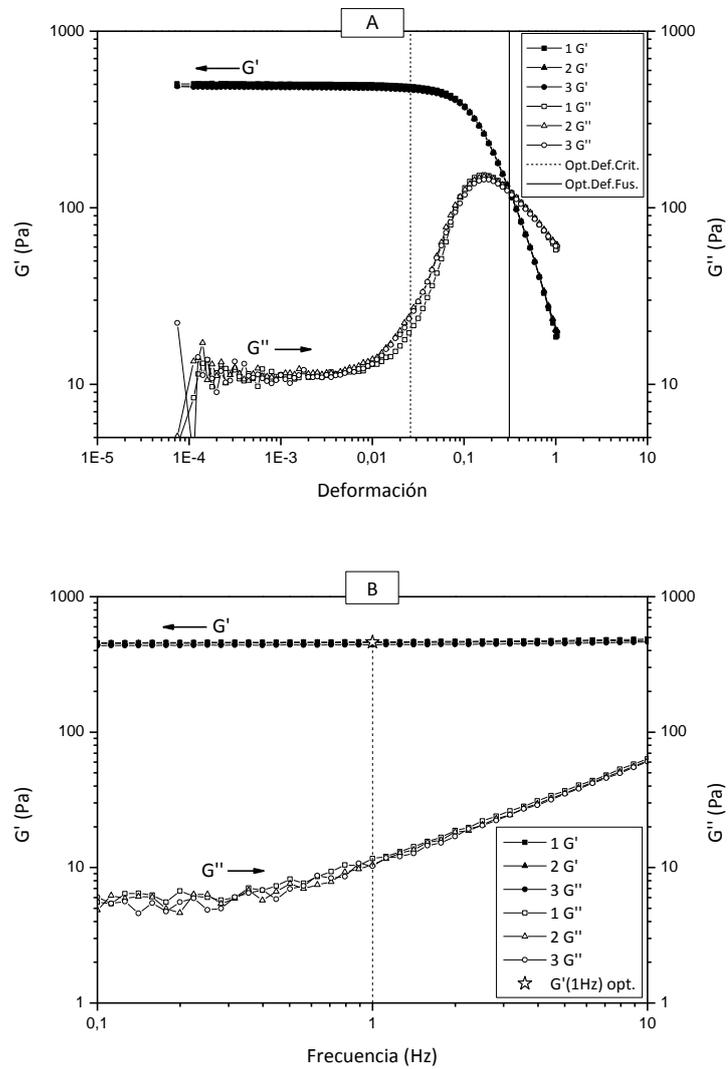


Figura 54.47. Reogramas de deformación para la emulsión óptima (A) con los valores teóricos de la deformación crítica (línea discontinua) y de fusión (línea continua), y reogramas de frecuencia (B) con el valor teórico del módulo elástico a 1 Hz (estrella). Los números 1, 2 y 3 indican las réplicas.

Asimismo, los resultados de la liberación del metilparabeno a 8 y 24 horas (figura 54.48), se aproximan razonablemente a los predichos por el modelo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

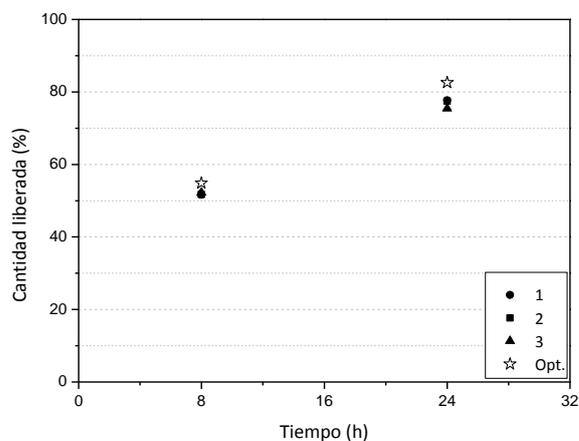


Figura 54.48. Valor teórico (estrella) y experimental de la liberación de metilparabeno a 8 y 24 horas desde emulsiones a soluciones receptoras. Los números 1, 2 y 3, indican las réplicas.

En la tabla 54.11, se resumen los parámetros estudiados de la emulsión altamente concentrada preparada según las condiciones óptimas determinadas por el modelo. Se puede concluir que los resultados experimentales se ajustan razonablemente a los teóricos y por lo tanto que el modelo es adecuado para optimizar la formación de emulsiones altamente concentradas.

Tabla 54.11. Resumen de los valores teóricos de las variables respuesta según el óptimo y resultados experimentales.

Nº	Variable	Descripción	Óptimo teórico	Resultado experimental
1	d (μm)	Diámetro de gota	0,44 μm	0,662 \pm 0,013 μm (PDI 1,64)
2	γ_c	Deformación crítica	2,60x10 ⁻²	2,52x10 ⁻² \pm 1,43x10 ⁻⁶
3	γ_m	"Melting strain"	3,11x10 ⁻¹	3,15 x10 ⁻¹ \pm 7,46x10 ⁻³
4	$G'_{1\text{Hz}}$ (Pa)	Módulo elástico	462 Pa	455 \pm 29,3 Pa
5	MeP _{8h} (%)	% liberación MeP 8h	54,5 %	51,9 \pm 0,788 %
6	MeP _{24h} (%)	% liberación MeP 24h	82,6 %	76,9 \pm 3,08 %

5.4.6. Escalado de la formulación optimizada

El escalado de emulsiones altamente concentradas es un proceso complejo que puede ser abordado mediante la utilización de diseños de experimentos [Capdevila, 2010; May-Masnou, 2013; May-Masnou, 2014]. En esta tesis, se realizó un estudio preliminar para comprobar si al aumentar la escala se podían mantener los valores de liberación así como las demás propiedades predichas para el óptimo del sistema modelo. Para ello, se mantuvieron constantes las relaciones entre los factores geométricos tanto de los vasos encamisados donde se prepararon las emulsiones, como de las varillas de agitación utilizadas (figura 54.49). De este modo, se mantuvo constante tanto la relación entre la altura que alcanzaba la muestra en el vaso encamisado y su diámetro interior (tabla 54.12: nº 3), como la relación entre la distancia entre ejes y diámetro de giro, y el diámetro de giro y el diámetro interno del vaso encamisado (tabla 54.12: nº 6 y 7).

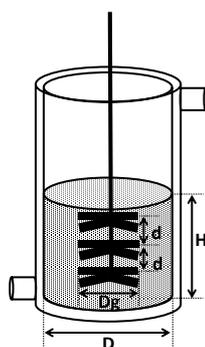


Figura 54.49. Esquema del vaso encamisado y la varilla de agitación con los parámetros geométricos considerados en el escalado.

Tabla 54.12. Factores geométricos de los vasos encamisados y de las varillas de agitación.

Nº	Parámetro	Abreviatura	Escala	
			50 g	181 g
1	Altura de la muestra	H	1,88 cm	2,88 cm
2	Diámetro interno del vaso	D	5,2 cm	8,0 cm
3	Relación altura/diámetro	H/D	0,36	0,36
4	Distancia entre hélices	d	1,0 cm	1,54 cm
5	Diámetro de giro de la hélice	Dg	4,4 cm	6,8 cm
6	Relación distancia entre ejes/diámetro de giro	d/Dg	0,23	0,23
7	Relación diámetro de giro/diámetro vaso	Dg/D	0,85	0,85

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para calcular la velocidad de agitación (w) en la nueva escala se consideraron dos opciones: mantener el número de Reynolds constante (ecuación 54.21) o mantener la velocidad lineal constante (ecuación 54.22).

$$(w \times Dg)^2_{escala\ pequeña} = (w \times Dg)^2_{escala\ grande} \quad \text{Ec. 54.21}$$

$$(w \times Dg)_{escala\ pequeña} = (w \times Dg)_{escala\ grande} \quad \text{Ec. 54.22}$$

Si se mantenía el número de Reynolds constante, la velocidad de agitación del escalado sería de 394 rpm (tabla 54.13). Sin embargo, esta velocidad resultaba muy baja para poder formar emulsiones ya que se había observado que como mínimo la velocidad debería ser de 800 rpm (sección 5.4.1). Si se mantenía la velocidad de agitación lineal constante, la velocidad resultante era de 608 rpm (tabla 54.13). Nuevamente, era una velocidad inferior a la necesaria para poder formar las emulsiones. Por este motivo, se optó por formar las emulsiones manteniendo la velocidad de agitación determinada para el óptimo del modelo, 940 rpm, y, además, estudiar una velocidad menor pero dentro de los límites determinados para formar emulsiones, como por ejemplo, 840 rpm.

Tabla 54.13. Cálculo de la velocidad de agitación manteniendo el número de Reynolds constante, primero, y manteniendo la velocidad lineal constante después.

Nº	Parámetro	Escala	Escala	
		50 g	181 g	
1	Diámetro de giro de la hélice (Dg)	4,4 cm	6,8 cm	6,8 cm
2	Parámetro constante	---	Número de Reynolds	Velocidad lineal
3	Velocidad de agitación (w)	940 rpm	394 rpm	608 rpm

Otros parámetros que se consideraron fueron el tiempo de adición y la velocidad de adición, manteniendo constante el tiempo de adición de la fase acuosa. Para ello, se tuvo que aumentar la velocidad de adición de 5,0 g/min a 18,0 g/min. Sin embargo, para utilizar una velocidad de adición similar y poder mantener el tiempo de adición constante en las dos escalas, se realizó la adición de la fase acuosa utilizando dos canales a 9,0 g/min cada uno (tabla 54.14). Así, se pudo hacer la adición utilizando un tubo del mismo diámetro que el de la escala pequeña. Se procedió de este modo porque en la preparación de

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

emulsiones a escala pequeña, se había comprobado que al aumentar la velocidad de adición según este procedimiento, se obtenían emulsiones con tamaños de gota similares.

Una vez seleccionadas las variables de escalado, se realizaron dos ensayos en las condiciones descritas a modo de resumen en la tabla 54.15.

Tabla 54.14. Tiempo de adición de la fase acuosa y su velocidad de adición para las dos escalas.

Nº	Parámetro	Escala	
		50 g	181 g
1	Cantidad de fase acuosa (80 %)	40 g	145 g
2	Tiempo de adición	8'	8'
3	Velocidad total de adición	5,0 g/min.	18,0 g/min.
4	Canales de adición	1	2
5	Velocidad total de adición por canal	5,0 g/min.	9,0 g/min.
6	Velocidad bomba de adición para cada canal	20 rpm	36 rpm

Tabla 54.15. Resumen de los factores considerados en los dos escalados de la formulación optimizada en escala pequeña.

Nº	Factor	Descripción	Escala pequeña	Escalado 1	Escalado 2
1	FW (%)	Porcentaje de fase acuosa	80,0 %	80,0 %	80,0 %
2	O/S	Relación aceite/tensioactivo	2,33	2,33	2,33
3	w (rpm)	Velocidad de agitación	940 rpm	940 rpm	840 rpm
4	v (g/min.)	Velocidad de adición de la fase acuosa	5,0 g/min.	18,0 g/min.	18,0 g/min.
6	C	Canales de adición	1	2	2

Como se muestra en la tabla 54.16, se obtuvieron resultados similares para los dos escalados (en el anexo A54.6.1 se muestran las distribuciones de tamaño, los barridos de deformación y frecuencia).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 54.16. Resumen de los resultados obtenidos en la escala pequeña y en los dos escalados (d: diámetro de gota; PDI: índice de polidispersidad; γ_c : deformación crítica; γ_m : "melting strain"; G'_{1Hz} : módulo elástico a 1 HZ; MeP_{8h} y MeP_{24h}: porcentaje de metilparabeno liberado en 8 y 24 horas, respectivamente).

Nº	Variable	Escala pequeña	Escalado 1 a 940 rpm	Escalado 2 a 840 rpm
1	d (μm)	0,662 \pm 0,013 μm (PDI 1,64)	0,603 \pm 0,011 (PDI 1,49)	0,579 \pm 0,011 (PDI 1,53)
2	γ_c	2,52x10 ⁻² \pm 1,43x10 ⁻⁶	3,55x10 ⁻² \pm 3,17x10 ⁻⁵	2,24x10 ⁻² \pm 3,66x10 ⁻⁵
3	γ_m	3,15x10 ⁻¹ \pm 7,46x10 ⁻³	3,44x10 ⁻¹ \pm 6,49x10 ⁻³	3,34x10 ⁻¹ \pm 5,50x10 ⁻³
4	G'_{1Hz} (Pa)	455 \pm 29,3 Pa	507 \pm 18,7 Pa	499 \pm 22,7 Pa
5	MeP _{8h} (%)	51,9 \pm 0,788 %	58,0 \pm 3,08 %	50,1 \pm 5,13 %
6	MeP _{24h} (%)	76,9 \pm 3,08 %	81,1 \pm 1,99 %	72,3 \pm 6,72 %

Para poder determinar con cuál de los dos escalados se obtenían resultados más parecidos a los de la formulación optimizada, se aplicó un algoritmo de agrupamiento o "cluster", asignando un vector a cada conjunto de datos y determinando la distancia euclídea que los separaban. Así se determinó que la formulación óptima y el escalado 2 eran más parecidos, porque estaban separados por una distancia de 5 unidades tomando como componentes la diferencia entre cada una de las variables consideradas, y el escalado 1 estaba a 12 unidades (figura 54.50).

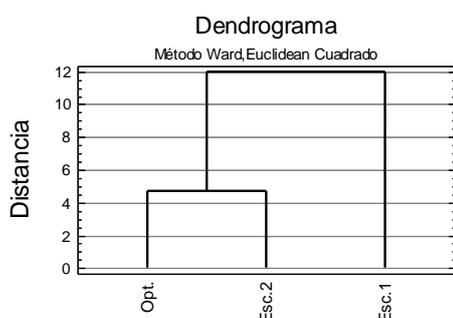


Figura 54.50. Dendrograma para los resultados de tamaño, deformación crítica, "melting strain", módulo elástico y porcentaje de metilparabeno liberado a 8 y 24 horas para la formulación óptima (Opt.) y los dos escalados (Esc. 1 y 2).

Mediante este estudio preliminar, se concluyó que se podía escalar la formulación óptima manteniendo sus propiedades, si bien, haría falta estudiar más sistemáticamente el proceso de escalado para poder optimizarlo.

5.4.7. Variación del componente oleoso y tensioactivo en la formulación optimizada

Con el objetivo de determinar las influencias del componente oleoso y del tensioactivo en la formulación óptima del sistema modelo, se prepararon emulsiones en la mismas condiciones pero variando el aceite y el tensioactivo utilizados. Así se estudiaron los sistemas ya descritos en la sección 5.2:

- A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina,
- B: solución acuosa/Span80/escualano,
- C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina,
- D: solución acuosa/IS-202P/escualano.

Dónde la solución acuosa era una solución de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno, en agua/propilenglicol 90/10.

Todas las emulsiones preparadas en las condiciones de la formulación óptima (tabla 54.9), tenían el mismo aspecto macroscópico y no fluían. Al realizar un análisis microscópico se observó que todas presentaban una distribución de gotas compactas de tamaños similares (tabla 54.17). Los índices de polidispersidad fueron parecidos, tanto inicialmente como al cabo de 24 horas (tabla 54.17). Al representar las distribuciones mediante el gráfico “box-plot” (figura 54.51) y aplicando el test de Kruskal-Wallis (anexo A54.7.1), se puede afirmar con un 95 % de confianza, que las distribuciones de tamaño fueron significativamente distintas. Se observó que el tamaño medio aumenta con el tiempo, aumentando más en las emulsiones con IS-202P. Asimismo, también aumenta al substituir Span80 por IS-202P (figura 54.51). También se puso de manifiesto, que al substituir el aceite de parafina por escualano, el tamaño medio aumenta ligeramente con Span80 y disminuye ligeramente con IS-202P (figura 54.51).

Tabla 54.17. Tamaño de gota y polidispersidad a tiempo inicial y a un día a 25 °C, de las emulsiones de los cuatro sistemas estudiados (d: diámetro de gota; PDI: índice de polidispersidad).

Nº	Sistema	d_{0h} (μm)	PDI_{0h}	d_{24h} (μm)	PDI_{24h}
1	A (Span80/ aceite de parafina)	0,662	1,64	0,959	1,54
2	B (Span80/ escualano)	0,714	1,58	0,927	1,47
3	C (IS-202P/ aceite de parafina)	1,03	1,58	2,39	1,76
4	D (IS-202P/ escualano)	0,902	1,49	2,00	1,76

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

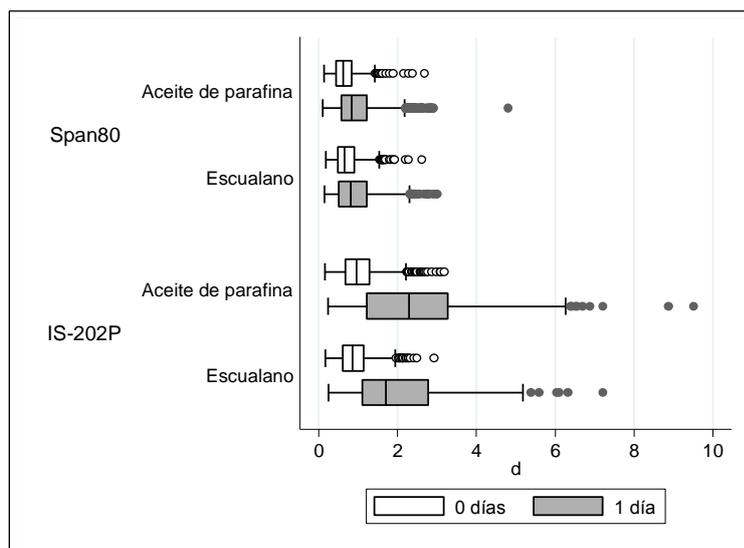


Figura 54.51. Diagrama de cajas o “box-plot” para las distribuciones de tamaño a 0 horas (blanco) y a 1 día (gris) de los cuatro sistemas estudiados.

Las emulsiones también se caracterizaron mediante dispersión de rayos X a ángulos pequeños, SAXS (figura 54.52). Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que tienen estructuras muy similares y que no hay presencia de fases cristalinas en ninguna de las formulaciones, ya que no se observan picos de difracción [Schnablegger, 2013].

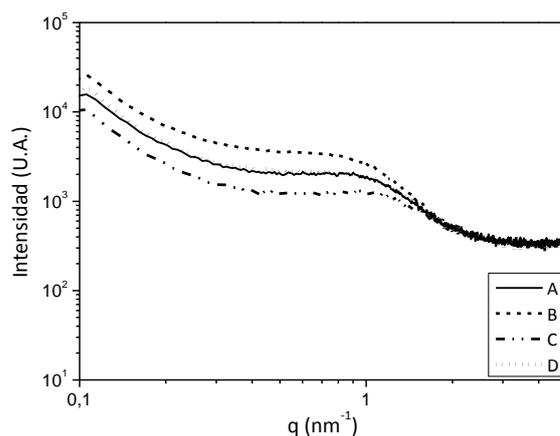


Figura 54.52. Espectros de dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS) para la formulación óptima del sistema modelo A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, comparada con otras formulaciones (B: solución acuosa/Span80/escualano; C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y D: solución acuosa/IS-202P/escualano).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

A partir de los espectros se calculó la superficie específica y el diámetro de gota, expresado como $D(3,2)$, y se comparó con el diámetro de gota determinado por microscopía óptica (tabla 54.18).

Tabla 54.18. Superficie específica (S_e) y diámetro de gota ($D(3,2)$), determinado mediante dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS), y comparación con la técnica de microscopía óptica (las medidas se han realizado al acabar de preparar las emulsiones).

Nº Sistema	SAXS S_e (m^2/g)	SAXS $D(3,2)$ (μm)	M.Óptica $D(3,2)$ (μm)
1 A (Span80/ aceite de parafina)	45,4	0,11	0,93
2 B (Span80/ escualano)	43,9	0,13	0,99
3 C (IS-202P/ aceite de parafina)	59,5	0,09	1,42
4 D (IS-202P/ escualano)	47,4	0,10	1,20

Al substituir Span80 por IS-202P, se observa un ligero aumento en la superficie específica y al substituir aceite de parafina por escualano una disminución. Además, la emulsión que presenta mayor superficie específica pertenece al sistema C (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina). Asimismo, los diámetros determinados mediante SAXS son muy parecidos para las cuatro emulsiones y muy inferiores a los obtenidos por microscopía óptica. Esta discrepancia, que ya aparece descrita en la literatura, se atribuye a las diferencias que existen entre las dos técnicas. Además, mediante SAXS no se puede determinar la distribución de tamaño y por lo tanto, no se obtiene información sobre la polidispersidad del sistema.

Por todo ello se concluyó, mediante el estudio de SAXS, que no había estructuras cristalinas en ninguna de las emulsiones y las formulaciones eran tan parecidas que, con el error asociado a las medidas de SAXS y las aproximaciones realizadas en el tratamiento matemático, no se pudieron observar diferencias en sus tamaños de gota.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los estudios reológicos de los cuatro sistemas se muestran en la tabla 54.19 (los reogramas en las figuras 52.17 y 52.18). El análisis estadístico (anexo A54.7.2) puso de manifiesto que no hay diferencias significativas en los resultados obtenidos con los dos aceites. También se observó que al substituir el Span80 por IS-202P, existen diferencias significativas en la deformación crítica, el “melting strain” y el módulo elástico, debido posiblemente a que el tensioactivo Span80 es un tensioactivo más efectivo ya que consigue estabilizar las emulsiones durante más tiempo como se observó en la sección 5.2.

Tabla 54.19. Propiedades reológicas de los sistemas estudiados (γ_c : deformación crítica; γ_m : “melting strain”; G'_{1Hz} : módulo elástico a 1 Hz).

Nº	Sistema	γ_c	γ_m	G'_{1Hz} (Pa)
1	A (Span80/ aceite de parafina)	$2,52 \times 10^{-2} \pm 1,43 \times 10^{-6}$	$3,15 \times 10^{-1} \pm 7,46 \times 10^{-3}$	$455 \pm 29,3$ Pa
2	B (Span80/ escualano)	$2,24 \times 10^{-2} \pm 5,04 \times 10^{-5}$	$3,15 \times 10^{-1} \pm 1,08 \times 10^{-2}$	$461 \pm 38,3$ Pa
3	C (IS-202P/ aceite de parafina)	$3,55 \times 10^{-2} \pm 5,89 \times 10^{-5}$	$3,11 \times 10^{-1} \pm 2,30 \times 10^{-3}$	$412 \pm 42,6$ Pa
4	D (IS-202P/ escualano)	$2,81 \times 10^{-2} \pm 4,98 \times 10^{-5}$	$2,55 \times 10^{-1} \pm 1,76 \times 10^{-2}$	$431 \pm 45,1$ Pa

El análisis estadístico de los resultados de liberación de metilparabeno (tabla 54.20) puso de manifiesto que no hay diferencias significativas en los resultados obtenidos ni con los dos tensioactivos ni con los dos aceites (figura 54.53 y anexo A54.7.3). Sin embargo, como era de esperar, se observó un aumento significativo de la liberación al pasar de 8 a 24 horas (figura 54.53 y anexo A54.7.3).

5.4. Modelización de emulsiones altamente concentradas

Tabla 54.20. Porcentajes de metilparabeno liberado a 8 y 24 horas en los cuatro sistemas estudiados (MeP_{8h}: porcentaje de metilparabeno liberado en 8 horas; MeP_{24h}: porcentaje de metilparabeno liberado en 24 horas).

Nº	Sistema	MeP _{8h} (%)	MeP _{24h} (%)
1	A (Span80/ aceite de parafina)	51,9 ± 0,788 %	76,9 ± 3,08 %
2	B (Span80/ escualano)	59,5 ± 0,622 %	82,5 ± 1,86 %
3	C (IS-202P/ aceite de parafina)	64,4 ± 2,24 %	90,8 ± 4,20 %
4	D (IS-202P/ escualano)	57,9 ± 8,44 %	82,3 ± 6,77 %

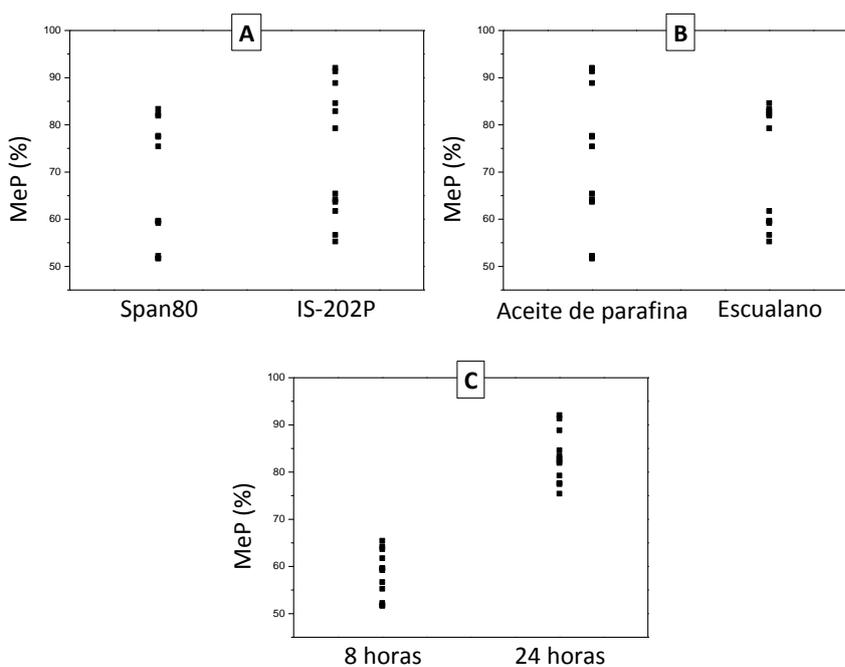


Figura 54.53. Resultados de liberación de metilparabeno comparados por tensioactivo (A), por aceite (B) y por tiempo (C).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Asimismo, se analizaron todos los resultados conjuntamente mediante un algoritmo de agrupamiento o “cluster”, asignando un vector a cada conjunto de datos y determinando la distancia euclídea (figura 54.54). Así se determinó que la formulación óptima formada con Span80/aceite de parafina y la emulsión formada con Span80/escualano están separadas por 2 unidades arbitrarias, y las emulsiones con IS-202P/aceite de parafina y IS-202P/escualano, por 7 unidades. Además, las dos emulsiones formadas con IS-202P están separadas 18 unidades de las dos emulsiones formadas con Span80. De este modo, como se podría prever por los estudios previos realizados, la emulsión altamente concentrada con resultados más parecidos al sistema modelo fue la del sistema solución acuosa/Span80/escualano.

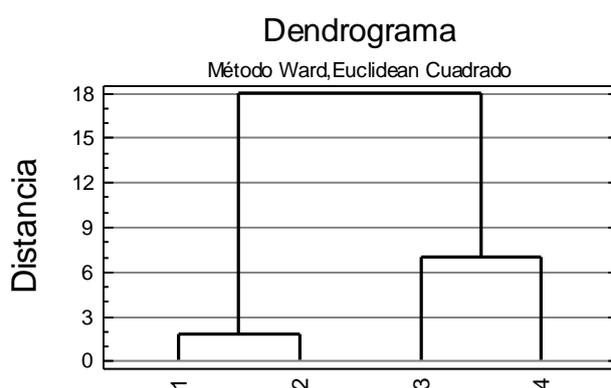


Figura 54.54. Dendrograma para los resultados de tamaño, deformación crítica, “melting strain”, módulo elástico y porcentaje de metilparabeno liberado a 8 y 24 horas para la formulación óptima del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina (1) y las emulsiones altamente concentradas formadas con Span80/escualano (2), IS-202P/aceite de parafina (3) y IS-202P/escualano (4).

5.4.8. Resumen de la modelización de emulsiones altamente concentradas

Mediante técnicas de diseños de experimentos se ha estudiado la influencia de variables de composición y formación de las emulsiones en el tamaño de gota, propiedades reológicas y la liberación de moléculas activas. Asimismo, se ha optimizado su formulación, se ha realizado un estudio preliminar de escalado y se ha estudiado la influencia del componente tensioactivo y oleoso en las propiedades de la emulsión optimizada. A continuación se enumeran los resultados más destacables de estos estudios.

- Al aumentar la concentración de fase acuosa para una relación O/S constante, el tamaño de gota disminuye y el módulo elástico aumenta, cuando la concentración de tensioactivo no es el factor limitante, ya que por debajo de dicha concentración crítica de tensioactivo, se produce el efecto contrario.
- Al aumentar la relación O/S para un porcentaje de fase acuosa constante, aumenta la tensión interfacial entre el componente acuoso y oleoso produciendo un aumento en el tamaño de gota de las emulsiones y la disminución del módulo elástico.
- La relación O/S es uno de los factores más influyentes en los procesos de liberación de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno incorporados en la fase acuosa de emulsiones de tipo W/O del sistema modelo. Asimismo, el porcentaje de fase acuosa es más influyente a medida que aumenta la cadena hidrocarbonada del parabeno.
- Los factores de formación, velocidad de adición de fase acuosa y velocidad de agitación, no influyen significativamente en el proceso de liberación de los parabenos. Sin embargo, la interacción de la velocidad de agitación con el porcentaje de fase acuosa influye significativamente en la liberación de las tres moléculas estudiadas.
- La utilización de un diseño factorial fraccionado ha permitido la obtención de un modelo empírico mediante el cual se ha optimizado la formulación de emulsiones, logrando minimizar su tamaño de gota, maximizar sus propiedades reológicas, y modular la liberación de moléculas activas incorporadas en la fase acuosa, minimizándola a las 8 horas y maximizándola a las 24 horas.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- Un estudio preliminar de escalado de la formulación óptima ha puesto de manifiesto que dicha emulsión se puede escalar manteniendo su tamaño de gota y propiedades reológicas, además de los perfiles de liberación de los parabenos.
- Al substituir Span80 por IS-202P en la emulsión optimizada, se produce un aumento de tamaño de gota con la consecuente disminución del módulo elástico. Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas en la liberación de parabenos.
- Al substituir aceite de parafina por escualano, varía el tamaño de gota de las emulsiones pero no se aprecian diferencias significativas ni en las propiedades reológicas ni en la liberación de parabenos.
- Mediante dispersión de rayos X a ángulos pequeños se ha observado un aumento en la superficie específica de la emulsión optimizada al substituir Span80 por IS-202P, y una disminución al substituir aceite de parafina por escualano. Sin embargo, no se han detectado diferencias en el tamaño de gota.

En resumen, la aplicación de diseños de experimentos en el proceso de formación de emulsiones altamente concentradas del sistema modelo, ha permitido relacionar factores de composición y formación de las emulsiones con sus propiedades, consiguiendo así optimizar su formulación.

6. Conclusiones

Mediante el estudio de sistemas formados por componente acuoso/tensioactivo no iónico/componente oleoso, se ha modelizado la formulación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O, mediante el estudio de propiedades tales como tamaño de gota, propiedades reológicas y liberación de moléculas activas incorporadas en la fase acuosa de dichas emulsiones. A continuación se describen las conclusiones más relevantes.

Formación y caracterización de emulsiones

- Se han obtenido emulsiones concentradas y altamente concentradas de tipo W/O en los sistemas agua/Span80/aceite de parafina, agua/Span80/escualano, agua/IS-202P/aceite de parafina y agua/IS-202P/escualano, con la estabilidad suficiente para utilizarlas como medios de liberación controlada de moléculas activas.
- El método de adición de fase acuosa, ha resultado el más adecuado para formar emulsiones altamente concentradas de tipo W/O en los sistemas estudiados.
- El estudio de las propiedades reológicas de las emulsiones altamente concentradas de los sistemas estudiados, ha puesto de manifiesto que las emulsiones con Span80 presentan un valor más elevado de módulo elástico.
- La incorporación de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en la fase acuosa de las emulsiones, en presencia de propilenglicol, no afecta ni la formación, ni las propiedades reológicas de dichas emulsiones.
- Los estudios de formación y caracterización han permitido seleccionar el sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina como sistema modelo, por ser uno de los sistemas en los que se forman emulsiones más estables y con menor tamaño de gota.

Liberación de moléculas activas

- Independientemente del medio en el que se hallan incorporados los principios activos (solución acuosa, solución micelar y emulsión altamente concentrada), el porcentaje liberado de metilparabeno es mayor que el de etilparabeno y, éste a su vez mayor que el de propilparabeno. Es decir, a menor longitud de cadena hidrocarbonada, mayor liberación.
- En los perfiles de liberación de parabenos desde soluciones micelares se alcanzó el “plateau” sin liberar completamente dichas moléculas, atribuido a la interacción de los parabenos con el tensioactivo (polisorbato80) que formaba las micelas.
- La liberación de parabenos incorporados en la fase acuosa de emulsiones altamente concentradas a soluciones receptoras, fue más lenta que su liberación a partir de las correspondientes soluciones acuosas y micelares, poniendo de manifiesto su confinamiento en el interior de las gotas de fase acuosa de dichas emulsiones.
- Los perfiles de liberación del metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno, fueron similares cuando se estudiaron por separado o en una mezcla 1:1:1 en peso, haciendo posible su utilización simultánea como moléculas activas modelo.

Modelización de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O

- Mediante un diseño de experimentos central se determinó que el tamaño de gota de las emulsiones del sistema agua/Span80/aceite de parafina, disminuye al aumentar la fase acuosa hasta alcanzar cierto valor crítico, a partir del cual, el tamaño aumenta. Asimismo, el tamaño de gota aumenta al aumentar la relación O/S manteniendo el porcentaje de fase acuosa constante.

- Al aumentar el porcentaje de fase acuosa, para una relación O/S constante, el módulo elástico aumenta hasta alcanzar un valor crítico a partir del cual disminuye. Sin embargo, para un porcentaje de agua constante, el módulo elástico disminuye al aumentar la relación O/S.
- En las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo solución acuosa/Span80/aceite de parafina, la velocidad de adición de fase acuosa es el factor más influyente en el tamaño de gota, así como la relación O/S en el módulo elástico, el umbral de fluencia y en la liberación de parabenos incorporados en dichas emulsiones.
- Al substituir el aceite del sistema modelo solución acuosa/Span80/aceite de parafina por escualano se obtienen emulsiones con tamaño de gota, propiedades reológicas y perfiles de liberación de moléculas activas más parecidas que si se substituye el Span80 por el IS-202P, influyendo más la estructura del tensioactivo que la polaridad del componente oleoso.
- Al realizar un estudio preliminar de escalado, se puso de manifiesto que no sólo los valores de tamaño de gota y sus propiedades reológicas eran similares, sino que también los perfiles de liberación de las moléculas activas incorporadas se aproximaban razonablemente a los valores optimizados en la escala pequeña.
- Mediante la utilización de un diseño de experimentos factorial, se ha optimizado la preparación de emulsiones altamente concentradas en el sistema modelo solución acuosa/Span80/aceite de parafina incorporando moléculas activas, obteniendo un modelo empírico que ha permitido optimizar el tamaño de gota, propiedades reológicas y modular el perfil de liberación de parabenos de las emulsiones de dicho sistema.

7. Bibliografía

- Abend, S.; Bonnke, N.; Gutschner, U.; et al. (1998). "Stabilization of emulsions by heterocoagulation of clay minerals and layered double hydroxides". *Colloid Polym. Sci.* 276: 730-737.
- Álvarez, M. S.; Iriart, C. H.; Candal, R. J.; et al. (2010). "Stability of emulsions formulated with high concentrations of sodium caseinate and trehalose". *Food Research International* 43(5): 1482-1493.
- Aronson, M. P. and Petko, M. F. (1993). "Highly concentrated water-in-oil emulsions: influence of electrolyte on their properties and stability". *Journal of Colloid and Interface Science* 159: 134-149.
- Ash, M. and Ash, I. (2008). *Handbook of Pharmaceutical Additives*. Third edition. Synapse Information Resources. USA.
- Ashby, N. P. and Binks, B. P. (2000). "Pickering emulsions stabilised by Laponite clay particles". *Physical Chemistry Chemical Physics* 2(24): 5640-5646.
- Audouin, F. and Heise, A. (2014). "Synthesis of polymer-silica hybrid polyHIPes by double in situ polymerization of concentrated water in oil emulsion". *Polymer* 55(1): 403-409.
- Babak, V. G. and Stébé, M.-J. (2002). "Highly concentrated emulsions: physicochemical principles of formulation". *J. Dispersion Science and Technology* 23(1-3): 1-22.
- Babak, V. G.; Stébé, M.-J. and Fa, N. (2003). "Physico-chemical model for molecular diffusion from highly concentrated emulsions". *Mendeleev Commun* 13(6): 254-256.
- Bancroft, W. D. (1911). "The Theory of Emulsification, I". *The Journal of Physical Chemistry* 16(3): 177-233.
- Barnea, E. and Mizrahi, J. (1973). "A generalized approach to the fluid dynamics of particulate systems. Part 1. General correlation for fluidization and sedimentation in solid multiparticle systems". *The Chemical Engineering Journal* 5: 171-189.
- Barry, B. W. (1975). "Viscoelastic properties of concentrated emulsions". *Advances in Colloid and Interface Science* 5: 37-75.
- BASF (2012). "Boletín técnico del oleato de decilo".
- BASF (2013a). "Boletín técnico del CremophorWO7".
- BASF (2013b). "Boletín técnico del PluronicL121".
- Becher, P. (1972). *Emulsiones, teoría y práctica*. Primera edición española de la 2ª edición americana. Ed. Blume, Madrid.
- Becher, P. (1983). *Encyclopedia of emulsion technology*. Marcel Dekker. Vol.1. New York.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Bhakta, A. and Ruckenstein, E. (1997). "Decay of standing foams: Drainage, coalescence and collapse". *Advances in Colloid and Interface Science* 70(1-3): 1-123.
- Binks, B. P. (1998). *Modern aspects of emulsions science*. The Royal Society of Chemistry.UK.
- Binks, B. P. and Clint, J. H. (2002). "Solid wettability from surface energy components: Relevance to pickering emulsions". *Langmuir* 18(4): 1270-1273.
- Bjerregaard, S.; Söderberg, I.; Vermehren, C.; et al. (1999). "Formulation and evaluation of release and swelling mechanism of a water-in-oil emulsion using factorial design". *International Journal of Pharmaceutics*(193): 1-11.
- Boode, K. and Walstra, P. (1993a). "Partial coalescence in oil-in-water emulsions 1. Nature of the aggregation". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 81: 121-137.
- Boode, K.; Walstra, P. and Groot-Mostert, A. E. A. d. (1993b). "Partial coalescence in oil-in-water emulsions 2. Influence of the properties of the fat". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 81: 139-151.
- Bouyer, E.; Mekhloufia, G.; Rosilio, V.; et al. (2012). "Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?". *International Journal of Pharmaceutics* 436: 359-378.
- Brown, M. B.; Turner, R. and Lim, S. T. (2012). "Chapter 14: Topical product formulation development" in "Transdermal and topical drug delivery: principles and practice", First Edition, (Ed. H. Benson and A. Watkinson), John Wiley & Sons. New Jersey: 255-286.
- Bummer, R. (2006). *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Springer. Germany.
- Bunge, A. L. (1998). "Release rates from topical formulations containing drugs in suspension". *Journal of Controlled Release* 52: 141-148.
- Calderó, G.; García-Celma, M. J.; Solans, C.; et al. (1997). "Influence of composition variables on the molecular diffusion from highly concentrated water-in-oil emulsions (gel-emulsions)". *Langmuir* 13(3): 385-390.
- Calderó, G.; García-Celma, M. J.; Solans, C.; et al. (1998). "Diffusion from hydrogenated and fluorinated gel-emulsion mixtures". *Langmuir* 14(7): 1580-1585.

- Calderó, G.; García-Celma, M. J.; Solans, C.; et al. (2000). "Effect of pH on mandelic acid diffusion in water in oil highly concentrated emulsions (gel-emulsions)". *Langmuir* 16(4): 1668-1674.
- Calderó, G.; Llinàs, M.; García-Celma, M. J.; et al. (2010). "Studies on controlled release of hydrophilic drugs from W/O high internal phase ratio emulsions". *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99(2): 701-711.
- Calderó, G.; Patti, A.; Llinàs, M.; et al. (2012). "Diffusion in highly concentrated emulsions". *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 17: 255-260.
- Capdevila, M.; Maestro, A.; Porras, M.; et al. (2010). "Preparation of Span 80/oil/water highly concentrated emulsions: influence of composition and formation variables and scale-up". *Journal of Colloid and Interface Science* 345: 27-33.
- Clément, P.; Laugel, C. and Marty, J.-P. (2000). "In vitro release of caffeine from concentrated W/O emulsions: effect of formulation parameters". *International Journal of Pharmaceutics* 207: 7-20.
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Second edition. Clarendon Press. Oxford.
- Croda (2013). "Certificado de análisis del Span80".
- Darbre, P. D.; Aljarrah, A.; Miller, W. R.; et al. (2004). "Concentrations of parabens in human breast tumours". *J Appl Toxicol* 24(1): 5-13.
- Debye, P. and Bueche, M. (1949). "Scattering by an inhomogeneous solid". *Journal of Applied Physics* 20: 518-525.
- Deminiere, B.; Stora, T.; Colin, A.; et al. (1999). "Surfactant phase transition inducing coalescence in dense emulsions". *Langmuir* 15: 2246-2249.
- Derkach, S. R. (2009). "Rheology of emulsions". *Advanced Colloids and Interface Science* 151(1-2): 1-23.
- Dickinson, E.; Goller, M. I. and Wedlock, D. J. (1993). "Creaming and rheology of emulsions containing polysaccharide and non-ionic or anionic surfactants". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 75: 195-201.
- Draper, N. R. and Smith, H. (1998). *Applied regression analysis*. Third edition. John Wiley&Sons.
- Dunstan, T. S. and Fletcher, P. D. (2011). "Compartmentalization and separation of aqueous reagents in the water droplets of water-in-oil high internal phase emulsions". *Langmuir* 27(7): 3409-3415.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Espelt, L.; Clapés, P.; Esquena, J.; et al. (2003). "Enzymatic carbon-carbon bond formation in water-in-oil highly concentrated emulsions (gel emulsions)". *Langmuir* 19: 1337-1346.
- Esposito, E.; Bortolotti, F.; Nastruzzi, C.; et al. (2003). "Diffusion of preservatives from topical dosage forms: a comparative study". *Journal of Cosmetic Science* 54: 239-250.
- Esquena, J.; Sankar, G. R. and Solans, C. (2003). "Highly concentrated W/O emulsions prepared by the PIT method as templates for solid foams". *Langmuir* 19(7): 2983-2988.
- Esquena, J. and Solans, C. (2006). "Highly concentrated emulsions as templates for solid foams". In "Emulsions and emulsion stability" (Ed. J. Sjöblom) Francis & Taylor (Surfactant Science Series), New York.
- Fa, N.; Babak, V. G. and Stébé, M.-J. (2004). "The release of caffeine from hydrogenated and fluorinated gel emulsions and cubic phases". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 243(1-3): 117-125.
- Fagron (2013). "Certificado de análisis de los Triglicéridos de cadena media". FDA. "U. S. Food and Drug Administration". from <http://www.fda.gov/>.
- Fick, A. (1855). "V. On liquid diffusion.". *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 10(63): 30-39.
- Florence, A. T. and Whitehill, D. (1982). "The formulation and stability of multiple emulsions". *International Journal of Pharmaceutics* 11: 277-308.
- Forgiarini, A.; Esquena, J.; González, C.; et al. (2001). "Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature". *Langmuir* 17: 2076-2083.
- Forgiarini, A.; Esquena, J.; González, C.; et al. (2002). "The Relation Between Phase Behavior and Formation of Narrow Size Distribution W/O Emulsions". *Journal of Dispersion Science and Technology* 23(1-3): 209-217.
- Formulacion (2013). Turbiscan Lab. brochure.
- Förster, T. and Rybinski, W. (1998). "Chapter 12: Applications of emulsions". In: "Modern aspects of emulsions science", (Ed. B. Binks), The Royal Society of Chemistry. UK: 395-426.
- Fredrick, E.; Walstra, P. and Dewettinck, K. (2010). "Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions". *Adv Colloid Interface Sci* 153(1-2): 30-42.

- Frith, W. J.; Pichot, R.; Kirkland, M.; et al. (2008). "Formation, stability, and rheology of particle stabilized emulsions: influence of multivalent cations". *Ind. Eng. Chem. Res.* 47: 6434-6444.
- Gao, W. and Legido-Quigley, C. (2011). "Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic creams for hydroquinone, phenol and six preservatives". *J Chromatogr A* 1218(28): 4307-4311.
- Gibaldi, M. and Feldman, S. (1967). "Establishment of Sink conditions in dissolution rate determinations. Theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms". *Journal of Pharmaceutical Sciences* 56(10): 1238 - 1242.
- Goupy, J. L. (1993). "Methods for experimental design. Principles and applications for physicists and chemists. Elsevier Science Publishers".
- Griffin, W. C. (1949). "Classification of surface-active agents by "HLB"". *Journal of Society of Cosmetic Chemists* 1: 311-326.
- Gutiérrez, G.; Matos, M.; Benito, J. M.; et al. (2014). "Preparation of HIPEs with controlled droplet size containing lutein". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 442(0): 111-122.
- Guy, R. H. and Hadgraft, J. (2003). *Transdermal drug delivery*. Second edition, revised and expanded. Marcel Dekker. New York.
- Hamaker, H. C. (1937). "The London-Van der Waals attraction between spherical particles". *Physica* IV 10: 1058-1072.
- Harusawa, F. and Mitsu, T. (1975). "Stability of emulsions". *progress in organic coatings* 3: 177-190.
- Higuchi, T. (1961). "Rate of release of medicaments form ointment bases containing drugs in suspension". *Journal of Pharmaceutical Sciences*(50): 874-875.
- Higuchi, W. I. (1962). "Analysis of data on drug release from ointments". *Journal of Pharmaceutical Sciences*(51): 802-804.
- Hoppe, J. and Melin, T. (2007). "A new technology for producing mono-disperse macroemulsions". *Journal of Membrane Science* 303(1-2): 100-111.
- Hosmer, D. W.; Lemeshow, S. and Sturdivant, R. W. (2013). *Applied Logistic Regression*. Third edition. Wiley Series in Probability and Statistics.
- Hunter, R. J. (1989). *Foundations of Colloid Science*. Oxford University Pres Inc., New York, 2, 908-947.
- Hunter, R. J. (2001). *Foundations of Colloid Science*. Second Edition. Oxford University Press Inc., New York.
- IUPAC (2014). *Compendium of chemical terminology*. Gold Book. Version 2.3.3.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Izquierdo, P.; Esquena, J.; Tadros, T. F.; et al. (2002). "Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method". *Langmuir* 18(1): 26-30.
- Jager-Lézer, N.; Tranchant, J.-F.; Alard, V.; et al. (1998). "Rheological analysis of highly concentrated W/O emulsions". *Rheol. Acta* 37: 129-138.
- Joscelyne, S. M. and Trägårdh, G. (2000). "Membrane emulsification - A literature review". *Journal of Membrane Science* 169(1): 107-117.
- Kopalli, S. R.; Noh, S. J.; Koppula, S.; et al. (2013). "Methylparaben protects 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells and improved behavioral impairments in mouse model of Parkinson's disease". *Neurotoxicology* 34: 25-32.
- Kruskal, W. H. (1957). "Historical Notes on the Wilcoxon Unpaired Two-Sample Test". *Journal of the American Statistical Association* 52(279): 356-360.
- Kumar, S.; Mathkar, S.; Romero, C.; et al. (2011). "Development and validation of a single RP-HPLC assay method for analysis of bulk raw materials batches of four parabens that are widely used as preservatives in pharmaceutical and cosmetics products". *Journal of Chromatographic Science* 49: 405-411.
- Kunieda, H.; Solans, C.; Shida, N.; et al. (1987). "The formation of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/Oil System". *Colloids and Surfaces* 24(2-3): 225-237.
- Kunieda, H.; Yano, N. and Solans, C. (1989). "The stability of gel-emulsions in a water/non-ionic surfactant/oil System". *Colloids and Surfaces* 36(3): 313-322.
- Kunieda, H.; Evans, D. F.; Solans, C.; et al. (1990). "The structure of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/oil system". *Colloids and Surfaces* 47(C): 35-43.
- Kunieda, H.; Fukui, Y.; Uchiyama, H.; et al. (1996). "Spontaneous formation of highly concentrated water-in-oil emulsions (gel-emulsions)". *Langmuir* 12(9): 2136-2140.
- Kunieda, H.; John, A. C.; Pons, R.; et al. (1997). "Chapter 9: Highly concentrated emulsions (gel emulsions): macro self-organizing structures" in "Structure-Performance Relationships in Surfactants", Marcel Dekker, (Surfactant Science Series), New York 360-393.
- Leal-Calderón, F.; Schmitt, V. and Bibette, J. (2010). *Emulsion science. Basic principles*. Second edition. Springer.
- Lendínez-Gris, M. C. (2005). *Máster Experimental en Ingeniería Química: Estudio de emulsiones altamente concentradas de tipo agua en aceite*

- (W/O) como medios de reacción en la oxidación de alcoholes a aldehídos. Universidad de Barcelona. Barcelona.
- Levin, M. (2006). "Pharmaceutical process scale-up". Second edition. Taylor&Francis (Drugs and the pharmaceutical sciences, vol. 157). New York.
- Li, C.; Mei, Z.; Liu, Q.; et al. (2010). "Formation and properties of paraffin wax submicron emulsions prepared by the emulsion inversion point method". *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* 356(1-3): 71-77.
- Lifshitz, I. M. and Slyozov, V. V. (1961). "The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions". *J. Phys. Chem. Solids* 19: 35-50.
- Lin, T. J.; Kurihara, H. and Ohta, H. (1975). "Effects of phase inversion and surfactant location on the formation of O/W emulsions". *J. Soc. Cosmet. Chem*(26): 121-139.
- Lissant, K. J. (1966). "The geometry of high-internal-phase-ratio emulsions". *Journal of Colloid and Interface Science* 22: 462-468.
- Lovell, M. S. and El-Aasser, P. A. (1997). *Emulsion polymerization and emulsion polymers*. John Wiley and Sons. England.
- Llinàs, M.; Calderó, G.; García-Celma, M. J.; et al. (2013). "New insights on the mechanisms of drug release from highly concentrated emulsions". *Journal of Colloid and Interface Science* 394(1): 337-345.
- Malkin, A. Y.; Masalova, I.; Slatter, P.; et al. (2004). "Effect of droplet size on the rheological properties of highly-concentrated w/o emulsions". *Rheol. Acta* 43: 584-591.
- Marszall, L. (1976). "Adsorption of nonionic surfactants at the oil-water interface and emulsion inversion point". *Colloid and Polymer Science Kolloid Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere* 254(7): 674-675.
- Masalova, I. and Kharatyan, E. (2013a). "Effect of silica particles on stability of highly concentrated water-in-oil emulsions with non-ionic surfactant". *Colloid Journal* 75(1): 95-102.
- Masalova, I.; Kharatyan, E. and Tshilumbu, N. N. (2013b). "Effect of the type of the oil phase on stability of highly concentrated water-in-oil emulsions". *Colloid Journal* 75(5): 579-585.
- Matos, M.; Suárez, M. A.; Gutiérrez, G.; et al. (2013). "Emulsification with microfiltration ceramic membranes: a different approach to droplet formation mechanism". *Journal of Membrane Science* 444: 345-358.

7. BIBLIOGRAFÍA

- May-Masnou, A.; Porras, M.; Maestro, A.; et al. (2013). "Scale invariants in the preparation of reverse high internal phase ratio emulsions". *Chemical Engineering Science* 101: 721-730.
- May-Masnou, A.; Ribó-Besolí, J.; Porras, M.; et al. (2014). "Scale-up model obtained from the rheological analysis of highly concentrated emulsions prepared at three scales". *Chemical Engineering Science* 111: 410-420.
- McClements, D. J. (2005). "Food emulsions. Principles, practices and techniques". Second edition. CRC Press. USA.
- Mengual, O.; Meunier, G.; Cayré, I.; et al. (1999). "TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis". *Talanta* 50: 445-456.
- Merck (2013). "Certificado de análisis del Aceite de parafina".
- Midmore, B. R. (1999). "Effect of aqueous phase composition on the properties of a silica-stabilized W/O emulsion". *Journal of Colloid and Interface Science* 213: 352-359.
- Miller, J. C. and Miller, J. N. (1993). *Estadística para química analítica*. Segunda edición. Addison-Wesley Iberoamericana.
- Miras, J.; Vílchez, S.; Solans, C.; et al. (2013). "Kinetics of chitosan hydrogel formation in high internal phase oil-in-water emulsions (HIPEs) using viscoelastic measurements". *Soft Matter* 9(36): 8678.
- Mollet, H. and Grubenmann, A. (2001). *Formulation Thechnology. Emulsions, suspensions, solid forms*. Wiley-VCH. New York.
- Montgomery, D. C. (2001). *Design and analysis of experiments*. Fifth edition. John Wiley & Sons.
- Nakajima, H.; Tomomasa, S. and Okabe, M. (1993). Preparation of nano-emulsions, *Recueil des resumes*, In: Premier congress mondial de l'emulsion, Paris, 1, 63.
- Narasimhan, T. N. (2004). "Fick's insights on liquid diffusion". *Eos, Transactions American Geophysical Union* 85(47): 499-501.
- Nestor, J.; Alejandro, V.; Solans, C.; et al. (2013). "Facile synthesis of meso/macroporous dual materials with ordered mesopores using highly concentrated emulsions based on a cubic liquid crystal". *Langmuir*.
- Overbeek, J. T. G. (1978). "The first Rideal lecture: Microemulsions, a field at the border between lyphobic and lypophilic colloids". *Faraday Discussions of the Chemical Society*(65): 7-19.

- Ozawa, K.; Solans, C. and Kunieda, H. (1997). "Spontaneous formation of highly concentrated oil-in-water emulsions". *Journal of Colloid and Interface Science* 188: 275-281.
- Pal, R. (1996). "Effect of droplet size on the rheology of emulsions". *AIChE Journal* 42(11): 3181-3190.
- Pal, R. (2006). "Rheology of high internal phase ratio emulsions". *Food Hydrocolloids* 20: 997-1005.
- Patist, A.; Bhagwat, S. S.; Penfield, K. W.; et al. (2000). "On the measurement of critical micelle concentrations of pure and technical-grade nonionic surfactans". *Journal of Surfactants and Detergents* 3(1): 53-58.
- Peña, D. (2002). *Análisis de datos multivariantes*. McGrawHill.
- Petsev, D. N. (2004). *Emulsions: structure stability and interactions*. Interface Science and technology. Elsevier.
- Pickering, S. U. (1907). "CXCVI. - Emulsions". *Journal of the Chemical Society, Transactions* 91: 2001-2021.
- Pons, R.; Erra, P.; Solans, C.; et al. (1993). "Viscoelastic properties of gel-emulsions: their relationship with structure and equilibrium". *Journal of Physics Chemistry* 97: 12320-12324.
- Pons, R.; Ravey, J. C.; Sauvage, S.; et al. (1993). "Structural studies on gel emulsions". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 76: 171-177.
- Porod, G. (1951). "The X-ray small-angle scattering of close-packed colloid systems". *Kolloid Zhurnal* 124: 83-114.
- Princen, H. M. (1979). "Highly concentrated emulsions I. Cylindrical systems". *Journal of Colloid and Interface Science* 71(1): 55-66.
- Princen, H. M. (1983). "Rheology of foams and highly concentrated emulsions I. Elastic properties and yield stress of a cylindrical model system". *Journal of Colloid and Interface Science* 91(1): 160-175.
- Princen, H. M. (1985). "Rheology of foams and highly concentrated emulsions II. Experimental study of the yield stress and wall effects for concentrated oil-in-water emulsions". *Journal of Colloid and Interface Science* 105(1): 150-171.
- Princen, H. M. (1986a). "Osmotic pressure of foams and highly concentrated emulsions. 1. Theroetical considerations". *Langmuir* 2(4): 519-524.
- Princen, H. M. and Kiss, A. D. (1986b). "Rheology of foams and highly concentrated emulsions III. Static shear modulus". *Journal of Colloid and Interface Science* 112(2): 427-437.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Princen, H. M. and Kiss, A. D. (1987). "Osmotic pressure of foams and highly concentrated emulsions. 2. Determination from the variation in volume fraction with height in an equilibrated column". *Langmuir* 3: 36-41.
- Princen, H. M. and Kiss, A. D. (1989). "Rheology of foams and highly concentrated emulsions IV. An experimental study of the shear viscosity and yield stress of concentrated emulsions". *Journal of Colloid and Interface Science* 128(1): 176-187.
- Ramsay, J. D. F. (1986). "Colloidal properties of synthetic hectorite clay dispersions. I. Rheology". *Journal of Colloid and Interface Science*(109): 441-447.
- Rathbone, M. J.; Hadgraft, J.; Roberts, M. S.; et al. (2008). *Modified-release drug delivery technology*. Second edition. Vol.2. Informa Healthcare. New York.
- Rocca, S.; García-Celma, M. J.; Calderó, G.; et al. (1998). "Hydrophilic model drug delivery from concentrated reverse emulsions". *Langmuir* 14(24): 6840-6845.
- Rocca, S.; Muller, S. and Stébé, M. J. (1999). "Release of a model molecule from highly concentrated fluorinated reverse emulsions Influence of composition variables and temperature". *Journal of Controlled Release* 61: 251-265.
- Routledge, E. J.; Parker, J.; Odum, J.; et al. (1998). "Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic". *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 153: 12-19.
- Rowe, R. C.; Sheskey, P. J. and Quinn, M. E. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. Sixth edition. Pharmaceutical Press. London.
- Ruckenstein, E. and Li, H. (1997). "The concentrated emulsion approach to toughened polymer composites: A review". *Polymer Composites* 18(3): 320-331.
- Sagitani, H. (1981). "Making homogeneous and fine droplet O/W emulsions using nonionic surfactants". *Journal of the American Oil Chemists Society*: 738-743.
- Saiki, Y.; Horn, R. G. and Prestidge, C. A. (2008). "Droplet structure instability in concentrated emulsions". *J Colloid Interface Sci* 320(2): 569-574.
- Saito, H. and Shinoda, K. (1967). "The solubilization of hydrocarbons in aqueous solutions of nonionic surfactants". *Journal of Colloid and Interface Science* 24(1): 10-15.

- Salager, J.-L.; Forgiarini, A.; Márquez, L.; et al. (2004). "Using emulsion inversion in industrial processes". *Advances in Colloid and Interface Science* 108-109: 259-272.
- Saleh, N.; Sarbu, T.; Sirk, K.; et al. (2005). "Oil-in-water emulsions stabilized by highly charged polyelectrolyte-grafted silica nanoparticles". *Langmuir* 21(22): 9873-9878.
- Schnablegger, H. and Singh, Y. (2013). *The SAXS guide. Getting acquainted with the principles*. Third edition. Anton Paar GmbH. Austria.
- Schramm, L. L. (2005). *Emulsions, foams, and suspensions. Fundamentals and applications*. Wiley-VCH.
- Shinoda, K. and Saito, H. (1968). "The effect of temperature on the phase equilibria and the types of dispersions of the ternary system composed of water, cyclohexane, and nonionic surfactant". *Journal of Colloid and Interface Science* 26: 70-74.
- Shinoda, K. and Saito, H. (1969). "The stability of O/W type emulsions as functions of temperature and the HLB of emulsifiers: the emulsification by PIT-method". *Journal of Colloid and Interface Science* 30(2): 258-263.
- Shinoda, K. and Sagitani, H. (1978). "Emulsifier selection in water/oil type emulsions by the hydrophile-lipophile balance-temperature system". *Journal of Colloid and Interface Science* 64(1): 68-71.
- Siepmann, J. and Siepmann, F. (2008). "Mathematical modeling of drug delivery". *International Journal of Pharmaceutics* 364(2): 328-343.
- Siepmann, J. and Peppas, N. A. (2011). "Higuchi equation: derivation, applications, use and misuse". *International Journal of Pharmaceutics* 418(1): 6-12.
- Siepmann, J. and Siepmann, F. (2012). "Modeling of diffusion controlled drug delivery". *J Control Release* 161(2): 351-362.
- Sigma-Aldrich (2013a). "Certificado de análisis del escualano".
- Sigma-Aldrich (2013b). "Boletín técnico del Tween80".
- Sigma-Aldrich (2013c). "Certificado de análisis del Metilparabeno".
- Sigma-Aldrich (2013d). "Certificado de análisis del Etilparabeno".
- Sigma-Aldrich (2013e). "Certificado de análisis del Propilparabeno".
- Sigma-Aldrich (2013f). "Especificaciones del Propilenglicol".
- Skamoto-Yakuhin-Kogyo (2013). "Certificado de análisis del IS-202P".

7. BIBLIOGRAFÍA

- Sohm, R. and Tadros, T. (1989). "Viscoelastic properties of sodium montmorillonite (gelwhite H) suspensions". *Journal of Colloid and Interface Science* 132(1): 62-71.
- Solans, C.; Azemar, N. and Parra, J. L. (1988). "High-internal-phase-volume emulsions in water/nonionic surfactant/hydrocarbon systems". *Progress in Colloid & Polymer Science* 76: 224-227.
- Solans, C.; Pons, R.; Zhu, S.; et al. (1993). "Studies on macro- and microstructures of highly concentrated water-in-oil emulsions (gel emulsions)". *Langmuir* 9(3): 1479-1482.
- Solans, C.; Pons, R. and Kunieda, H. (1998). "Gel-emulsions-relationship between phase behaviour and formation" in: "Modern Aspects of Emulsion Science" (Ed. B. Binks) The Royal Society of Chemistry U.K.: 367-394.
- Solans, C.; Pinazo, A.; Calderó, G.; et al. (2001). "Highly concentrated emulsions as novel reaction media". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 176: 101-108.
- Solans, C.; Esquena, J. and Azemar, N. (2003a). "Highly concentrated (gel) emulsions, versatile reaction media". *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 8: 156-163.
- Solans, C.; Izquierdo, P.; Esquena, J.; et al. (2003b). "Nano-emulsions. Formation, properties, and applications" in "Adsorption and Aggregation of Surfactants in Solution" (Mittal, K.; Dinesh O.), Marcel Dekker (Surfactant science series 109). New York.
- Solans, C.; Esquena, J.; Azemar, N.; et al. (2004). "Highly concentrated (gel) emulsions: formation and properties", in: "Emulsions: structure, stability and interactions", (Petsev, D.), Elsevier (Interface Science and technology). Interface science and technology. D. N. Petsev. 4.
- Solans, C.; Izquierdo, P.; Nolla, J.; et al. (2005). "Nano-emulsions". *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 10(3-4): 102-110.
- Solans, C. and Solé, I. (2012). "Nano-emulsions: Formation by low-energy methods". *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 17(5): 246-254.
- Soni, M. G.; Carabin, I. G. and Burdock, G. A. (2005). "Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens)". *Food Chem Toxicol* 43(7): 985-1015.
- StataCorp (2011). *Stata users guide*. Stata: Release 12. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP.

- Stokes, G. G. (1851). "On the effects of the internal friction of fluids on the motion of pendulums". Transactions of the Cambridge Philosophical Society 9: 1-86.
- TA-Instruments (2009). AR-G2 brochure. AR Rheometer Temperature Systems and Accessories.
- Tadros, T. (1990). "Use of viscoelastic measurements in studying interactions in concentrated dispersions". Langmuir 6(1): 28-35.
- Tadros, T. (2004). "Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions". Advances in Colloid and Interface Science 108-109: 227-258.
- Tadros, T. (2009). Emulsion science and technology. Wiley -VCH. Weinheim.
- Tadros, T. (2010). Rheology of dispersions. Principles and applications. Wiley-VCH. Germany.
- Tadros, T. (2013a). Emulsion formation and stability. Wiley-VCH. Germany.
- Tadros, T. (2013b). Encyclopedia of Colloid and Interface Science. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Taylor, P. (1995). "Ostwald ripening in emulsions". Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 99: 175-185.
- Taylor, P. (1998). "Ostwald ripening in emulsions". Advances in Colloid and Interface Science 75: 107-163.
- Tjaberinga, W. J.; Boon, A. and Chesters, A. K. (1993). "Model experiments and numerical simulations on emulsification under turbulent conditions". Chemical Engineering Science 48(2): 285-293.
- Tsaur, S.-L. and Fitch, R. M. (1987). "Preparation and properties of polystyrene model colloids". Journal of Colloid and Interface Science 115(2): 450-462.
- Usón, N. (2004). Tesis doctoral: Estudi de la formació de nano-emulsions del tipus aigua en oli (W/O). Universitat de Barcelona. Barcelona.
- Van Der Graaf, S.; Schroën, C. G. P. H. and Boom, R. M. (2005). "Preparation of double emulsions by membrane emulsification - A review". Journal of Membrane Science 251(1-2): 7-15.
- Vilasau, J.; Solans, C.; Gómez, M. J.; et al. (2011). "Influence of a mixed ionic/nonionic surfactant system and the emulsification process on the properties of paraffin emulsions". Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 392(1): 38-44.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Vilchez, A.; Rodriguez-Abreu, C.; Esquena, J.; et al. (2011). "Macroporous polymers obtained in highly concentrated emulsions stabilized solely with magnetic nanoparticles". *Langmuir* 27(21): 13342-13352.
- Vilchez, A.; Rodriguez-Abreu, C.; Menner, A.; et al. (2014). "Antagonistic effects between magnetite nanoparticles and a hydrophobic surfactant in highly concentrated Pickering emulsions". *Langmuir* 30(18): 5064-5074.
- Vílchez, S.; Pérez-Carrillo, L. A.; Miras, J.; et al. (2012). "Oil-in-alcohol highly concentrated emulsions as templates for the preparation of macroporous materials". *Langmuir* 28: 7614-7621.
- Vladisavljevic, G. T.; Tesch, S. and Schubert, H. (2002). "Preparation of water-in-oil emulsions using microporous polypropylene hollow fibers: influence of some operating parameters on droplet size distribution". *Chemical Engineering and Processing* 41: 231-238.
- Wagner, C. (1961). "Theorie der alterung von niederschlägen durch umlösen: Ostwald-Reifung (Theory of the aging of precipitates by dissolution-reprecipitation: Ostwald-ripening)". *Zeitschrift für Elektrochemie* 65: 581-591.
- Walstra, P. (1993). "Principles of emulsion formation". *Chemical Engineering Science* 48(2): 333-349.
- Wilcoxon, F. (1945). "Individual comparisons by ranking method". *Biometrics Bulletin*(1): 80-83.
- Williams, J. M. and Wroblewski, D. A. (1988). "Spatial distribution of the phases in water-in-oil emulsions. Open and closed microcellular foams from cross-linked polystyrene". *Langmuir* 4(3): 656-662.
- Yang, Y. and McClements, D. J. (2013). "Encapsulation of vitamin E in edible emulsions fabricated using a natural surfactant". *Food Hydrocolloids* 30: 712-720.
- Zhou, J.; Qiao, X.; Binks, B. P.; et al. (2011). "Magnetic pickering emulsions stabilized by Fe₃O₄ nanoparticles". *Langmuir* 27(7): 3308-3316.
- Zotou, A.; Sakla, I. and Tzanavaras, P. D. (2010). "LC-determination of five paraben preservatives in saliva and toothpaste samples using UV detection and a short monolithic column". *J Pharm Biomed Anal* 53(3): 785-789.

8. Glosario

Abreviaturas

ΔA	Incremento de área interfacial
ΔG	Energía libre de Gibbs
ΔS	Incremento de entropía del sistema.
Δp	Presión de Laplace
BS	Retrodifusión de luz o “backscattering”
C	Concentración
Crem.WO7	CremophorWO7
D	Coeficiente de difusión
d	Diámetro de gota
$D(3,2)$	Sumatorio de los diámetros elevados al cubo dividido por el sumatorio de los diámetros elevados al cuadrado.
$D(4,3)$	Sumatorio de los diámetros elevados a la cuarta dividido por el sumatorio de los diámetros elevados al cubo.
E_c	Energía de cohesión
EtP	Etilparabeno
FDA	U.S. Food and Drug Administration
FW	Fase acuosa
G	Módulo de cizalla estático
G'	Módulo elástico
G''	Módulo viscoso
G_A	Fuerzas de atracción de Van der Waals
HLB	Balance hidrófilo-lipófilo
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
J	Transferencia de materia por unidad de tiempo o flujo
MeP	Metilparabeno
MS	“Melting strain”
O	Aceite
O/S	Relación aceite/tensioactivo
O/W	Relación aceite/agua
PDI	Índice de polidispersidad

8. GLOSARIO

PG	Propilenglicol
Ph.Eur.	Farmacopea europea
PIT	Temperatura de inversión de fases
PrP	Propilparabeno
r	radio
Re	Número de Reynolds
ROW	Relación aceite/fase acuosa
S	Tensioactivo
Se	Superficie específica
t	tiempo
T	Temperatura
T HLB	Temperatura HLB
TGCM	Triglicéridos de cadena media
v	Velocidad de adición de fase acuosa
W	Agua
w	Velocidad de agitación
W/O	Relación agua/aceite
w/w	Relación peso/peso

Letras griegas

ϕ	Volumen de fase dispersa
γ	Velocidad de cizalla o "shear rate"
γ_c	Deformación crítica o "critical strain"
γ_m	"Melting strain"
η	Viscosidad
τ_{def}	Tiempo de deformación
ρ	Densidad
σ	Tensión de cizalla o "shear stress"
σ_y	Umbral de fluencia o "yield stress"
v_s	Velocidad de cremado o sedimentación

9. Anexos

A51.2.1. Estabilidad de las soluciones de parabenos

Resultados de las comparaciones mediante el test de Wilcoxon para evaluar la estabilidad de soluciones de metil/etil/propilparabeno (1:1:1 en peso) en agua/propilenglicol 90/10. La estabilidad se estudió tanto a 25 °C como a 5 °C, con y sin protección de la luz, y se cuantificó mediante HPLC, considerando la variación del porcentaje de área cromatográfica de cada parabeno con el tiempo (apartado 5.1.2).

Metilparabeno

25 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaM if nM=="MEP"& c=="25s", by(d)
```

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

d	obs	rank sum	expected
0	2	9	6
28	3	6	9
combined	5	15	15

unadjusted variance 3.00

adjustment for ties -0.15

adjusted variance 2.85

Ho: areaM(d==0) = areaM(d==28)

z = 1.777

Prob > |z| = 0.0756

25 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaM if nM=="MEP"& c=="25n", by(d)
```

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

d	obs	rank sum	expected
0	2	9	6
28	3	6	9
combined	5	15	15

unadjusted variance 3.00

adjustment for ties -0.15

adjusted variance 2.85

Ho: areaM(d==0) = areaM(d==28)

z = 1.777

Prob > |z| = 0.0756

9. ANEXOS

5 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaM if nM=="MEP"& c=="5s", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      d |      obs   rank sum   expected
-----+-----
      0 |         2         9         6
      28|         3         6         9
-----+-----
 combined|         5        15        15

unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      0.00
-----
adjusted variance      3.00

Ho: areaM(d==0) = areaM(d==28)
   z = 1.732
  Prob > |z| = 0.0833
```

5 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaM if nM=="MEP"& c=="5n", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      d |      obs   rank sum   expected
-----+-----
      0 |         2         9         6
      28|         3         6         9
-----+-----
 combined|         5        15        15

unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      0.00
-----
adjusted variance      3.00

Ho: areaM(d==0) = areaM(d==28)
   z = 1.732
  Prob > |z| = 0.0833
```

Etilparabeno

25 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaE if nM=="MEP"& c=="25s", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      d |      obs   rank sum   expected
-----+-----
      0 |         2         6         6
      28|         3         9         9
-----+-----
 combined|         5        15        15

unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      0.00
-----
adjusted variance      3.00

Ho: areaE(d==0) = areaE(d==28)
   z = 0.000
  Prob > |z| = 1.0000
```

25 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaE if nM=="MEP"& c=="25n", by(d)
```

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

d	obs	rank sum	expected
0	2	6	6
28	3	9	9
combined	5	15	15

unadjusted variance 3.00

adjustment for ties 0.00

adjusted variance 3.00

Ho: areaE(d==0) = areaE(d==28)

z = 0.000

Prob > |z| = 1.0000

5 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaE if nM=="MEP"& c=="5s", by(d)
```

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

d	obs	rank sum	expected
0	2	6.5	6
28	3	8.5	9
combined	5	15	15

unadjusted variance 3.00

adjustment for ties -0.30

adjusted variance 2.70

Ho: areaE(d==0) = areaE(d==28)

z = 0.304

Prob > |z| = 0.7609

5 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaE if nM=="MEP"& c=="5n", by(d)
```

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

d	obs	rank sum	expected
0	2	6	6
28	3	9	9
combined	5	15	15

unadjusted variance 3.00

adjustment for ties -0.15

adjusted variance 2.85

Ho: areaE(d==0) = areaE(d==28)

z = 0.000

Prob > |z| = 1.0000

9. ANEXOS

Propilparabeno

25 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaP if nM=="MEP"& c=="25s", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

d	obs	rank sum	expected
0	2	3	6
28	3	12	9
combined	5	15	15

```
unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      -0.15
-----
adjusted variance        2.85

Ho: areaP(d==0) = areaP(d==28)
z = -1.777
Prob > |z| = 0.0756
```

25 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaP if nM=="MEP"& c=="25n", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

d	obs	rank sum	expected
0	2	3	6
28	3	12	9
combined	5	15	15

```
unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      -0.15
-----
adjusted variance        2.85

Ho: areaP(d==0) = areaP(d==28)
z = -1.777
Prob > |z| = 0.0756
```

5 °C y con protección de luz

```
. ranksum areaP if nM=="MEP"& c=="5s", by(d)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

d	obs	rank sum	expected
0	2	3	6
28	3	12	9
combined	5	15	15

```
unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      -0.60
-----
adjusted variance        2.40

Ho: areaP(d==0) = areaP(d==28)
z = -1.936
Prob > |z| = 0.0528
```

5 °C y sin protección de luz

```
. ranksum areaP if nM=="MEP"& c=="5n", by(d)
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

d	obs	rank sum	expected
0	2	3	6
28	3	12	9
combined	5	15	15

```
unadjusted variance      3.00
adjustment for ties      0.00
-----
adjusted variance        3.00

Ho: areaP(d=0) = areaP(d=28)
z = -1.732
Prob > |z| = 0.0833
```

9. ANEXOS

A51.2.2. Comparación de tamaño de gota con y sin parabenos

Resultados de las comparaciones mediante el test de Wilcoxon para evaluar posibles diferencias en el tamaño de gota de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con y sin parabenos (apartado 5.1.2).

O/S 70/30 y FW 75 %

```
. ranksum d if OS ==1&FW==75, by(P)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

P	obs	rank sum	expected
Con parabeno	300	126247	92550
Sin parabeno	316	63789	97486
combined	616	190036	190036

```
unadjusted variance 4874300.00
adjustment for ties   -5815.40
-----
adjusted variance 4868484.60

Ho: d(P==Con parabenos) = d(P==Sin parabenos)
      z = 15.272
      Prob > |z| = 0.0000
```

O/S 90/10 y FW 75 %

```
. ranksum d if OS ==9&FW==75, by(P)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test
```

P	obs	rank sum	expected
Con parabeno	310	83122.5	83700
Sin parabeno	229	62407.5	61830
combined	539	145530	145530

```
unadjusted variance 3194550.00
adjustment for ties   -398.18
-----
adjusted variance 3194151.82

Ho: d(P==Con parabenos) = d(P==Sin parabenos)
      z = -0.323
      Prob > |z| = 0.7466
```

O/S 90/10 y FW 90 %

```
. ranksum d if OS ==9&FW==90, by(P)

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      P |      obs   rank sum   expected
-----+-----
Con parabeno |      334    171385    131095
Sin parabeno |      450    136335    176625
-----+-----
combined |      784    307720    307720

unadjusted variance  9832125.00
adjustment for ties   -6355.42
-----
adjusted variance  9825769.58

Ho: d(P==Con parabenos) = d(P==Sin parabenos)
      z = 12.853
      Prob > |z| = 0.0000
```

A52.2.1. Distribuciones de tamaño

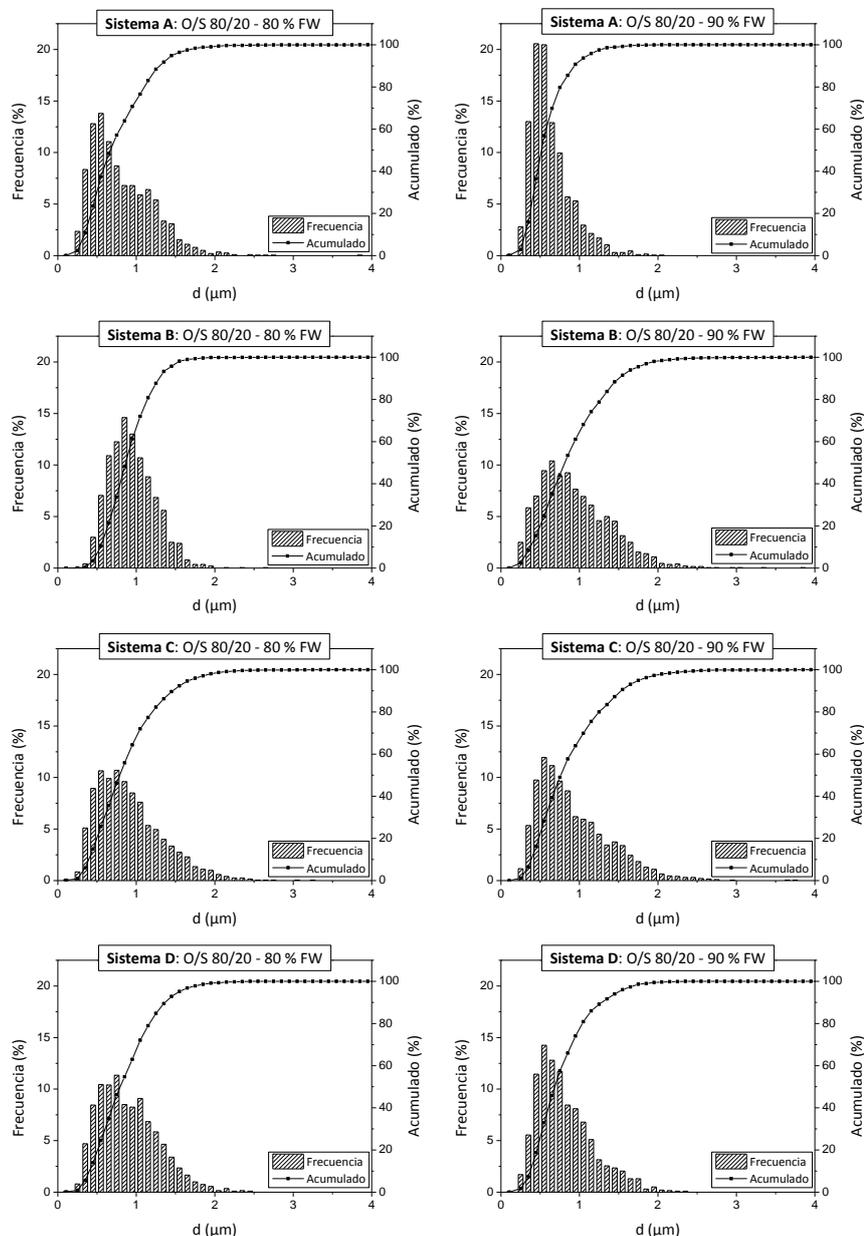


Figura 52.2.1. Distribuciones de tamaño de emulsiones de los sistemas **A** (solución acuosa/Span80/ aceite de parafina), **B** (solución acuosa/Span80/escualano), **C** (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina) y **D** (solución acuosa/IS-202P/escualano). La fase acuosa, FW, es una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y una concentración de 0,2 mg/mL de cada parabeno

A52.2.2. Test de Kruskal-Wallis

Comparación de las distribuciones de tamaño para los sistemas A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, B: solución acuosa/Span80/escualano, C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina, y D: solución acuosa/IS-202P/escualano.

Comparación por tensioactivos

```
. kwallis d, by(nS)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

nS	Obs	Rank Sum
Span80	8000	6.16e+07
IS-202P	8000	6.64e+07

```
chi-squared = 66.695 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 66.695 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

Comparación por aceites

```
. kwallis d, by(nO)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina	8000	5.90e+07
Escualano	8000	6.90e+07

```
chi-squared = 291.711 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 291.711 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

Comparación por porcentaje de fase acuosa

```
. kwallis d, by(FWi)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

FWi	Obs	Rank Sum
80	8000	6.84e+07
90	8000	5.96e+07

```
chi-squared = 228.963 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 228.963 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

9. ANEXOS

Sistema A: comparación por porcentaje de fase acuosa

```
. *Span80-aceite parafina
. kwallis d if nS ==1&nO==1, by(FWi)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

FWi	Obs	Rank Sum
80	2000	4.56e+06
90	2000	3.44e+06

```
chi-squared = 234.962 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 234.964 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

Sistema B: comparación por porcentaje de fase acuosa

```
. *Span80-escualano
. kwallis d if nS ==1&nO==2, by(FWi)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

FWi	Obs	Rank Sum
80	2000	4.14e+06
90	2000	3.86e+06

```
chi-squared = 15.067 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 15.067 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

Sistema C: comparación por porcentaje de fase acuosa

```
. *S-Face IS-202P-aceite parafina
. kwallis d if nS ==2&nO==1, by(FWi)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

FWi	Obs	Rank Sum
80	2000	4.03e+06
90	2000	3.97e+06

```
chi-squared = 0.725 with 1 d.f.
probability = 0.3944
```

```
chi-squared with ties = 0.725 with 1 d.f.
probability = 0.3944
```

Sistema D: comparación por porcentaje de fase acuosa

```
. *S-Face IS-202P-escualano  
. kwallis d if nS ==2&nO==2, by(FWi)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

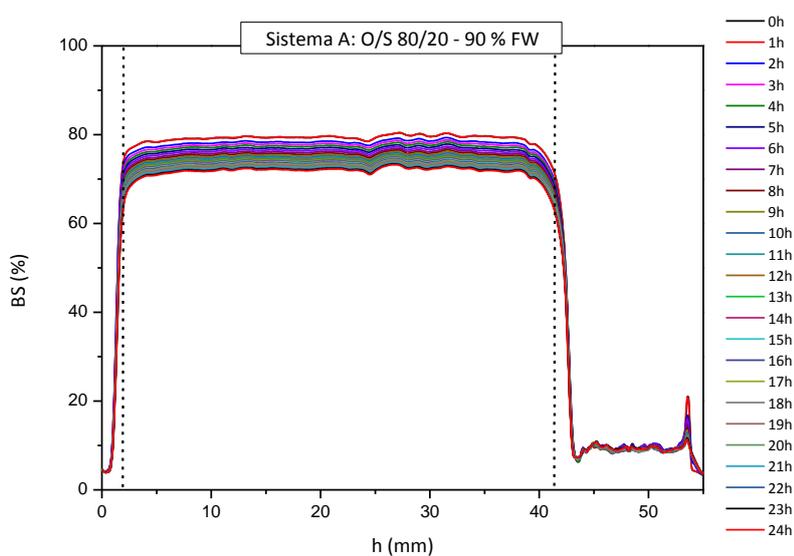
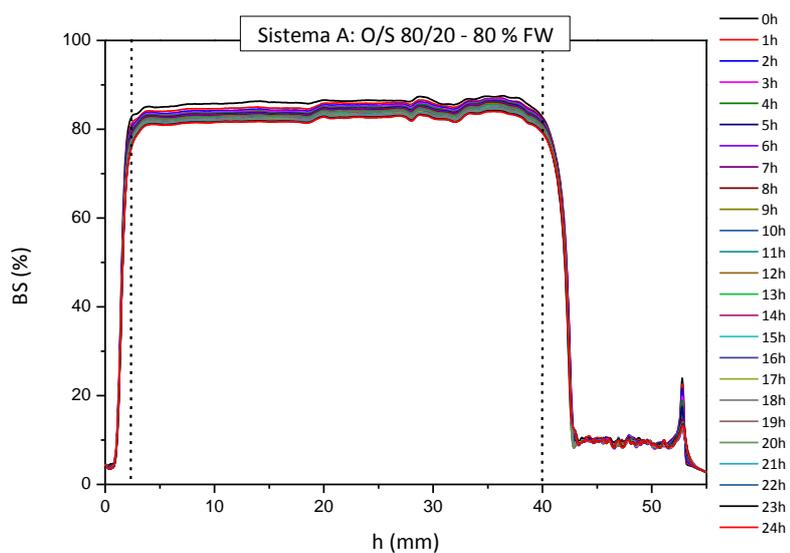
FWi	Obs	Rank Sum
80	2000	4.29e+06
90	2000	3.71e+06

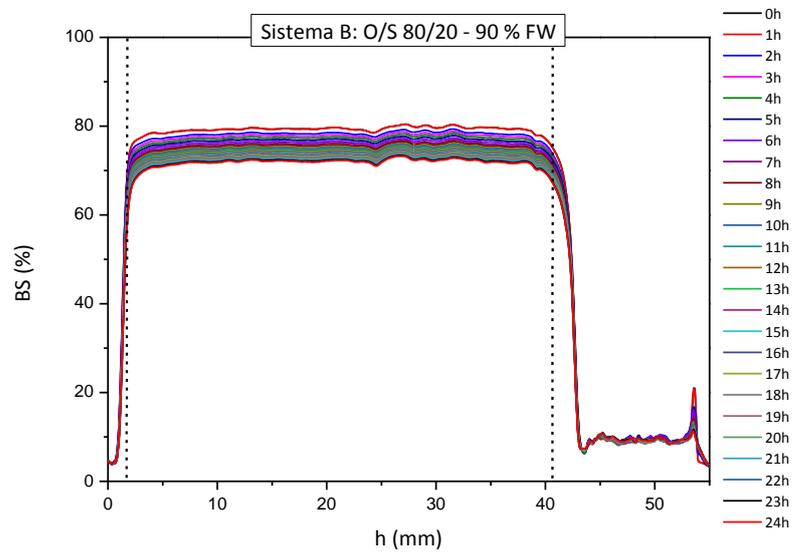
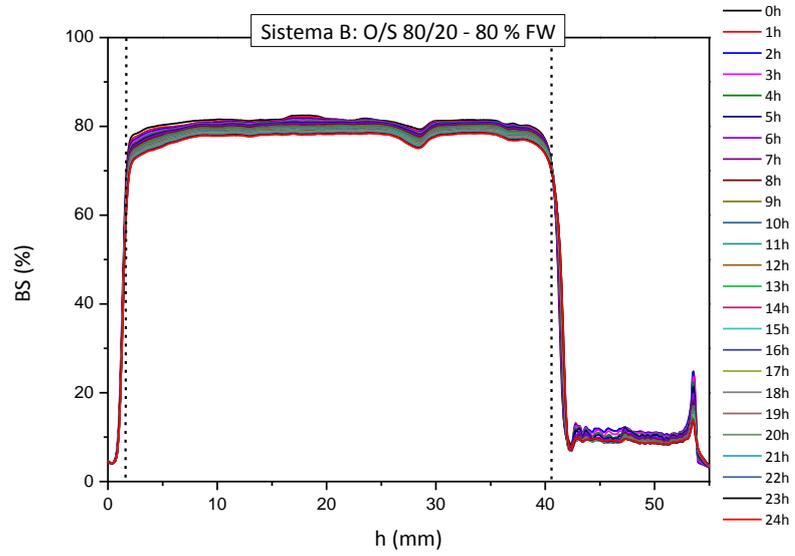
```
chi-squared = 62.627 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

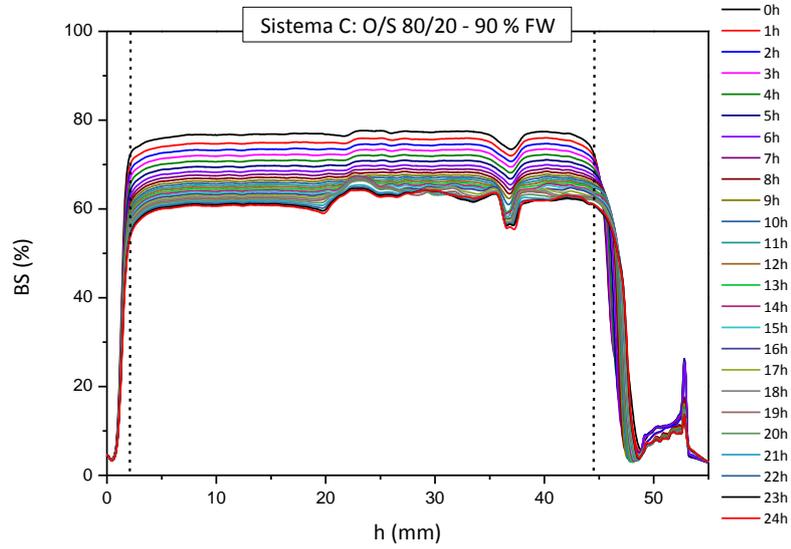
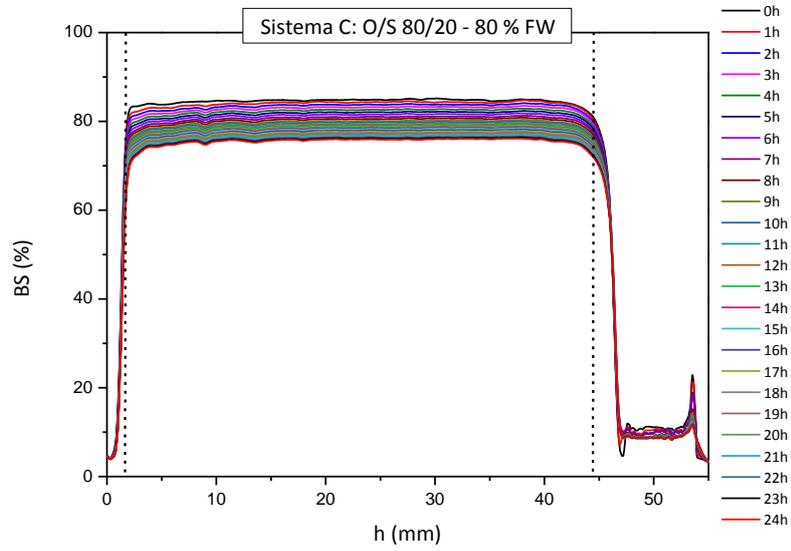
```
chi-squared with ties = 62.628 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

A52.2.3. Espectros de retrodifusión de luz o “backscattering” (BS)

Sistemas **A**: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, **B**: solución acuosa/ Span80/escualano, **C**: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y **D**: solución acuosa/IS-202P/escualano, dónde la solución acuosa es una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y con una concentración de 0,2 mg/mL de cada uno. Sólo tiene significado físico la zona del espectro situada entre las dos líneas discontinuas.







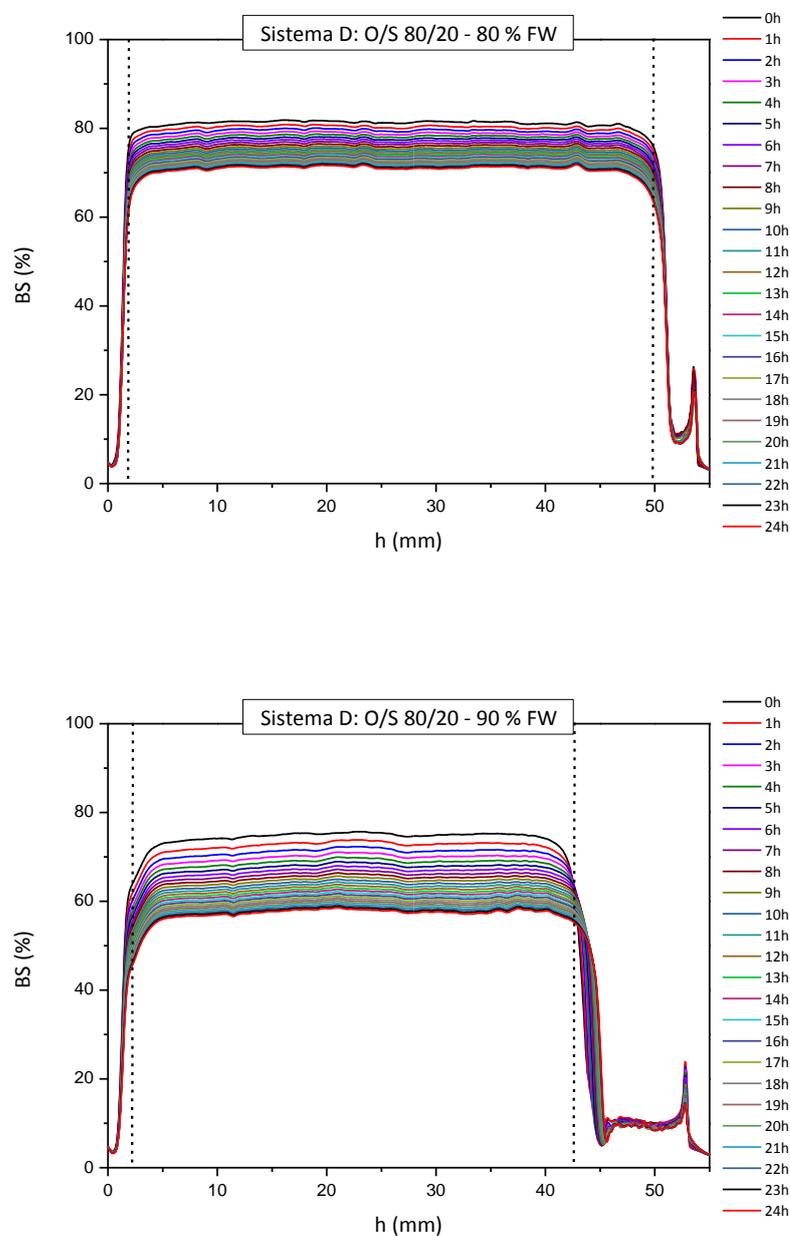


Figura 52.2.3. Espectros de retrodifusión de luz o “backscattering” (BS) a lo largo de la altura de la muestra (h) a 25 °C para emulsiones altamente concentradas de tipo W/O de los sistemas **A**: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, **B**: solución acuosa/ Span80/escualano, **C**: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y **D**: solución acuosa/IS-202P/escualano (solución acuosa formada por una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y con una concentración de 0,2 mg/mL de cada parabeno). Sólo tiene significado físico la zona del espectro situada entre las dos líneas discontinuas.

A52.2.4. Disminución backscattering (BS) vs tiempo

Tabla 52.2.4. Porcentaje de variación del “backscattering” (BS) respecto al tiempo para una altura de muestra de 10-40 mm a 25 °C. Sistema **A**: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, **B**: solución acuosa/Span80/escualano, **C**: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y **D**: solución acuosa/IS-202P/escualano (O/S 80/20 y 80 y 90% de fase acuosa, FW, formada por una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10 con una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno).

Tiempo (h)	Disminución BS 10 mm - 40 mm (%)							
	Sistema A		Sistema B		Sistema C		Sistema D	
	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW	80 % FW	90 % FW
0,00	86,30	79,47	81,18	73,86	84,80	76,87	81,46	75,00
0,01	86,28	79,46	81,16	73,83	84,79	76,85	81,42	74,98
0,02	86,28	79,45	81,16	73,81	84,78	76,84	81,42	74,96
1,02	85,52	78,91	80,91	72,22	84,28	75,15	80,42	72,98
2,02	85,15	78,35	80,76	71,11	83,70	73,79	79,63	71,43
3,02	84,88	77,84	80,62	70,18	83,13	72,55	78,92	70,15
4,02	84,64	77,38	80,44	69,39	82,55	71,29	78,31	69,02
5,02	84,40	76,89	80,26	68,68	82,00	70,07	77,72	68,01
6,02	84,23	76,43	80,09	68,05	81,49	68,96	77,19	67,09
7,02	84,12	76,01	79,90	67,50	80,95	68,13	76,68	66,25
8,02	83,96	75,63	79,73	67,01	80,50	67,43	76,15	65,50
9,02	83,84	75,28	79,58	66,56	80,09	66,78	75,68	64,78
10,02	83,70	74,99	79,42	66,18	79,74	66,25	75,27	64,12
11,02	83,59	74,71	79,27	65,81	79,39	65,75	74,91	63,50
12,02	83,48	74,45	79,13	65,47	79,06	65,37	74,56	62,92
13,02	83,38	74,20	78,99	65,17	78,73	65,02	74,23	62,36
14,02	83,28	73,97	78,85	64,88	78,44	64,65	73,91	61,86
15,02	83,18	73,74	78,72	64,61	78,14	64,28	73,61	61,36
16,02	83,09	73,55	78,59	64,35	77,86	63,97	73,32	60,89
17,02	83,01	73,35	78,48	64,12	77,59	63,69	73,04	60,44
18,02	82,92	73,18	78,37	63,87	77,35	63,43	72,79	60,01
19,02	82,84	73,00	78,25	63,65	77,11	63,10	72,50	59,60
20,02	82,75	72,79	78,14	63,43	76,86	62,84	72,26	59,19
21,02	82,64	72,61	78,02	63,22	76,60	62,49	72,00	58,80
22,02	82,52	72,42	77,89	63,02	76,35	62,23	71,74	58,43
23,02	82,43	72,23	77,77	62,78	76,11	61,95	71,49	58,07
24,02	82,33	72,06	77,68	62,60	75,87	61,79	71,22	57,71

A52.2.5. Distribuciones de tamaño antes de la desestabilización

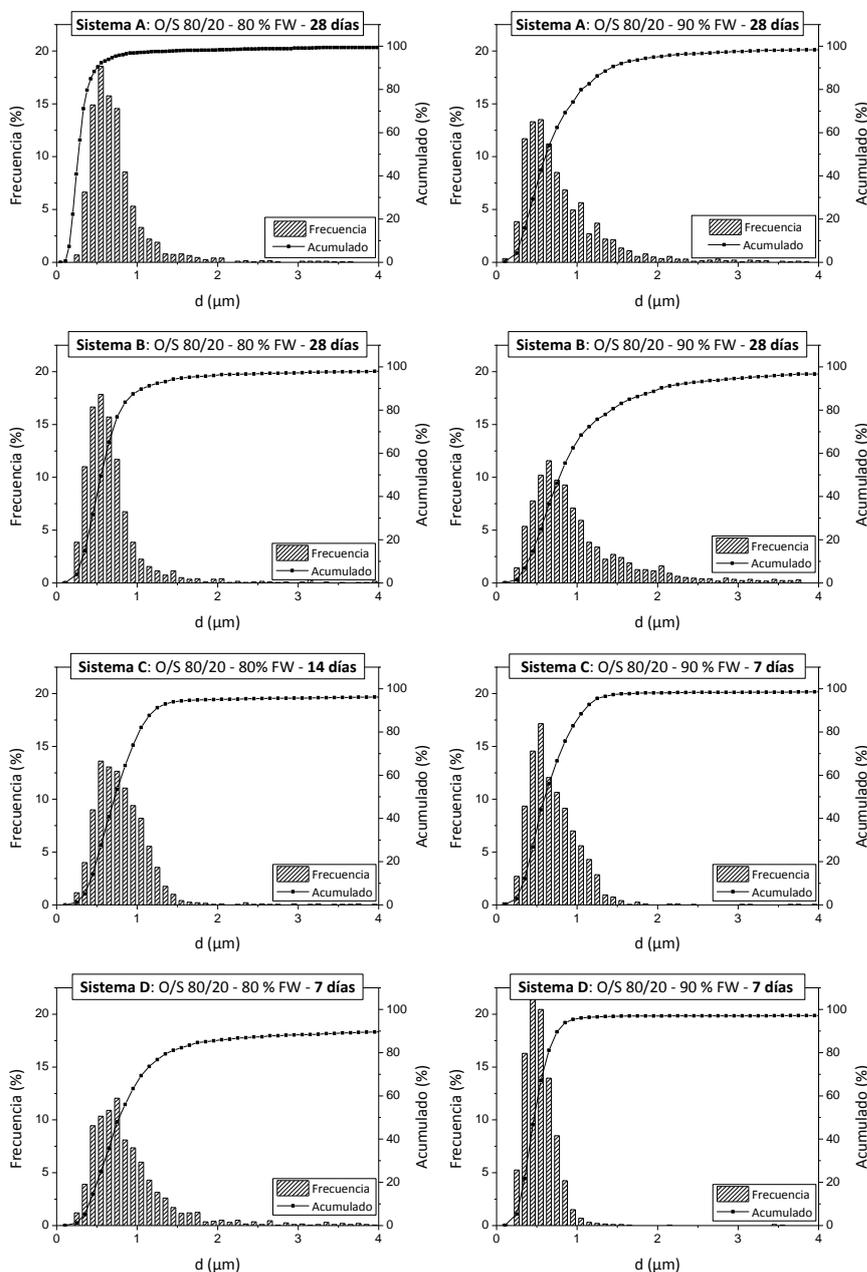


Figura 52.2.5. Distribuciones de tamaño antes de la desestabilización de emulsiones de los sistemas **A** (solución acuosa/Span80/aceite de parafina), **B** (solución acuosa/ Span80/escualano), **C** (solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina) y **D** (solución acuosa/IS-202P/escualano). La fase acuosa, FW, es una mezcla de metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en agua/propilenglicol 90/10, y una concentración de 0,2 mg/mL de cada parabeno

A52.2.6. Tamaños de gota y polidispersidad respecto al tiempo

Tabla 52.2.6. Evolución de la mediana del diámetro de gota (d) y del índice de polidispersidad (PDI) con el tiempo, a 25 °C, para las emulsiones altamente concentradas de tipo W/O formadas con Span80 e IS-202P (O/S 80/20; FW: fase acuosa de composición agua/propilenglicol (90/10) con metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno; P5: percentil al 5 %; P95: percentil al 95 %).

Nº	Sistema	Tensioactivo/ aceite	FW (%)	Tiempo (días)	d (µm)	P5	P95	PDI			
1	A	Span80/ aceite de parafina	80	0	0,71	0,35	1,51	1,8			
2				1	0,63	0,32	1,35	1,9			
3				7	0,72	0,35	1,95	4,1			
4				14	0,80	0,43	1,76	4,9			
5				21	0,79	0,38	3,12	5,5			
6				28	0,66	0,38	1,66	18			
7			90	0	0,56	0,32	1,16	1,6			
8				1	0,94	0,49	4,78	2,9			
9				7	0,67	0,32	3,38	12			
10				14	0,73	0,36	2,10	16			
11				21	0,66	0,38	2,00	24			
12				28	0,67	0,31	2,05	37			
13	B	Span80/ escualano	80	0	0,91	0,53	1,47	1,3			
14				1	0,96	0,43	2,26	1,9			
15				7	0,62	0,32	2,16	5,9			
16				14	0,65	0,34	1,79	5,0			
17				21	0,62	0,37	1,27	13			
18				28	0,61	0,32	1,65	14			
19			90	0	0,86	0,35	1,76	1,7			
20				1	0,89	0,44	3,15	3,4			
21				7	0,67	0,35	2,32	11			
22				14	0,65	0,32	3,05	15			
23				21	0,76	0,41	1,99	17			
24				28	0,84	0,37	3,18	19			
25	C	IS-202P/ aceite de parafina	80	0	0,84	0,39	1,73	1,7			
26				1	1,5	0,56	5,88	2,8			
27				7	0,95	0,54	4,81	11			
28				14	0,77	0,40	2,00	15			
29				21	- ⁽¹⁾						
30				90	0	0,81	0,37	1,81	1,8		
31			1		0,94	0,43	2,54	3,0			
32			7		0,65	0,33	1,27	29			
33			14		- ⁽¹⁾						
36			D		IS-202P/ escualano	80	0	0,84	0,39	1,59	1,5
37							1	1,0	0,53	3,89	3,3
38				7			0,82	0,40	9,32	12	
39	14	- ⁽¹⁾									
40	90	0		0,73			0,37	1,55	1,6		
41		1		1,3			0,60	4,76	5,2		
42		7		0,51		0,30	0,97	19			
43		14		- ⁽¹⁾							

(1): emulsión desestabilizada

A52.2.7. Evolución de las distribuciones de tamaño de gota con el tiempo

Evolución de las distribuciones de tamaño con el tiempo para los sistemas A: solución acuosa/Span80/aceite de parafina, B: solución acuosa/Span80/escualano, C: solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y D: solución acuosa/IS-202P/escualano (relación O/S: 80/20; composición fase acuosa, FW: agua/propilenglicol (90/10) con metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno en una concentración de 0,2 mg/mL para cada uno).

Sistema A: 80 % FW

```
. kwallis d if nS ==1& nO ==1& w ==80, by(t)
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0	2000	1.21e+07
1	2000	9.84e+06
7	2000	1.20e+07
14	2000	1.37e+07
21	2000	1.35e+07
28	2000	1.08e+07

```
chi-squared = 473.717 with 5 d.f.
probability = 0.0001

chi-squared with ties = 473.719 with 5 d.f.
probability = 0.0001
```

Sistema A: 90 % FW

```
. kwallis d if nS ==1& nO ==1& w ==90, by(t)
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0	2000	8.89e+06
1	2000	1.62e+07
7	2000	1.17e+07
14	2000	1.25e+07
21	2000	1.15e+07
28	2000	1.13e+07

```
chi-squared = 1182.943 with 5 d.f.
probability = 0.0001

chi-squared with ties = 1182.949 with 5 d.f.
probability = 0.0001
```

9. ANEXOS

Sistema B: 80 % FW

```
. kwallis d if nS ==1& nO ==2& w ==80, by(t)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

t	Obs	Rank Sum
0	2000	1.58e+07
1	2000	1.56e+07
7	2000	1.03e+07
14	2000	1.09e+07
21	2000	9.76e+06
28	2000	9.64e+06

```
chi-squared = 1751.762 with 5 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 1751.768 with 5 d.f.  
probability = 0.0001
```

Sistema B: 90 % FW

```
. do "C:\Users\MC\AppData\Local\Temp\STD00000000.tmp"
```

```
. kwallis d if nS ==1& nO ==2& w ==90, by(t)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

t	Obs	Rank Sum
0	2000	1.24e+07
1	2000	1.37e+07
7	2000	1.02e+07
14	2000	1.02e+07
21	2000	1.14e+07
28	1737	1.10e+07

```
chi-squared = 435.927 with 5 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 435.928 with 5 d.f.  
probability = 0.0001
```

Sistema C: 80 % FW

```
. kwallis d if nS ==2& nO ==1& w ==80, by(t)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

t	Obs	Rank Sum
0	2000	6.79e+06
1	2000	1.09e+07
7	2000	8.25e+06
14	2000	6.09e+06

```
chi-squared = 1259.578 with 3 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 1259.581 with 3 d.f.  
probability = 0.0001
```

Sistema C: 90 % FW

```
. kwallis d if nS ==2& nO ==1& w ==90, by(t)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0	2000	6.25e+06
1	2000	7.12e+06
7	2000	4.64e+06

```
chi-squared = 525.700 with 2 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 525.702 with 2 d.f.
probability = 0.0001
```

Sistema D: 80 % FW

```
. kwallis d if nS ==2& nO ==2& w ==80, by(t)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0	2000	5.27e+06
1	2000	7.17e+06
7	2000	5.79e+06
14	2000	1.38e+07

```
chi-squared = 4347.294 with 3 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 4347.298 with 3 d.f.
probability = 0.0001
```

Sistema D: 90 % FW

```
. kwallis d if nS ==2& nO ==2& w ==90, by(t)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0	2000	5.71e+06
1	2000	8.91e+06
7	2000	3.39e+06

```
chi-squared = 2560.080 with 2 d.f.
probability = 0.0001
```

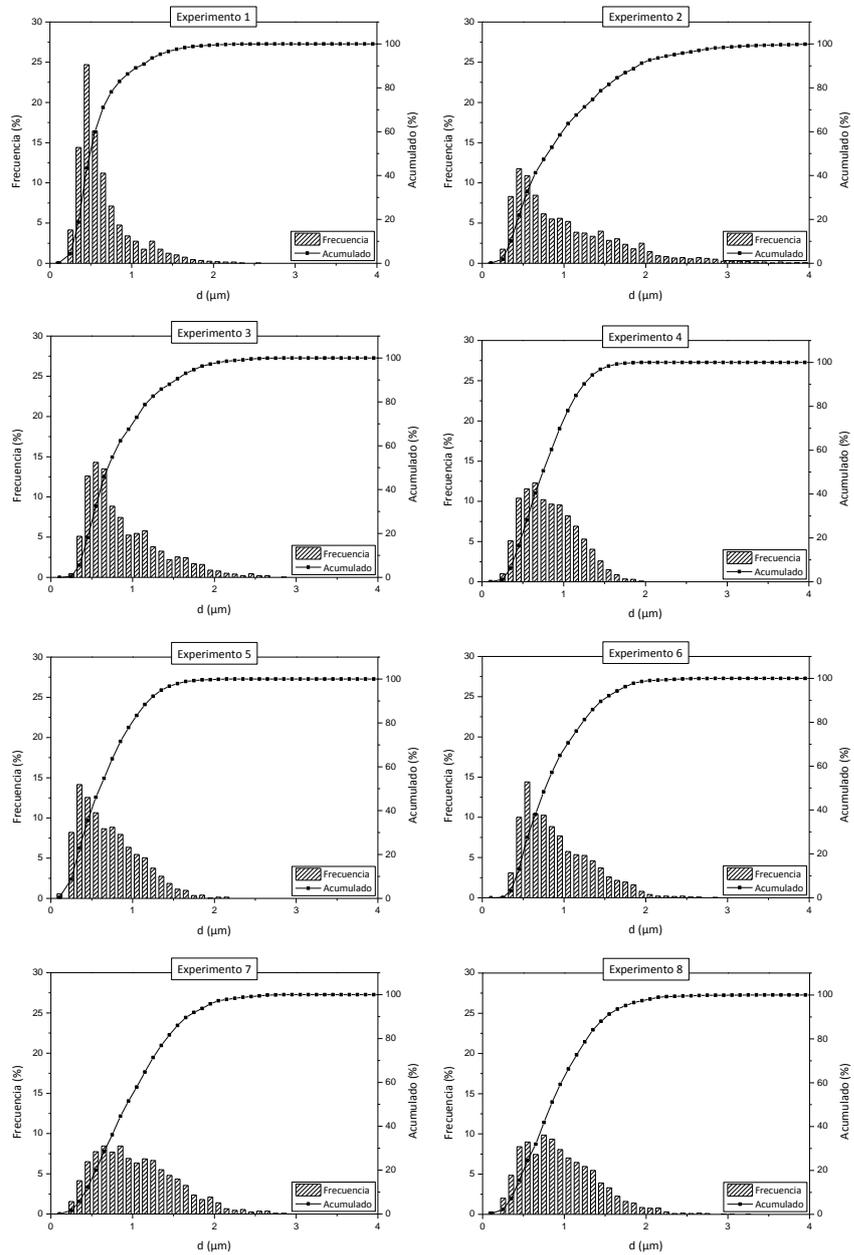
```
chi-squared with ties = 2560.087 with 2 d.f.
probability = 0.0001
```

A54.1.1. Matriz de un diseño de experimentos factorial 2^{6-2}

Tabla 54.1.1. Matriz de un diseño de experimentos factorial 2^4 completo (A, B, C, D), al que se han añadido dos factores adicionales (E y F), que se confunden con las interacciones ternarias ABC y BCD respectivamente, resultando así un diseño factorial 2^{6-2} .

Experimento	A	B	C	D	E	F
					(=ABC)	(=BCD)
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1	1	-1
3	-1	1	-1	-1	1	1
4	1	1	-1	-1	-1	1
5	-1	-1	1	-1	1	1
6	1	-1	1	-1	-1	1
7	-1	1	1	-1	-1	-1
8	1	1	1	-1	1	-1
9	-1	-1	-1	1	-1	1
10	1	-1	-1	1	1	1
11	-1	1	-1	1	1	-1
12	1	1	-1	1	-1	-1
13	-1	-1	1	1	1	-1
14	1	-1	1	1	-1	-1
15	-1	1	1	1	-1	1
16	1	1	1	1	1	1

A54.2.1. Distribuciones de tamaño



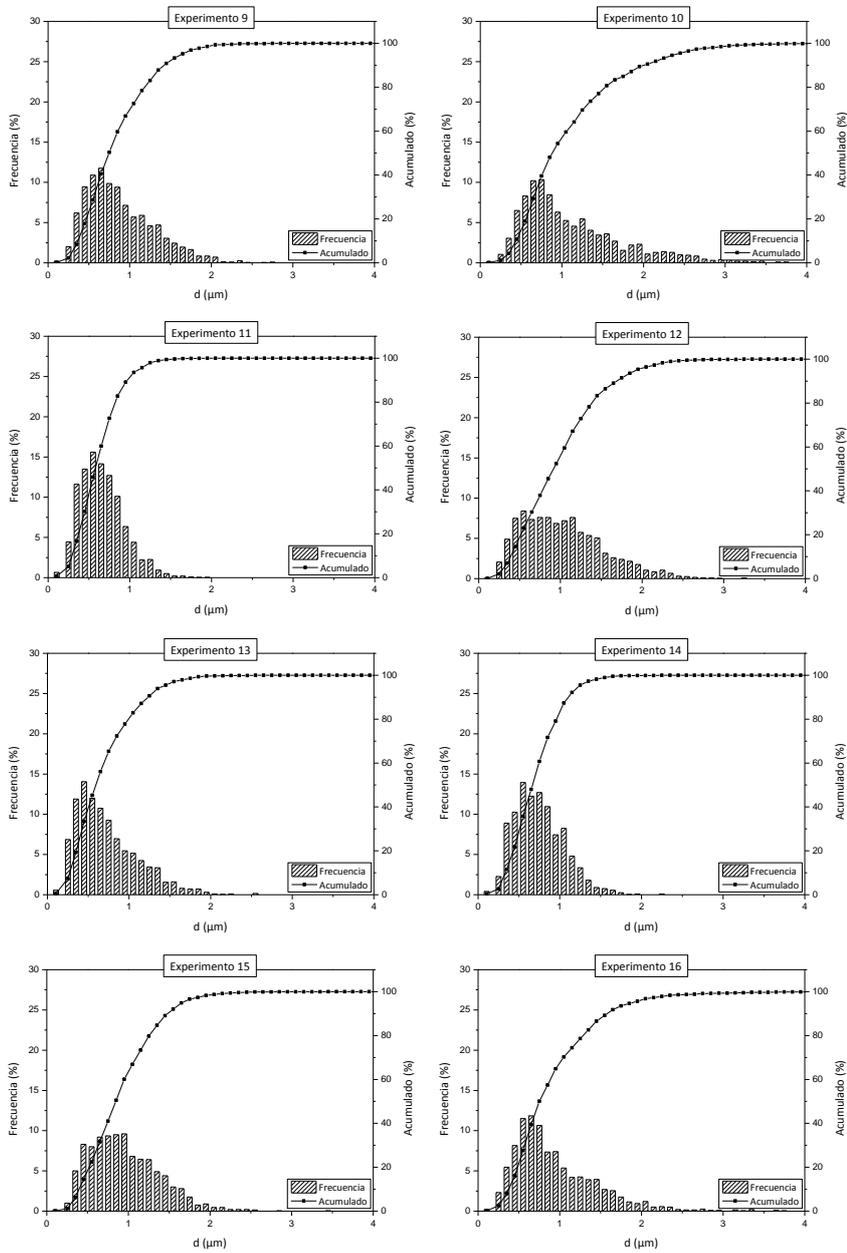
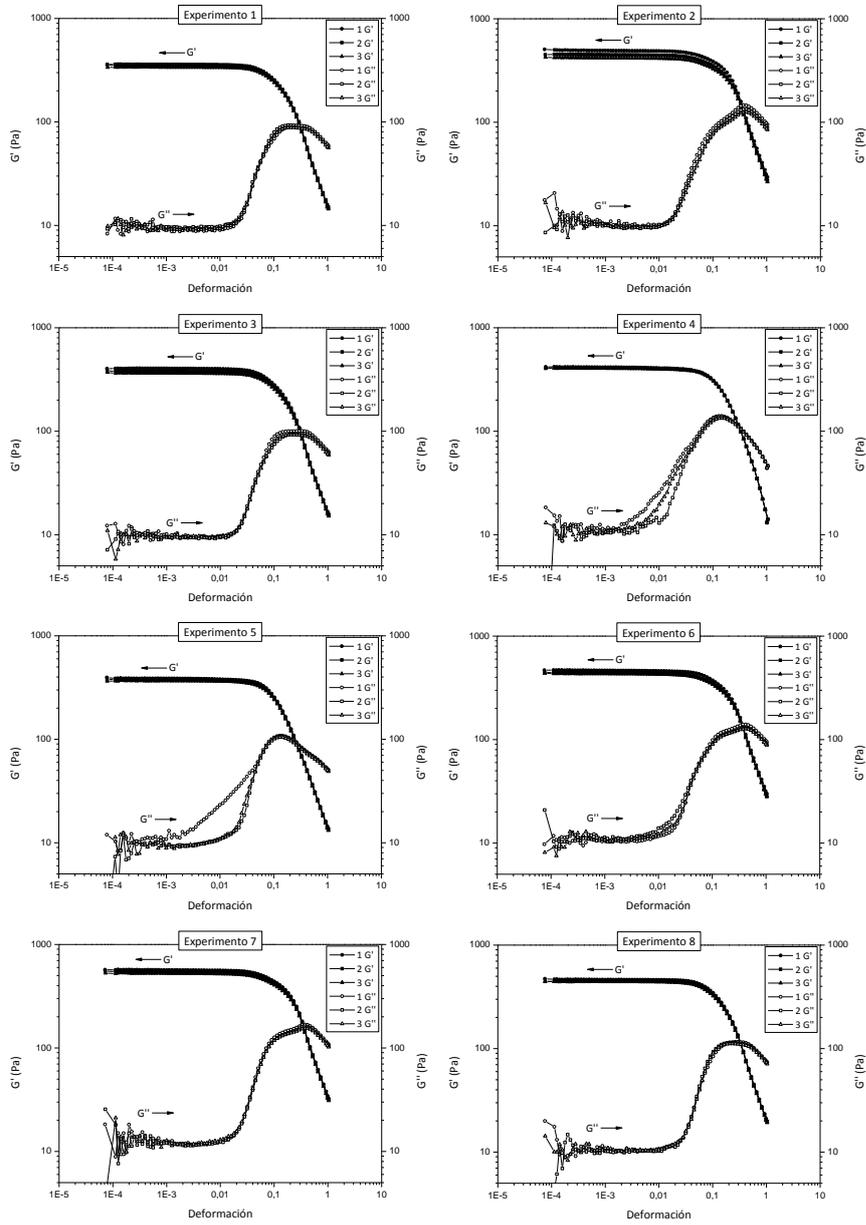


Figura 54.2.1. Distribuciones de tamaño de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo obtenidas en los 16 experimentos del diseño de experimentos factorial fraccionado.

A54.3.1. Reogramas: barridos de deformación



9. ANEXOS

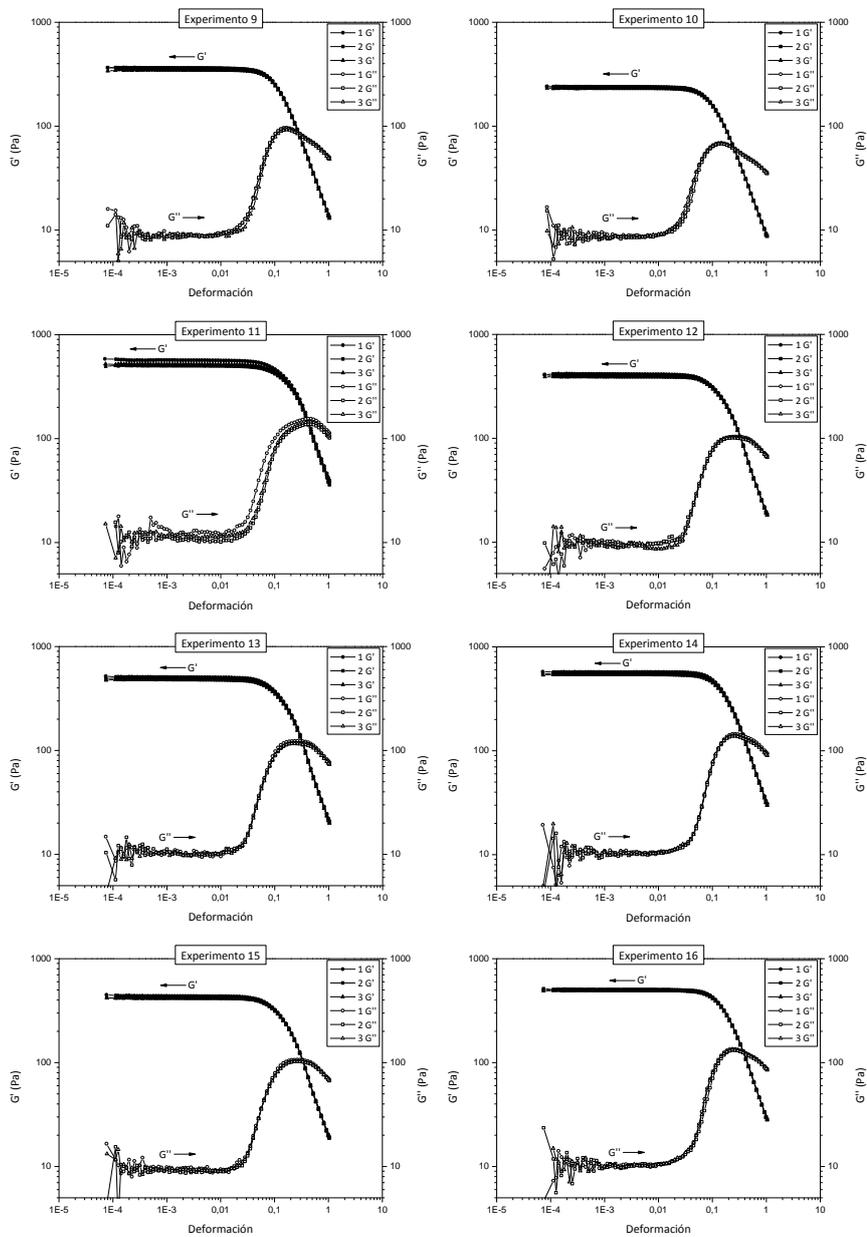
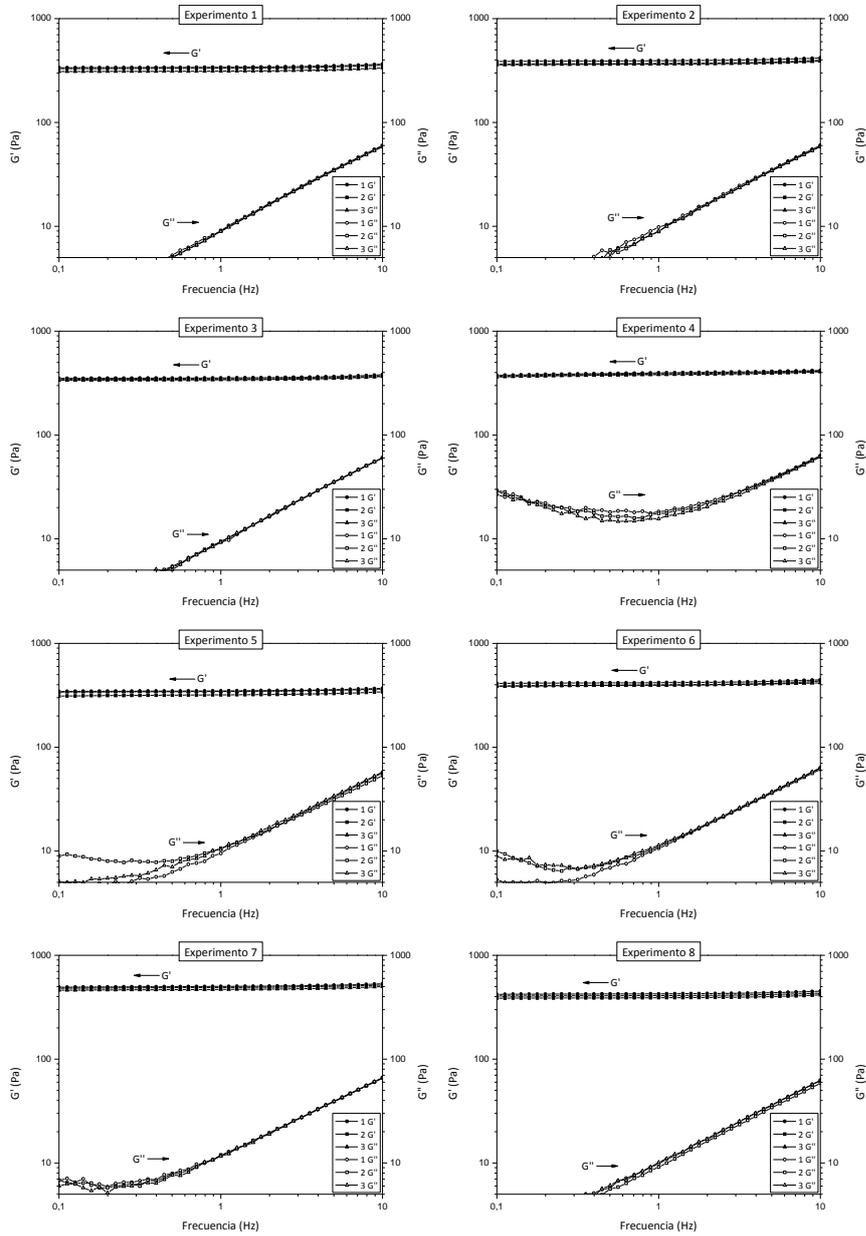


Figura 54.3.1. Barridos de deformación de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo obtenidos en los 16 experimentos del diseño de experimentos factorial fraccionado.

A54.3.2. Reogramas: barridos de frecuencia



9. ANEXOS

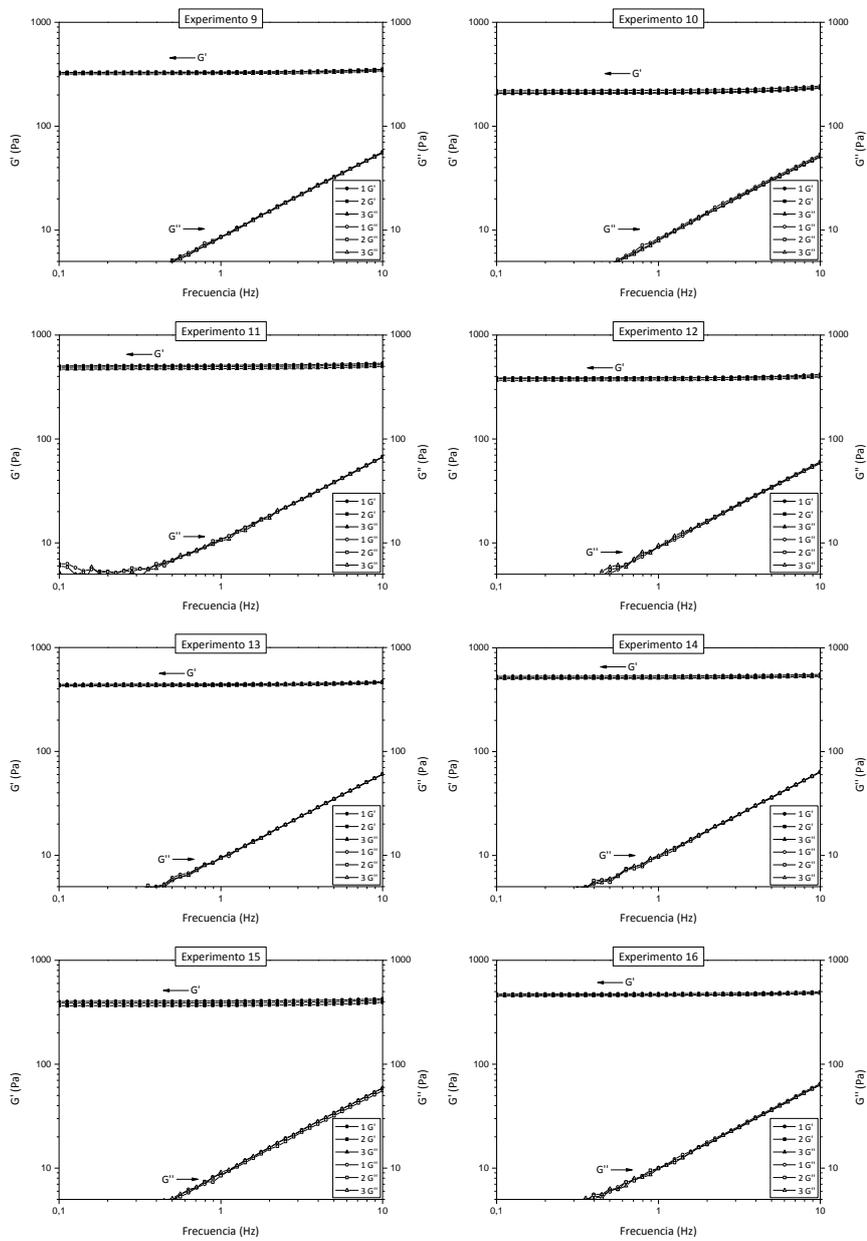
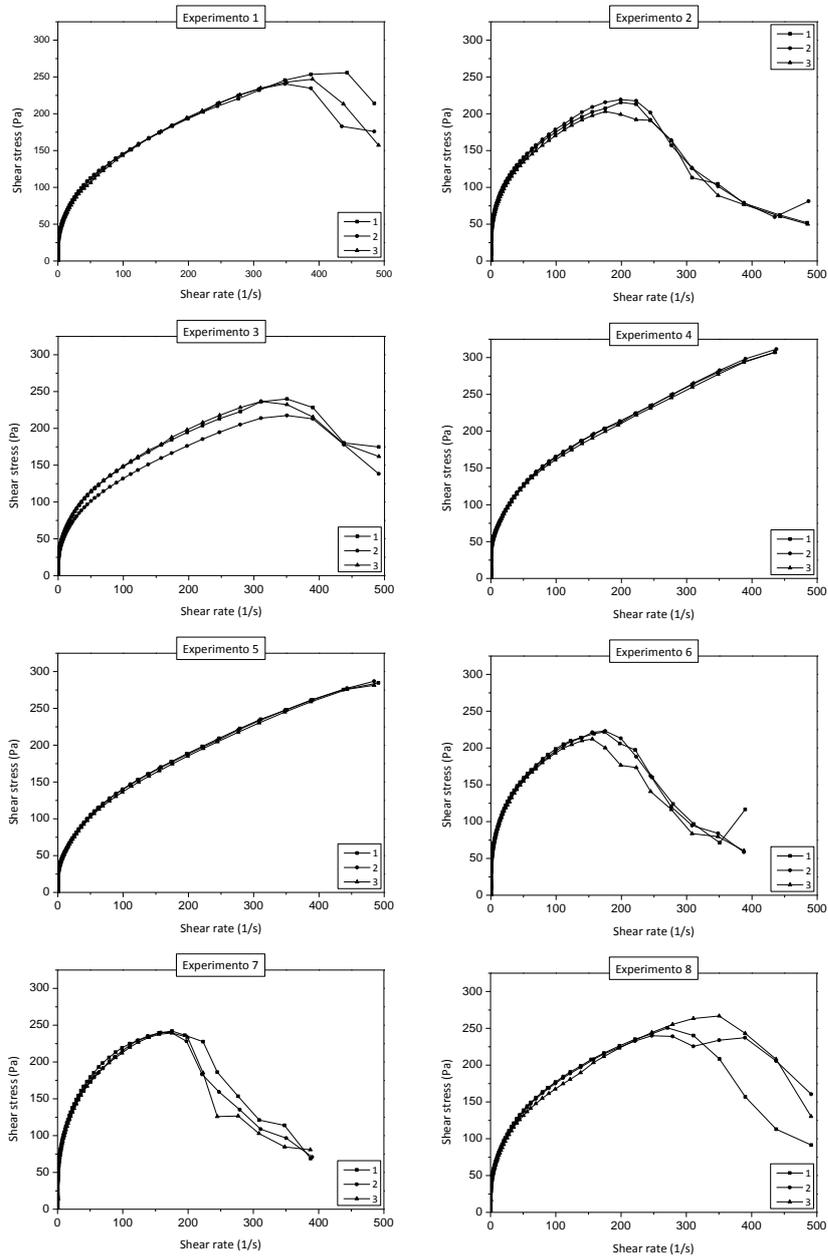


Figura 54.3.2. Barridos de frecuencia de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo obtenidos en los 16 experimentos del diseño de experimentos factorial fraccionado.

A54.3.3. Reogramas: ensayos de fluencia



9. ANEXOS

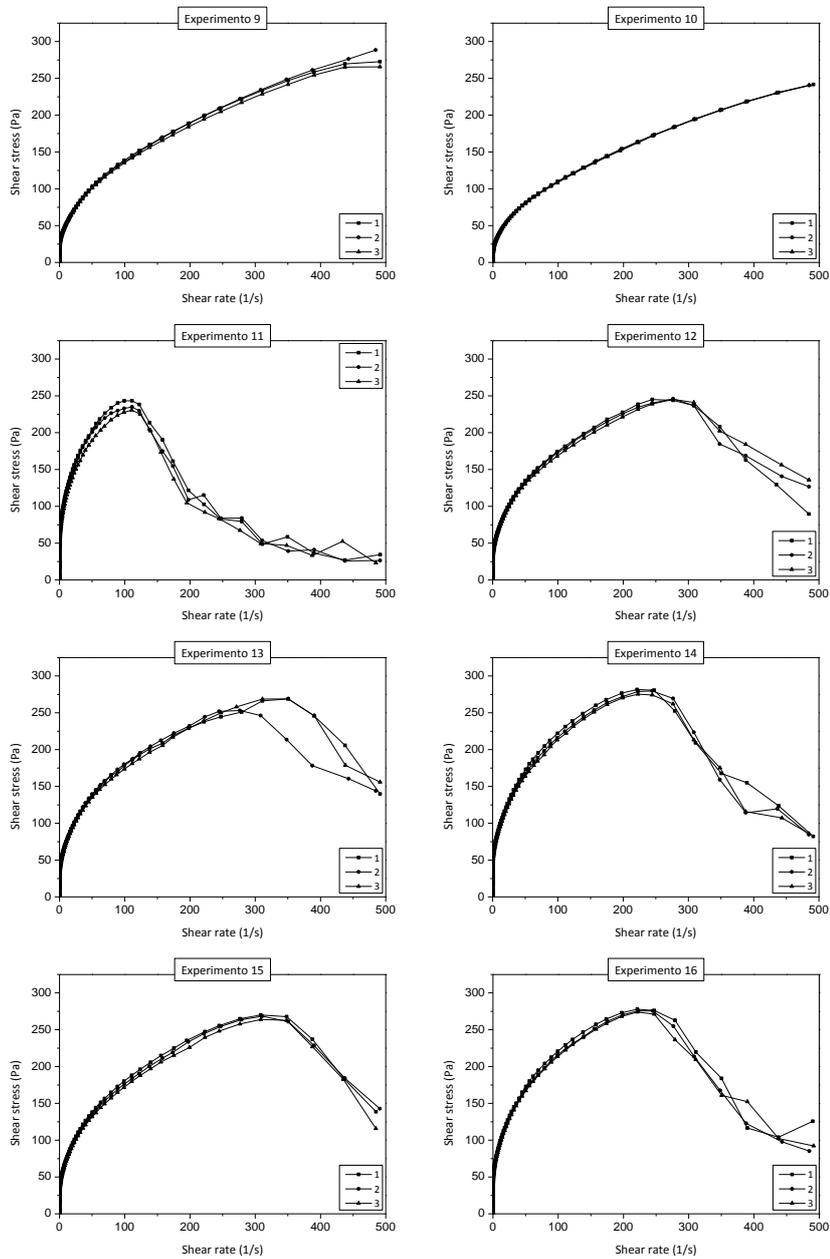
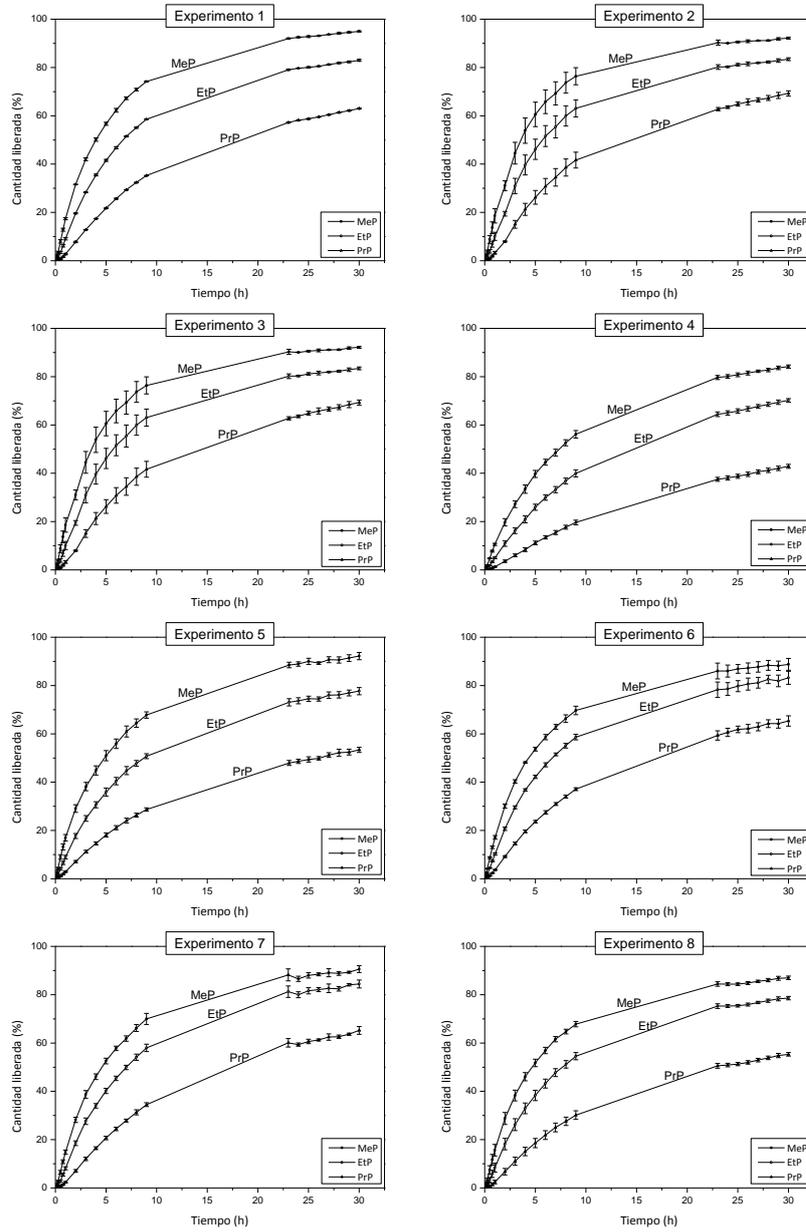


Figura 54.3.3. Ensayos de fluencia de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo obtenidos en los 16 experimentos del diseño de experimentos factorial fraccionado (shear stress: deformación de cizalla; shear rate: velocidad de deformación).

A54.4.1. Curvas de liberación



9. ANEXOS

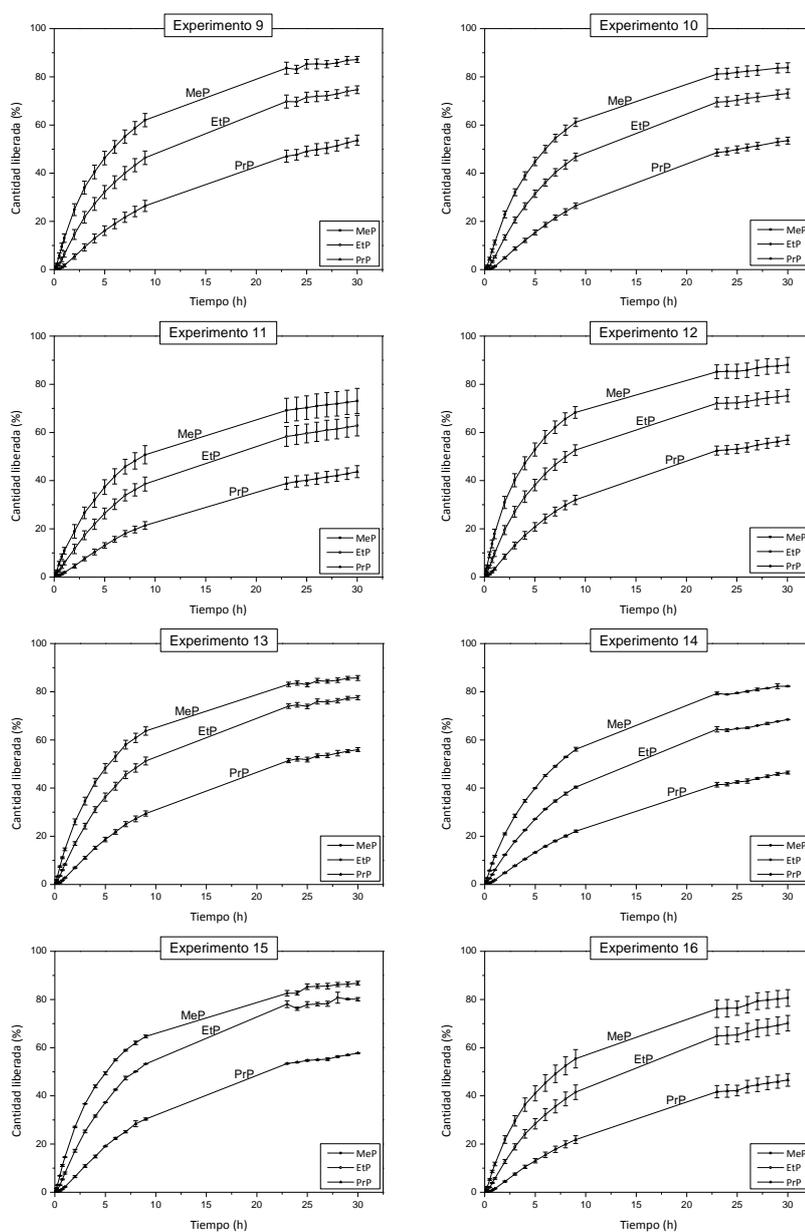


Figura 54.4.1. Curvas de liberación de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP) y propilparabeno (PrP), desde emulsiones altamente concentradas de tipo W/O del sistema modelo a soluciones receptoras, en los 16 experimentos del diseño de experimentos factorial fraccionado.

A54.4.2. Valores de significación en los modelos de liberación de metilparabeno

Tabla 54.4.2. Valores de significación (en tanto por uno) de los factores principales y las interacciones de los modelos hallados para el metilparabeno, y su evolución con el tiempo, t (A: porcentaje fase acuosa; B: relación O/S; C: velocidad de adición de fase acuosa; D: velocidad de agitación; probabilidad máxima debida al azar: 0,1% **negrita cursiva**, 1 % **negrita**, 5 % *cursiva*, 10 % normal).

t(h)	A	AA	B	BB	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD
4	0,004	0,067	0,000	-	-	-	-	<i>0,035</i>	0,005	-	0,065	-
8	<i>0,016</i>	-	0,000	-	-	-	0,061	-	0,028	-	-	-
24	-	-	0,000	-	<i>0,025</i>	-	0,009	-	0,006	<i>0,041</i>	-	-
30	-	-	0,000	-	<i>0,048</i>	-	0,000	-	0,001	-	-	-

A54.4.3. Valores de significación en los modelos de liberación de etilparabeno

Tabla 54.4.3. Valores de significación (en tanto por uno) de los factores principales y las interacciones de los modelos hallados para el etilparabeno, y su evolución con el tiempo, t (A: porcentaje fase acuosa; B: relación O/S; C: velocidad de adición de fase acuosa; D: velocidad de agitación; probabilidad máxima debida al azar: 0,1% **negrita cursiva**, 1 % **negrita**, 5 % *cursiva*, 10 % normal).

t(h)	A	AA	B	BB	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD
4	0,000	0,019	0,000	0,029	-	-	-	0,006	0,024	-	0,018	-
8	0,000	0,072	0,000	0,075	-	-	-	0,019	0,047	-	0,027	-
24	0,013	-	0,000	-	-	-	-	0,102	0,041	-	0,071	0,103
30	0,009	-	0,000	-	-	-	-	0,054	0,014	-	0,051	0,027

A54.4.4. Valores de significación en los modelos de liberación de propilparabeno

Tabla 54.4.4. Valores de significación (en tanto por uno) de los factores principales y las interacciones de los modelos hallados para el propilparabeno, y su evolución con el tiempo, t (A: porcentaje fase acuosa; B: relación O/S; C: velocidad de adición de fase acuosa; D: velocidad de agitación; probabilidad máxima debida al azar: 0,1% **negrita cursiva**, 1 % **negrita**, 5 % *cursiva*, 10 % normal).

t(h)	A	AA	B	BB	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD
4	0,000	-	0,000	-	-	-	0,004	-	0,099	-	-	<i>0,026</i>
8	0,000	-	0,000	-	-	-	-	<i>0,020</i>	0,068	-	0,056	-
24	0,000	-	0,000	-	-	-	-	-	0,001	-	-	-
30	0,000	-	0,000	-	-	-	0,004	-	0,001	-	-	-

A54.6.1. Distribuciones de tamaño, barridos de deformación y frecuencia de los escalados

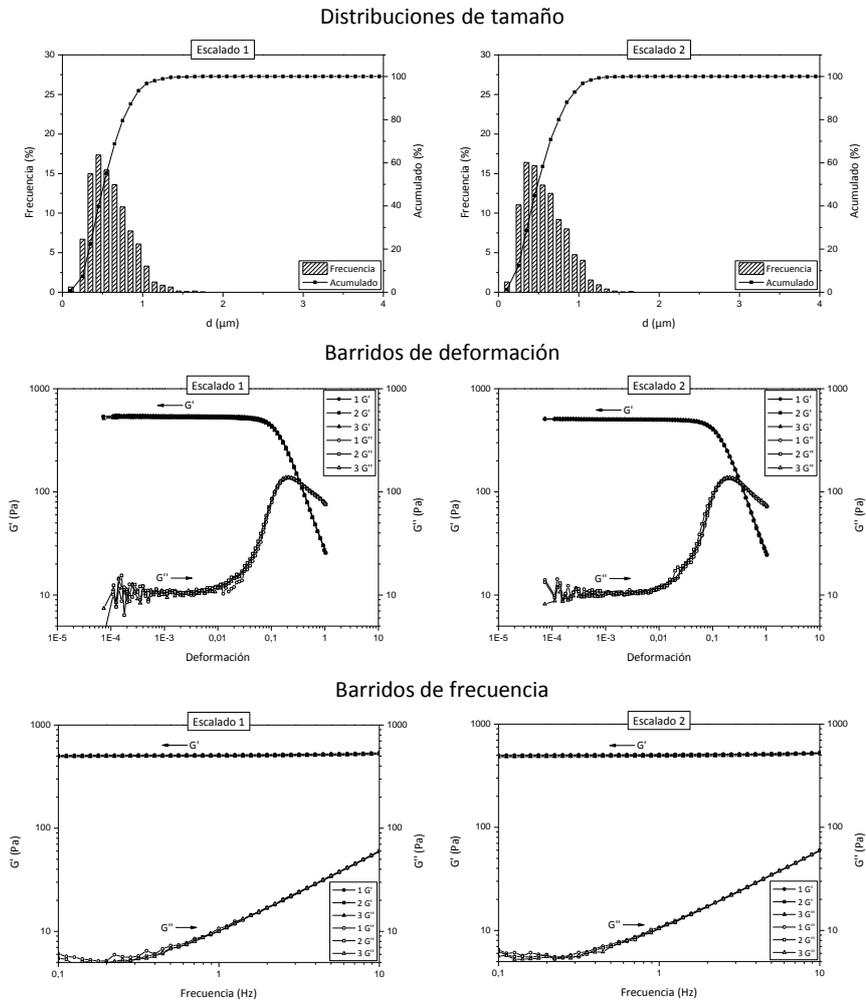


Figura 54.6.1. Distribuciones de tamaño de gota, barridos de deformación y de frecuencia obtenidos en los dos escalados. Los números 1, 2 y 3 hacen referencia a las réplicas.

A54.7.1. Comparación de la distribución de tamaño de la formulación óptima con otras formulaciones

Comparación distribuciones de tamaño para la emulsión optimizada del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con emulsiones de igual composición de los sistemas solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano (apartado 5.4.7).

Comparación para los distintos tensioactivos

```
. kwallis d, by(nS)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

nS	Obs	Rank Sum
Span80	8000	4.80e+07
IS-202P	8000	8.00e+07

```
chi-squared = 3000.124 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 3000.127 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

Comparación para los distintos aceites

```
. kwallis d, by(nO)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina	8000	6.55e+07
Escualano	8000	6.25e+07

```
chi-squared = 25.102 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 25.102 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

Comparación para los distintos tiempos

```
. kwallis d, by(t)
```

```
Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test
```

t	Obs	Rank Sum
0 días	8000	5.04e+07
1 día	8000	7.76e+07

```
chi-squared = 2176.163 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 2176.166 with 1 d.f.  
probability = 0.0001
```

9. ANEXOS

A54.7.2. Comparación de las propiedades reológicas de la formulación óptima con otras formulaciones

Comparación de las propiedades reológicas de la emulsión optimizada del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con emulsiones de igual composición de los sistemas solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano (apartado 5.4.7).

Comparación para los distintos aceites:

- deformación crítica

```
. kwallis critS, by(nO)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

	nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina		6	48.00
Escualano		6	30.00

```
chi-squared = 2.077 with 1 d.f.  
probability = 0.1495
```

```
chi-squared with ties = 2.084 with 1 d.f.  
probability = 0.1488
```

- "melting strain"

```
. kwallis meltS, by(nO)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

	nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina		6	46.00
Escualano		6	32.00

```
chi-squared = 1.256 with 1 d.f.  
probability = 0.2623
```

```
chi-squared with ties = 1.256 with 1 d.f.  
probability = 0.2623
```

- módulo elástico

```
. kwallis G, by(nO)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

	nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina		6	34.00
Escualano		6	44.00

```
chi-squared = 0.641 with 1 d.f.  
probability = 0.4233
```

```
chi-squared with ties = 0.641 with 1 d.f.  
probability = 0.4233
```

Comparación para los distintos tensioactivos:**- deformación crítica**

. kwallis critS, by(nS)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

nS	Obs	Rank Sum
Span80	6	21.00
IS-202P	6	57.00

chi-squared = 8.308 with 1 d.f.
 probability = 0.0039

chi-squared with ties = 8.337 with 1 d.f.
 probability = 0.0039

- "melting strain"

. kwallis meltS, by(nS)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

nS	Obs	Rank Sum
Span80	6	55.00
IS-202P	6	23.00

chi-squared = 6.564 with 1 d.f.
 probability = 0.0104

chi-squared with ties = 6.564 with 1 d.f.
 probability = 0.0104

- módulo elástico

. kwallis G, by(nS)

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

nS	Obs	Rank Sum
Span80	6	56.00
IS-202P	6	22.00

chi-squared = 7.410 with 1 d.f.
 probability = 0.0065

chi-squared with ties = 7.410 with 1 d.f.
 probability = 0.0065

A54.7.3. Comparación de la liberación de metilparabeno de la formulación óptima con otras formulaciones

Comparación de la liberación de metilparabeno incorporado en la emulsión optimizada del sistema solución acuosa/Span80/aceite de parafina, con emulsiones de igual composición de los sistemas solución acuosa/Span80/escualano, solución acuosa/IS-202P/aceite de parafina y solución acuosa/IS-202P/escualano (apartado 5.4.7).

Comparación para los distintos tensioactivos:

```
. kwallis MeP, by(nS)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

	nS	Obs	Rank Sum
Span80		12	124.00
IS-202P		12	176.00

```
chi-squared = 2.253 with 1 d.f.
probability = 0.1333
```

```
chi-squared with ties = 2.253 with 1 d.f.
probability = 0.1333
```

Comparación para los distintos aceites:

```
. kwallis MeP, by(nO)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

	nO	Obs	Rank Sum
Aceite de parafina		12	150.00
Escualano		12	150.00

```
chi-squared = 0.000 with 1 d.f.
probability = 1.0000
```

```
chi-squared with ties = 0.000 with 1 d.f.
probability = 1.0000
```

Comparación para los distintos tiempos:

```
. kwallis MeP, by(t)
```

Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

t	Obs	Rank Sum
8h	12	78.00
24h	12	222.00

```
chi-squared = 17.280 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

```
chi-squared with ties = 17.280 with 1 d.f.
probability = 0.0001
```

