

**MÁSTER EXPERIMENTAL EN QUÍMICA**

**MICROCÁPSULAS DE SÍLICE PREPARADAS A  
PARTIR DE SISTEMAS TENSIÓACTIVOS PARA  
LA LIBERACIÓN DE SUSTANCIAS ACTIVAS**

**Neus Vilanova García**

Director: Dr. Carlos Rodríguez Abreu

Febrero 2009

INSTITUTO DE QUÍMICA AVANZADA DE CATALUÑA (IQAC), CONSEJO  
SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)  
Departamento: Nanotecnología Química y Biomolecular

FACULTAT DE QUÍMICA de la UNIVERSITAT DE BARCELONA  
Departament: Química Física  
Tutor: Francesc Mas



## ÍNDICE

### I. INTRODUCCIÓN

<b>1.1 TENSIOACTIVOS</b> .....	3
<b>1.2 EMULSIONES</b> .....	4
1.2.1 Desestabilización y estabilización de emulsiones simples.....	5
1.2.2 Procesos de inversión de fases.....	7
<b>1.3 EMULSIONES MÚLTIPLES</b> .....	9
1.3.1 Procesos de formación.....	9
1.3.2 Procesos de desestabilización.....	10
1.3.3 Caracterización de las emulsiones múltiples.....	12
<b>1.4 ENCAPSULACIÓN</b> .....	13
<b>1.5 ENCAPSULACIÓN MEDIANTE EMULSIONES MÚLTIPLES</b> .....	14
1.5.1 Evaporación de solvente.....	14
1.5.2 Difusión de componentes.....	14

### II. OBJETIVOS..... 17

### III. EXPERIMENTAL

<b>3.1 MATERIALES</b> .....	19
<b>3.2 MÉTODOS</b>	
3.2.1 Síntesis de las emulsiones múltiples (plantillas).....	19
3.2.2 Síntesis de las microcápsulas.....	20
3.2.3 Caracterización por microscopía.....	20
3.2.4 Determinación de la materia orgánica en las microcápsulas.....	21
3.2.5 Estudios de liberación.....	21

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1 FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN MÚLTIPLE.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 FABRICACIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS</b>	
4.2.1 Elección del precipitante.....	26
4.2.2 Variación de las condiciones de preparación.....	27
4.2.3 Adición de la fase externa en dos etapas.....	29
4.2.4 Efecto de la viscosidad en la fase acuosa externa.....	31
<b>4.3 ESTUDIOS DE LIBERACIÓN.....</b>	<b>37</b>
4.3.1 Efecto del pH.....	37
4.3.2 Efecto de la temperatura.....	39
4.3.3 Efectos de la aplicación de ondas de ultrasonido.....	40
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>45</b>
<b>VII. AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>47</b>
<b>VIII. APÉNDICE.....</b>	<b>48</b>

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 TENSIOACTIVOS

Los tensioactivos son moléculas que constan de un grupo hidrófobo, normalmente una cadena hidrocarbonada y un grupo hidrófilo (Figura I.1). En función del tipo de grupo hidrófilo se pueden clasificar en<sup>1</sup>:

- 1) No iónicos: en disolución acuosa el grupo hidrófilo no se disocia en iones. Suelen contener grupos funcionales del tipo alcohol, éter o amida (solubles en agua). La mayoría tienen grupos de óxidos de etileno (OE) polimerizados como parte hidrófila.
- 2) Iónicos: el grupo hidrófilo contiene un grupo anfifilo catiónico o aniónico. La elección del contraión es importante porque afectará las propiedades fisicoquímicas, en el caso de los catiónicos suelen ser halogenuros o metilsulfatos y en el caso de los aniónicos, metales alcalinos (como el sodio).
- 3) Anfotéricos: el grupo hidrofílico combina una parte catiónica y una aniónica a la vez. La ionización en medios acuosos en estos casos puede ser dependiente del pH (tensioactivos zwitterónicos) o no.

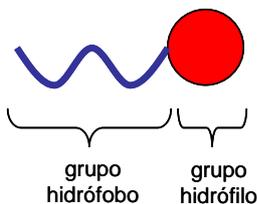


Figura I.1. Esquema de una molécula de tensioactivo.

Además de los tipos de tensioactivos mencionados, deben también mencionarse los tensioactivos poliméricos, constituidos por bloques hidrófilos e hidrófobos copolimerizados. Por otro lado, las cadenas hidrocarbonadas pueden sustituirse por otros grupos hidrófobos tales como las cadenas tipo silicona o cadenas fluoradas.

Los tensioactivos en solución, particularmente en medio acuoso, a una concentración y a una temperatura dadas, debido a su estructura anfífila, tienen la capacidad de auto-agregarse espontáneamente en forma de micelas o cristales líquidos, y de adsorberse en las interfases, disminuyendo la tensión superficial mediante la modificación de las interacciones moleculares interfaciales. Debido a

sus propiedades interfaciales y de auto-agregación, las aplicaciones de los tensioactivos son muy variadas y extensas ya que pueden actuar como emulsionantes, dispersantes, detergentes, agentes humectantes, espumantes o solubilizantes, pudiéndose usar en campos tan variados como el farmacéutico, cosmético, alimenticio y otros. Además, recientemente se ha extendido su uso en plantillas para la preparación de nanomateriales.

Para poder saber la afinidad relativa de los tensioactivos no iónicos respecto a las fases acuosas y las oleosas se estableció el parámetro empírico llamado Balance hidrófilo-lipófilo, abreviado como número HLB (del inglés *Hydrophobic-lipophilic balance*)<sup>2</sup>. Este valor es una relación cuantitativa entre la parte hidrófila y la hidrófoba de la molécula de tensioactivo y no tiene en cuenta el resto de componentes del sistema. Para los tensioactivos no iónicos y en general los etoxilados (con grupos de óxido de etileno) se utiliza generalmente la fórmula:

$$HLB = \frac{H}{H + L} \cdot 20 \quad (1)$$

Donde H y L representan la masa molecular de los grupos hidrófilos y lipófilos de la molécula respectivamente. Su valor está comprendido entre 0 y 20, a valores bajos de HLB se considera que el tensioactivo es liposoluble, mientras que a valores altos es hidrosoluble. Mediante el valor HLB de un determinado tensioactivo se pueden establecer sus posibles usos. Debido a su elevada utilidad para predecir el comportamiento de los tensioactivos, el concepto de HLB se ha extendido para otros tensioactivos como los iónicos o anfotéricos.

## 1.2 EMULSIONES

Uno de los campos donde los tensioactivos tienen gran importancia es en las emulsiones. Una emulsión es una dispersión opaca de dos líquidos inmiscibles, donde uno (fase dispersa) está disperso en forma de gotas de tamaño coloidal ( $\sim 1\mu\text{m}$ ) en el otro (fase continua). Dependiendo del tipo de fase dispersa se pueden clasificar las emulsiones simples en agua-en-aceite (agua dispersada en aceite, W/O por sus siglas en inglés) o aceite-en-agua (aceite dispersado en agua, O/W).

### 1.2.1 Desestabilización y estabilización de emulsiones simples

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables que tienden a la separación de fases, por lo que necesitan de un aporte energético para su formación. Este aporte puede ser de origen físico-mecánico o químico. La inestabilidad termodinámica de una emulsión puede explicarse a través de la expresión para la energía libre de Gibbs superficial ( $G$ )

$$dG = -\gamma dA \quad (2)$$

Donde  $\gamma$  es la tensión interfacial y  $A$  el área interfacial específica. En todo proceso espontáneo  $dG < 0$  y por lo tanto  $dA < 0$ , lo cual implica una tendencia natural a la disminución del área interfacial específica, que ocurre durante la desestabilización de la emulsión hasta llegar a la separación de fases, resulta  $dG > 0$ . Debido a que la emulsificación es un proceso no espontáneo (crea una elevada área específica), se requiere la adición de energía, es decir, ejercer un trabajo sobre el sistema; dicho trabajo es menor cuando la tensión interfacial se ve disminuida por la presencia de tensioactivos, que también retardan la separación de fases, es decir, estabilizan cinéticamente las emulsiones.

Los principales procesos de desestabilización de las emulsiones simples son<sup>3</sup>:

- Cremado/Sedimentación: separación de las gotas por efectos de la gravedad, aumentando su concentración en la parte superior (cremado) o en la parte inferior (sedimentación). La velocidad durante el proceso de cremado de una emulsión se puede definir por la ley de Stokes:

$$U_s = \frac{\Delta\rho d^2 g}{18\eta} \quad (3)$$

Donde  $\Delta\rho$  es la diferencia de densidad entre la fase continua y la dispersada,  $d$  el diámetro de las gotas,  $g$  la aceleración de la gravedad y  $\eta$  la viscosidad de la fase continua. De esta ecuación se deduce que una disminución de  $\Delta\rho$  o un aumento de la  $\eta$  reducen la velocidad de cremado del sistema, y por lo tanto aumentan la estabilización de este.

- Maduración de Ostwald: difusión del material contenido en las gotas pequeñas a las grandes, es decir, crecimiento de las gotas grandes a expensas de las pequeñas. La maduración de Ostwald se puede cuantificar con  $\omega$ , que representa la velocidad con que se da este fenómeno, y se calcula con la siguiente fórmula,

$$\omega = \frac{dr_c^3}{dt} = \frac{8c_\infty \gamma V_m D}{9RT} f(\phi) \quad (4)$$

Donde  $r_c$  es el radio crítico,  $c_\infty$  la solubilidad de la fase dispersa en el sistema,  $\gamma$  la tensión interfacial,  $V_m$  el volumen molar del soluto,  $D$  el coeficiente de difusión del soluto en la fase continua,  $R$  es la constante de gases y  $T$  la temperatura.  $f(\phi)$  tiene en cuenta la dependencia de  $\omega$  con la fracción de volumen de fase dispersa  $\phi$ . De aquí se puede deducir que disminuyendo  $c_\infty$ ,  $\gamma$ , o  $D$  se puede frenar la desestabilización dada por este proceso. Este cambio se puede realizar por adición de un segundo solvente menos soluble, cambiando las propiedades de la fase continua para retardar la difusión o modificando la formulación tensioactiva para disminuir  $\gamma$ .

- Floculación y coalescencia: la floculación es la agregación reversible de las gotas de una emulsión debido a las fuerzas de atracción entre ellas, sin ruptura ni cambio de tamaño de estas. La coalescencia por otro lado es un proceso irreversible que tiene lugar cuando dos o más gotas de una emulsión se fusionan formando una de más grande. Los procesos de coalescencia y floculación son dependientes de fenómenos interfaciales. La elasticidad del film interfacial es particularmente importante en la coalescencia. La regulación de los mencionados procesos mediante la formulación de la fase continua no es trivial. Para el entendimiento de la floculación y la coalescencia se deben considerar las fuerzas entre las gotas de la emulsión, principalmente las fuerzas de atracción de Van der Waals y las de repulsión electrostáticas por las cargas presentes en la superficie de las gotas. La resultante de ambas fuerzas regirá la estabilidad de la emulsión frente los dos procesos comentados. La teoría que explica este concepto lleva el nombre de DLVO (por las siglas de sus autores, Derjaguin, Landau<sup>4</sup>, Verwey y Oberbeek<sup>5</sup>). Se puede estabilizar una emulsión frente la floculación o la coalescencia por efectos electrostáticos o por efectos estéricos. La estabilización por efectos electrostáticos resulta de la adición de un electrolito en el medio; la adsorción de este en las superficies de las gotas crea una carga superficial del mismo signo en cada una de ellas, por lo que se repelen. Por otro lado, la estabilización por efectos estéricos consiste en adicionar polímeros que se adsorben en la superficie de las gotas. Cuando dos gotas se aproximan entre si, las cadenas poliméricas pierden libertad de movimiento, una situación desfavorecida entrópicamente, además, se crea localmente una presión osmótica elevada que origina un flujo de la fase continua hacia el espacio entre las gotas para igualar dicha presión, lo que provoca también la separación de las gotas<sup>6</sup>.

La regla simple de Bancroft<sup>7</sup> establece que la fase continua de una emulsión será aquella en la cual el tensioactivo es más soluble. Esta ley no siempre se cumple, y se usa sólo como una guía preliminar. En este sentido, el valor HLB de un tensioactivo (entre otros parámetros) regirá el tipo de emulsión que se formará: un tensioactivo con un valor HLB bajo, es decir hidrófobo, formará emulsiones del tipo W/O, mientras que uno con un valor alto, hidrófilo, formará emulsiones O/W (Figura I.2).



Figura I.2. Esquema de la disposición de las moléculas de tensioactivo a) con un HLB bajo en una emulsión W/O y b) con un HLB alto en una emulsión O/W.

### 1.2.2 Procesos de inversión de fases

En un proceso de inversión de fases, la fase dispersa pasa a ser continua y viceversa, lo cual es equivalente a una transformación de una emulsión tipo O/W a una tipo W/O o viceversa. Este proceso puede ocurrir por cambios en el volumen relativo de las fases (inversión catastrófica) o en la afinidad del tensioactivo por las fases (inversión transicional)<sup>8</sup>. Particularmente en tensioactivos no iónicos, la afinidad del tensioactivo cambia con la temperatura; la temperatura en la cual hay este cambio de afinidad recibe el nombre de PIT (del inglés *Phase Inversion Temperature*)<sup>9</sup>. A su vez la temperatura PIT puede verse afectada por otros factores tales como la naturaleza de las fases o la adición de aditivos en el sistema. El parámetro SAD (del inglés *Surfactant Affinity Difference*)<sup>8</sup>, propuesto para dar una base fisicoquímica a la afinidad del tensioactivo, se define como

$$SAD = \mu^*_{\text{w}} - \mu^*_{\text{o}} \quad (5)$$

Donde  $\mu^*_{\text{w}}$  y  $\mu^*_{\text{o}}$  representan los potenciales químicos estándares del tensioactivo en la fase acuosa y en la oleosa respectivamente. El parámetro SAD se define como la energía libre de transferencia de una molécula de tensioactivo de la fase oleosa a la acuosa. Se puede deducir entonces que,

-  $SAD > 0 \rightarrow$  la afinidad del tensioactivo por la fase oleosa es mayor, mayor tendencia a formar emulsiones del tipo W/O.

- $SAD = 0 \rightarrow$  la afinidad del tensioactivo por la fase oleosa y por la acuosa es la misma y la interfase es plana.
- $SAD < 0 \rightarrow$  la afinidad del tensioactivo por la fase acuosa es mayor, mayor tendencia a formar emulsiones del tipo O/W.

Para poder relacionar la formulación, la composición y las propiedades de una emulsión en un gráfico bidimensional, se fija una concentración de tensioactivo y se hace un barrido de formulación, representando la fracción de cada fase frente la variable de formulación y midiendo la propiedad de estudio (conductividad, viscosidad, tamaño de gota o estabilidad) pudiendo trazar así las curvas de iso-propiedad. Un ejemplo es el mapa de la Figura I.3<sup>10</sup> en el cual se representan las curvas de iso-estabilidad de una emulsión en función de la salinidad (S) como variable de formulación y la relación agua/aceite como parámetro de composición.

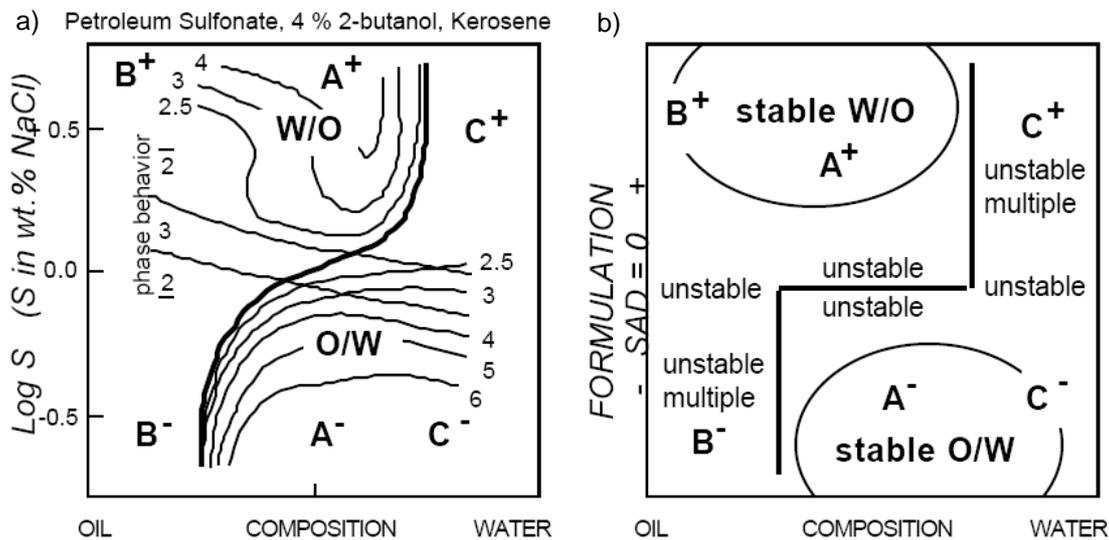


Figura I.3. a) Mapa experimental de un sistema tensioactivo iónico/alcohol/aceite/agua y b) esquematización bidimensional donde se indican las curvas de iso-estabilidad del sistema. S es la concentración de sal (% p/p NaCl)<sup>10</sup>. Los contornos de iso-estabilidad están indicados como el logaritmo decimal del tiempo requerido (en segundos) para que coalezca 2/3 del volumen de la fase que se separa primero.

Se observa en la Figura I.3 que la ley de Bancroft solo se cumple en los cuadrantes B<sup>+</sup>, A<sup>+</sup>, A<sup>-</sup> y el C<sup>-</sup>, por lo que las zonas B<sup>-</sup> y C<sup>+</sup> se consideran “anormales” y tiene lugar la formación de emulsiones múltiples. Cuando el valor de SAD es 0, tiene lugar la inversión de fases. En este caso, el SAD pasa de negativo a positivo al aumentar la salinidad, lo cual induce una inversión de la emulsión del tipo O/W a tipo W/O.

### 1.3 EMULSIONES MÚLTIPLES

Las emulsiones múltiples o emulsiones de emulsiones, descubiertas por Seifritz en el año 1925<sup>11</sup>, son sistemas formados por una fase interna dispersada en otra fase, llamada intermedia, que a su vez está dispersada en una externa, o lo que sería lo mismo, una emulsión simple dispersada en otra fase. Igual que las emulsiones simples, se pueden clasificar según la naturaleza de las fases, de modo que encontramos las agua-en-aceite-en-agua ( $W_1/O/W_2$ ) o las aceite-en-agua-en-aceite ( $O_1/W/O_2$ ) (Figura I.4).

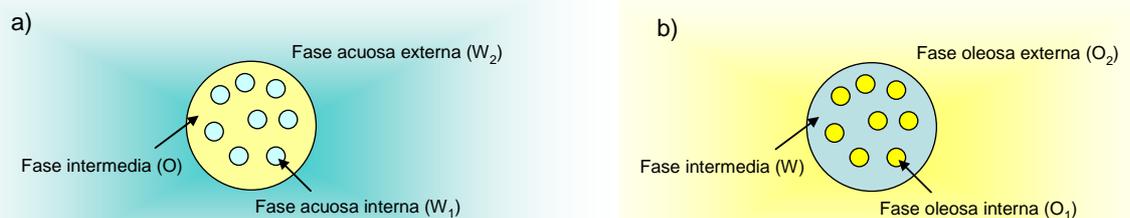


Figura I.4. Representación esquemática de una emulsión múltiple del tipo a)  $W_1/O/W_2$  o b)  $O_1/W/O_2$ .

La estructura de las emulsiones múltiples permite la posibilidad de encapsular sustancias de diferente naturaleza tanto en la fase interna como en la intermedia<sup>12</sup> protegiéndolas de agentes externos y a su vez pudiendo controlar su liberación mediante estímulos (temperatura, pH, dilución o cizalla entre otros). Es por este motivo que su estudio en campos como el farmacéutico y cosmético entre otros es de gran interés, pudiéndose formular un sistema de encapsulación con una liberación controlada en el tiempo y localizada.

#### 1.3.1 Procesos de formación

Hay varios procesos de fabricación de emulsiones múltiples, los dos principales son:

A) Inversión de fases (proceso de una sola etapa): se parte de una emulsión simple (con el tensioactivo adecuado o una mezcla de tensioactivos hidrófobo e hidrófilo) y se induce la inversión de fases (de W/O a O/W o viceversa) mediante la adición de componentes salinos, cambios en la polaridad de los solventes, en la temperatura o en las fracciones de volumen de las fases. Antes de llegar a la

inversión total se pasa por un punto de transición donde se forma la emulsión múltiple<sup>13,14</sup>.

B) Proceso de dos etapas: es el método más usado. Se mezcla la fase interna con la intermedia y el correspondiente tensioactivo a altas velocidades de mezclado, obteniendo la emulsión simple del tipo  $W_1/O$  o  $O_1/W$ , y se añade dicha emulsión sobre la fase externa, que consta de una disolución acuosa de un tensioactivo hidrófilo ( $W_2$ ) en el caso de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$  o una disolución oleosa de un tensioactivo hidrófobo ( $O_2$ ) en el caso de la emulsión múltiple  $O_1/W/O_2$ . Esta última etapa se hace con una agitación suave, ya que las gotas de la emulsión múltiple son susceptibles a la ruptura<sup>15</sup>.

Cabe mencionar que existen otros métodos más sofisticados para la preparación de emulsiones múltiples, como las técnicas microfluidicas<sup>16</sup>. Consisten en una red de microcanales de distintas propiedades hidrófobas por los que se hacen pasar los fluidos de las distintas fases. Estos canales se cruzan en una junta en forma de T donde se forman las gotas, controlando perfectamente su tamaño y la composición y por lo tanto la cantidad encapsulada. El problema actual de estos métodos es que pueden manejar sólo pequeñas cantidades de material, por lo que una producción a gran escala para usos industriales no es posible en este momento.

### 1.3.2 Procesos de desestabilización

Análogamente a las emulsiones simples, las emulsiones múltiples son sistemas termodinámicamente inestables que tienden a la separación de fases por efectos de desestabilización, por lo que necesitan también de la presencia de tensioactivos. Principalmente se necesitan dos tensioactivos de distinta naturaleza (uno hidrófobo y otro hidrófilo) para estabilizar cada una de las interfases (Figura I.5), además de poder añadir aditivos<sup>15</sup> con la finalidad de mejorar su estabilidad.

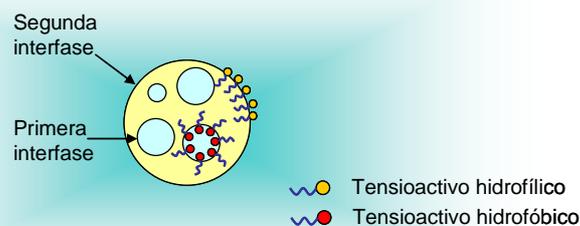


Figura I.5. Esquema de la disposición de los tensioactivos en una emulsión múltiple del tipo  $W_1/O/W_2$ .

La ruptura de las emulsiones múltiples viene dada por los mismos mecanismos que en el caso de las emulsiones simples (cremado/sedimentación, maduración de Ostwald, floculación y coalescencia), pero en este caso se presentan también movimientos de migración de los componentes entre la fase interna y externa, por lo cual se deben tomar en cuenta los siguientes factores adicionales (Figura I.6):

A) Coalescencia entre las gotas internas y las gotas de la fase intermedia: este fenómeno es debido a la ruptura de la fina capa de la fase intermedia que separa la interna de la externa, provocando una total liberación del agente encapsulado, llegando a una emulsión simple como sistema final<sup>17</sup>. La velocidad de coalescencia se puede regular con la concentración del tensioactivo de la segunda interfase (por ejemplo el hidrófilo en un sistema del tipo  $W_1/O/W_2$ ).

B) Coalescencia entre las gotas internas: causando un aumento del tamaño de las gotas internas a expensas de disminuir su número; finalmente puede tener lugar el proceso de coalescencia explicado en A)<sup>17</sup>.

C) Hinchamiento de las gotas internas: al encapsular un agente en la fase interna que no está presente en la externa, se crea una diferencia de presión osmótica que normalmente induce una difusión de la fase externa hacia el interior de la emulsión, hinchando las gotas internas hasta que llegan a un tamaño crítico y se produce una ruptura de las gotas formadas por la fase intermedia, liberando así todo su contenido<sup>15</sup>. Para mejorar la estabilidad en estos casos, se pueden añadir aditivos en la fase externa, consiguiendo una situación isotónica, que cancela la difusión, o aumentar la concentración de tensioactivo correspondiente a la primera interfase para dar más elasticidad a la interfase y aumentar la resistencia a la ruptura.

D) Difusión del agente encapsulado: este proceso puede tener lugar por una ruta molecular, cuando el agente encapsulado es parcialmente soluble en los dos tipos de medio (elevado coeficiente de partición aceite/agua), o por una ruta micelar en el caso en que el tensioactivo presente en la primera interfase forme micelas que solubilicen parte de la fase interna con el agente y ayuden a su transporte<sup>15,18</sup>.

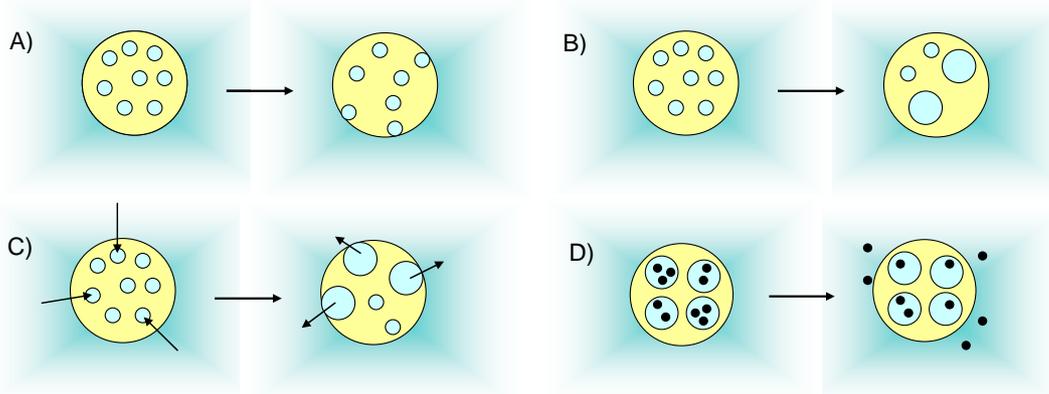


Figura I.6. Esquemas de los procesos de desestabilización de las emulsiones múltiples por A) coalescencia entre las gotas internas y la gota de la fase intermedia, B) coalescencia entre las gotas internas, C) hinchamiento de las gotas internas y D) difusión del agente encapsulado hacia el exterior.

Normalmente el proceso de desestabilización es la suma de más de un mecanismo dependiendo de la composición del sistema, por lo que las cantidades de cada tensioactivo, la relación entre las fases, la miscibilidad entre ellas y otros parámetros son importantes en el momento de formular un sistema de este tipo para que sea estable y libere con la cinética requerida según la aplicación. Para mejorar la estabilidad se puede actuar a distintos niveles modificando variables de formulación (naturaleza de las fases, estabilizando las interfases con tensioactivos poliméricos para que sean más rígidas y resistentes a la ruptura, aumentando la viscosidad de las fases), de composición (variando las relaciones entre las fases y la concentración de tensioactivo) o los factores de formación (aparatos usados, aumentar la velocidad de agitación para disminuir el tamaño de las gotas internas)<sup>19</sup>.

### 1.3.3 Caracterización de las emulsiones múltiples

Este tipo de sistemas se pueden caracterizar a distintos niveles. El estudio morfológico se puede llevar a cabo mediante la observación microscópica, la cual nos ofrece información sobre la multiplicidad y la distribución de tamaños, pudiendo a la vez observar la evolución a lo largo del tiempo (procesos de liberación y desestabilización). Los estudios reológicos también pueden dar información sobre la evolución estructural de las emulsiones múltiples<sup>12,18</sup>. La liberación de los agentes encapsulados se puede analizar mediante valoración de la fase externa por métodos de calorimetría, conductividad o espectrofotometría entre otros<sup>12,20</sup>.

#### 1.4 ENCAPSULACIÓN

El estudio de la encapsulación de distintas sustancias en el interior de microcápsulas ha aumentado considerablemente en los últimos años debido a sus numerosos usos potenciales en una amplia gama de sectores, los cuales usan las microcápsulas ya sea como vehículos de transporte o como protección de agentes externos, pudiendo controlar a su vez la liberación de las sustancias encapsuladas. El tipo de material de las paredes y el grosor determinan el tipo de liberación que tiene lugar<sup>21</sup>. Cuando la pared es impermeable el contenido encapsulado solo puede liberarse por ruptura de la microcápsula aplicando un esfuerzo mecánico, calentando a una temperatura superior a la de fusión del material o disolviéndolo; en este caso la liberación es abrupta. En el caso en que la pared sea permeable o semipermeable, la liberación ocurre mediante procesos de difusión a través de los poros, donde la liberación es sostenida a lo largo del tiempo. Por tanto, la elección del material de la microcápsula es esencial y depende de las aplicaciones.

La microencapsulación puede ser llevada a cabo mediante procesos físico-mecánicos o químicos. En el último caso se usan medios como las emulsiones o dispersiones para su formación y es en este caso en el que se centra el presente trabajo.

El método químico más común para la obtención de microcápsulas consta de dos etapas. El primero es la creación de microesferas o de emulsiones simples como plantillas (pudiendo incorporar el agente activo) para el posterior recubrimiento de ellas con el material deseado o con su precursor<sup>22</sup>, obteniendo así las llamadas estructuras núcleo-coraza (*core-shell*). La segunda etapa consta de la extracción de la plantilla interna, ya sea mediante calcinación a altas temperaturas o su disolución con soluciones ácidas, alcalinas o solventes orgánicos. Esta última etapa puede ser problemática en el caso de la encapsulación in-situ (durante la síntesis de las micropartículas) de moléculas que puedan ser sensibles a estas condiciones extremas. Cuando se encapsula el componente después de la síntesis de la microcápsula, se suele hacer por inmersión de estas en una disolución del agente activo, de modo que este penetra por difusión. Los principales problemas de este método es que solo se pueden encapsular agentes que sean de menor tamaño que los poros del material y que los porcentajes de encapsulación suelen ser bajos<sup>23</sup>. Es por este motivo que recientemente se está estudiando el uso de las emulsiones múltiples como microreactores con la finalidad de obtener microcápsulas mediante un proceso con una única etapa y evitando usar condiciones agresivas.

## 1.5 ENCAPSULACIÓN MEDIANTE EMULSIONES MÚLTIPLES

Se pueden distinguir dos grandes métodos a seguir para la formación de microcápsulas vía emulsión múltiple, mediante el método de evaporación de solvente o mediante el método de difusión de componentes.

### 1.5.1 Evaporación de solvente

En este método se dispersa la disolución acuosa del componente a encapsular en una disolución de un solvente volátil que contiene el polímero del cual se desea hacer la microcápsula. Esta primera emulsión simple  $W_1/O$  se dispersa en otra fase acuosa para formar la múltiple  $W_1/O/W_2$ . La fase orgánica actúa de barrera por lo que las pérdidas del componente encapsulado se reducen. Una vez obtenida la emulsión múltiple se procede a la evaporación del solvente volátil, por lo que el polímero precipita siguiendo la morfología de la emulsión (efecto plantilla). De esta manera se obtiene la microcápsula conteniendo el principio activo encapsulado en los poros originados desde las gotas de la emulsión primaria  $W_1/O$  (Figura I.7). Este método es adecuado en el caso de querer encapsular un componente hidrosoluble en una cápsula polimérica<sup>24</sup> ya que no es factible realizarlo mediante el método usual de evaporación vía emulsión simple para la obtención de microcápsulas poliméricas.

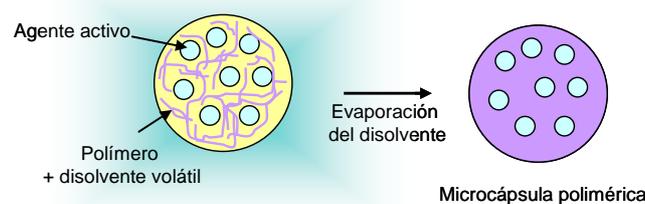


Figura I.7. Esquema del proceso de formación de las microcápsulas por el método de evaporación del solvente.

### 1.5.2 Difusión de componentes

Para entender el proceso de formación de las microcápsulas mediante el método de difusión de componentes, se deben de tener en cuenta los procesos de desestabilización característicos de las emulsiones múltiples comentados en el

anterior apartado, es decir, la difusión de las moléculas de la fase interna a la externa o viceversa a consecuencia del gradiente de concentraciones existente. En este método se disuelve el precursor del material de la microcápsula en una fase (ya sea la interna o la externa) y el iniciador de la reacción en la otra. Uno de ellos o ambos se desplazan de la fase donde se encuentran disueltos a la otra y cuando los dos componentes entran en contacto en la interfase la precipitación o síntesis del material tiene lugar. De este modo las microcápsulas se forman preservando el agente activo encapsulado en la fase acuosa interna y la emulsión actúa como plantilla, por lo que se mantiene la morfología de las gotas (Figura I.8).

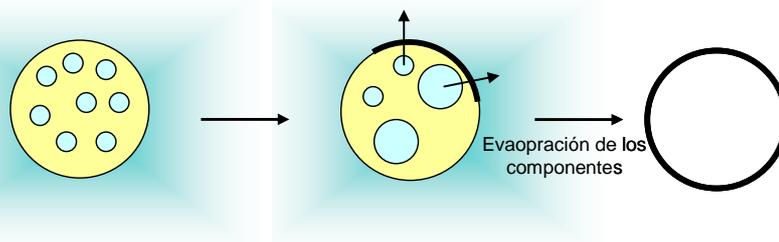


Figura I.8. Esquema del proceso de formación de las microcápsulas por el método de difusión de los componentes en una emulsión del tipo  $W_1/O/W_2$ .

El uso de este nuevo método ha permitido desarrollar tanto la obtención de microcápsulas de materiales orgánicos (polímeros de celulosa, poliéster<sup>25</sup>, quitosano<sup>26</sup>) como de materiales inorgánicos (hidroxiapatita<sup>27</sup>, carbonato de calcio o manganeso, sílice amorfa<sup>28,29</sup>). Los materiales orgánicos presentan cierta inestabilidad química dependiendo del medio, por lo que el uso de materiales inorgánicos para los sistemas de liberación presenta algunas ventajas por su estabilidad química, térmica y resistencia mecánica. Concretamente, la sílice es una interesante alternativa inorgánica a los materiales orgánicos, que puede ser usada en campos relacionados con la medicina, la cosmética o la alimentación debido a su biocompatibilidad<sup>30</sup>, además de poder mantener la actividad de las sustancias encapsuladas<sup>31</sup>. Por lo tanto existe un interés considerable en la fabricación de cápsulas de sílice.

El sistema más usado para la obtención de este tipo de estructuras de sílice es la emulsión múltiple  $O_1/W/O_2$ , con el uso de los tetra-alcoxisilanos ( $Si(OR)_4$ ) como precursores de la sílice, mediante la reacción sol-gel<sup>32,33,34</sup>, obteniendo así microcápsulas con una estructura porosa en su interior, debido al efecto plantilla de las gotas internas. El problema de este tipo de reacciones sol-gel es la formación de alcoholes como subproductos que pueden llegar a desestabilizar las emulsiones. Recientemente se han publicado estudios<sup>28,29</sup> que usan el sistema  $W_1/O/W_2$ , siendo más respetuoso con el medio ambiente en usar una menor cantidad de sustancias

orgánicas nocivas. Además, para prevenir los posibles problemas de desestabilización del sistema debido a los subproductos generados en las reacciones sol-gel, se puede usar silicato de sodio como precursor de la sílice, ya que es un compuesto altamente hidrosoluble en medios básicos y que precipita a pH ácidos. En este caso en concreto, existe una difusión del precursor de la sílice encapsulado de la fase interna  $W_1$  hacia la fase externa y/o la disolución acuosa de la externa  $W_2$  hacia la interna. Cuando entran en contacto (ya sea en la interfase  $W_1/O$  ó  $O/W_2$ ) el silicato de sodio precipita por un cambio de pH y la formación de la microcápsula tiene lugar.

## II. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son:

- 1) Formulación de una emulsión múltiple del tipo  $W_1/O/W_2$  con una estabilidad suficiente para su uso como plantilla durante la reacción de precipitación de la sílice para la formación de microcápsulas.
- 2) Obtención de microcápsulas de sílice con la posibilidad de encapsular, al mismo tiempo de la preparación, un compuesto hidrofílico.
- 3) Estudio de los efectos de diferentes variables de formación y formulación en el tamaño de las microcápsulas.
- 4) Estudio del efecto de diferentes parámetros (pH, temperatura, sonicación) sobre la cinética de liberación de las sustancias encapsuladas.

### III. EXPERIMENTAL

#### 3.1 MATERIALES

El silicato de sodio (10%NaOH, 27% SiO<sub>2</sub>) usado como precursor de la sílice ha sido suministrado por Riedel-deHaën. La sal sódica de fluoresceína usada para los estudios de fluorescencia y el compuesto Sunset Yellow FCF para los estudios de liberación de las microcápsulas, fueron ambos obtenidos de Sigma-Aldrich. El Azul de Metileno para pruebas de encapsulación, juntamente con el hexano, heptano y la glicerina fueron obtenidos de Merck. El hidróxido de sodio ha sido suministrado por Carlo Ebra. Los tensioactivos usados se muestran en la Tabla III.1. El agua usada ha sido de calidad MilliQ. Las sustancias se usaron sin ningún tratamiento previo.

Tabla III.1 Relación de los tensioactivos usados.

Nombre comercial	Composición química	Proveedor
Span 80	Monooleato de sorbitan	Roig Farma
Cremophor WO7	Aceite de ricino hidrogenado con grupos PEO*	BASF
L121	Copolímero de bloque PEO <sub>5</sub> PPO <sub>70</sub> PEO <sub>5</sub> *	BASF
PE10100	Copolímero de bloque PEO <sub>4</sub> PPO <sub>59</sub> PEO <sub>4</sub> *	BASF
AOT	di(2-etilhexil)sulfosuccinato de sodio	Fluka
EMALEX SS-5051	Tensioactivo siliconado (con grupos PEO*)	Nihon Emulsion Co
Tween 80	Monooleato de sorbitan etoxilado	ICI

\* PEO: poli(óxido de etileno); PPO: poli(óxido de propileno)

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 Síntesis de las emulsiones múltiples (plantillas)

Concretamente el sistema W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> consta de una disolución de silicato de sodio con el agente activo (colorante) como fase acuosa interna (W<sub>1</sub>), una disolución del hidrocarburo volátil con el tensioactivo lipófilo (hidrófobo) como fase intermedia (O), para facilitar su evaporación y una dilución acuosa del tensioactivo hidrófilo como fase acuosa externa (W<sub>2</sub>).

La emulsión múltiple se preparó mediante el proceso de dos etapas (véase Figura III.1), por lo que se procedió a formar la emulsión simple como primera

etapa y posteriormente la múltiple, como segunda etapa. La emulsión primaria  $W_1/O$  fue preparada dispersando la fase acuosa interna ( $W_1$ ) en la oleosa (O) usando el homogenizador Ultraturrax™ a distintas velocidades durante 5 minutos. Para la formación de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ , se añadió en un solo paso la emulsión simple  $W_1/O$  sobre la fase acuosa externa  $W_2$  y se mantuvo una agitación suave con un agitador magnético durante 2 horas.

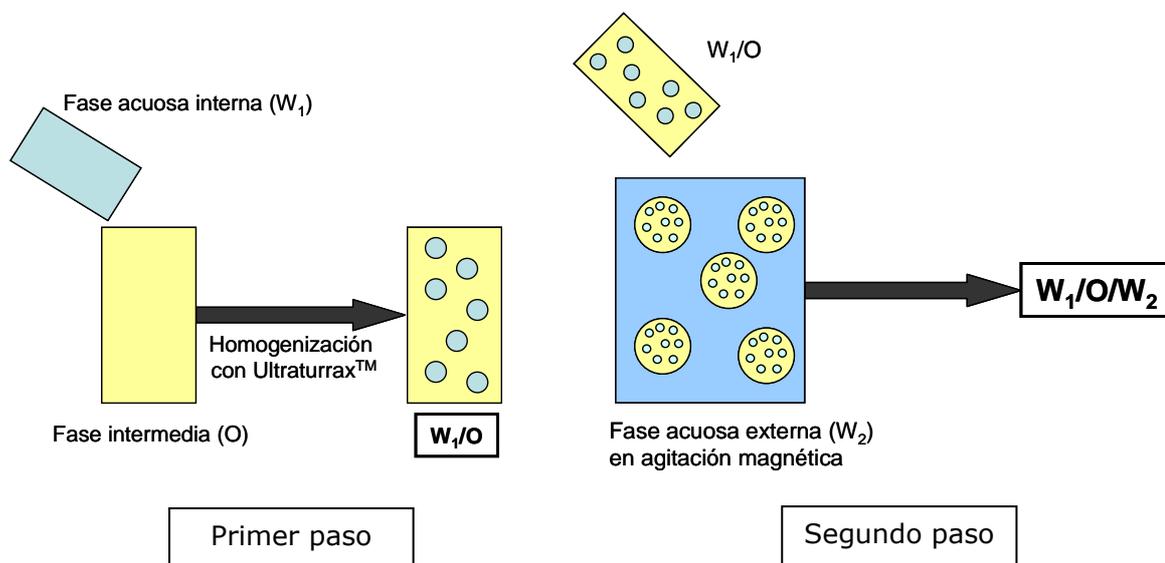


Figura III.1 Esquema de la formación de las emulsiones múltiples por el método de dos etapas.

### 3.2.2 Síntesis de las microcápsulas

Para la síntesis de las microcápsulas se usaron las mismas condiciones que en la preparación de las emulsiones múltiples, pero en este caso la fase acuosa externa estaba formada por una disolución del tensioactivo hidrofílico más el precipitante. El sólido obtenido tras agitar durante 2 horas se filtró al vacío y se lavó con 150 ml de agua MilliQ y 10 ml de metanol con la finalidad de eliminar los restos de tensioactivo y otros posibles aditivos. Finalmente para evaporar el agua y la fase orgánica de las microcápsulas, las muestras se secaron a 60°C durante 22 horas.

### 3.2.3 Caracterización por microscopía

Para el estudio de la morfología y el tamaño tanto de las emulsiones como de las microcápsulas se utilizó un microscopio óptico Reichert Polyvar 2 con una videocámara digital Sony CCD-Iris conectada a un ordenador mediante un

adaptador de cámara Sony y un captador de imágenes Leica IM500. Además el microscopio está provisto de una lámpara de fluorescencia HBO 100W/2. Para medir los tamaños de las microcápsulas se usó una herramienta disponible en el mismo programa de observación del microscopio óptico. Para estudiar la estructura interna de las microcápsulas se usó un microscopio confocal Olympus FV1000 operando en el modo fluorescencia. La fluorescencia de la fase acuosa interna fue excitada a 488 nm. Para la observación de las muestras, estas se depositaron en el porta-objetos en forma de polvo (sin dispersar) y se cubrieron con el cubre-objetos. También se obtuvieron fotos mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) con un equipo de sobremesa Hitachi TM-1000 para poder observar con más detalle las microcápsulas obtenidas.

#### **3.2.4 Determinación de la materia orgánica en las microcápsulas**

Para la determinación del contenido de componentes orgánicos en las microcápsulas, se realizó una termogravimetría (TGA) en un intervalo de temperatura de 25 a 550°C y a una velocidad de 10°C/min con el equipo SDTA851 de Mettler Toledo.

#### **3.2.5 Estudios de liberación**

La liberación del colorante Sunset Yellow FCF de las microcápsulas fue estudiada dispersando 3 mg de la muestra en 3 ml de agua y manteniendo una agitación magnética de 200 rpm durante el experimento. Para los estudios de la influencia del pH, las microcápsulas se dispersaron en las correspondientes soluciones de NaOH a pH=7, 10 o 12. Para el estudio del efecto de la aplicación de ondas de ultrasonido sobre la liberación del Sunset Yellow FCF se usó una sonda de ultrasonidos Sonoplus HD3200 de Bandelin usando el modelo de sonda M72 a una amplitud del 45%. El programa de pulsación consistió en etapas consecutivas de 1 s de pulsación y 3 s de pausa.

En todos los casos, el sólido (microcápsulas) se separó por centrifugación (3500 rpm por 5 min) y luego se midió el espectro de absorbancia del sobrenadante usando un espectrofotómetro UV-Visible Cary 300 Bio de Varian.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN MÚLTIPLE

Para la obtención de las microcápsulas deseadas mediante el método descrito, es indispensable partir de una emulsión múltiple estable conteniendo el silicato de sodio en la fase acuosa interna, ya que su estabilidad es un prerequisite para la formación de las microcápsulas. Como una primera aproximación se partió de una formulación descrita en la literatura<sup>28,29</sup> y se modificó su composición usando diferentes tensioactivos (Tabla IV.1). Se hizo un barrido de concentraciones en el caso de Span 80, L121 y PE10100 hasta su máxima solubilidad en hexano, manteniendo siempre la composición de la fase acuosa interna  $W_1$  (70,4% de una disolución 1mM de fluoresceína y 29,6% de la disolución de silicato de sodio) y la relación O: $W_1$  en 1,3. Las mezclas de las fases  $W_1$  y O se llevaron a cabo con Ultraturax™ a una velocidad de 9500rpm. La elección de los tensioactivos se basó en su número HLB.

Tabla IV.1 Tensioactivos probados para la estabilización de la emulsión  $W_1/O$ .

Tensioactivo	HLB	Observaciones
Span 80	4,3	$W_1/O$ inestable en todo el rango de solubilidad del tensioactivo en O
Cremophor WO 7	5	Insoluble en hexano
L121	1	$W_1/O$ inestable en todo el rango de solubilidad del tensioactivo en O
AOT	10,5	$W_1/O$ inestable
PE10100	1-7	$W_1/O$ estable

En el caso del tensioactivo AOT se añadió NaCl en la solución acuosa para favorecer la formación de una emulsión del tipo  $W/O$ <sup>35</sup> pero aún así no se obtuvo una estable, igual que en los casos del Span 80 y el L121. Con el PE10100 se obtuvo una emulsión simple estable usando una disolución de hexano al 1,4% de PE10100 (Tabla IV.2).

Tabla IV.2. Composición de las fases de la emulsión  $W_1/O$ .

Fase acuosa interna ( $W_1$ )	Fase oleosa (O)
70,4% solución acuosa 1mM de fluoresceína	98,6% hexano
29,6 % solución de silicato de sodio	1,4% PE10100

Una vez determinada la composición de la emulsión simple  $W_1/O$  (ver Tabla IV.2) se preparó la emulsión múltiple añadiendo la emulsión  $W_1/O$  a una dilución acuosa al 0,4% del tensioactivo hidrófilo Tween 80 (sin el precipitante) y se mantuvo la agitación a 900 rpm. Se observó la muestra mediante microscopía óptica pero no se detectó la presencia de gotas de emulsión múltiple, por lo que se desestimó este sistema como plantilla. Con el objetivo de mejorar la estabilización se cambió la fase oleosa de hexano por heptano, ya que seguía siendo un hidrocarburo volátil pero en menor grado y por lo tanto de más fácil manejo. Con esta nueva formulación se obtuvo una emulsión simple estable, pero fueron pocas las gotas múltiples observadas (Figura IV.1).

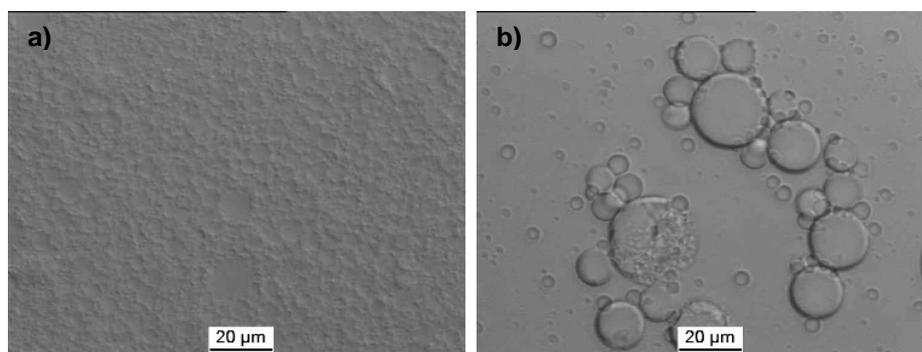


Figura IV.1. Imágenes de microscopía óptica de a) la emulsión  $W_1/O$  con PE10100 y heptano y su b) correspondiente emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ .

La inestabilidad de la emulsión múltiple podría ser debida a una incompatibilidad entre el tensioactivo hidrófobo PE10100 y el hidrófilo Tween 80, por lo que se optó por cambiar el tensioactivo hidrófobo PE10100 por el EMALOX SS-5051, un tensioactivo siliconado con un HLB=6. Se procedió a formular la emulsión simple con la misma composición que en el anterior caso, pero se observó una rápida desestabilización y no se obtuvo la estabilidad adecuada hasta que no se aumentó la concentración del tensioactivo hidrófobo EMALOX SS-5051 hasta el 1,66% en la fase orgánica. La composición final se indica en la Tabla IV.3 y la microfotografía correspondiente se muestra en la Figura IV.2.b, donde se puede observar que al aumentar la concentración del tensioactivo hidrofóbico el tamaño de gota disminuye, por lo que se reduce el área interfacial y aumenta la estabilidad.

Tabla IV.3. Composición de las fases de la emulsión  $W_1/O$  final.

Fase acuosa interna ( $W_1$ )	Fase oleosa (O)
70,4% solución acuosa 1mM de fluoresceína	98,34% heptano
29,6 % solución de silicato de sodio	1,66% EMALOX SS-5051

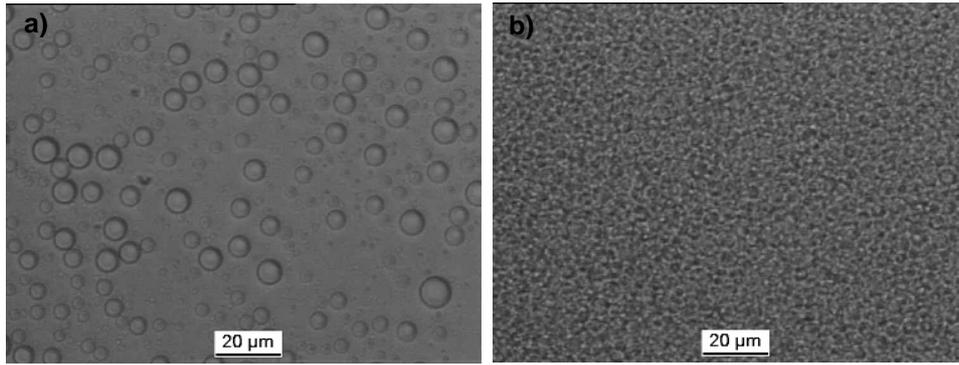


Figura IV.2. Fotografías de microscopía óptica de la emulsión  $W_1/O$  preparada con el tensioactivo EMALOX SS-5051 a la concentración de a) 1,4% y b) 1,66%.

Una vez más, se procedió a la preparación de la emulsión múltiple, de modo que se añadió la emulsión  $W_1/O$  sobre la fase  $W_2$  (disolución acuosa al 0,4% de Tween 80, sin precipitante) y se mantuvo la agitación a 900 rpm durante 2 horas, con la finalidad de estudiar su evolución durante el supuesto tiempo en que tiene lugar la precipitación del silicato de sodio. En la Tabla IV.4 se indica la composición de la emulsión múltiple que se muestra en la Figura IV.3. La observación con la lámpara de fluorescencia mostró que las gotas internas contenían la fluoresceína, por lo que demostró que el sistema tenía la capacidad de encapsular.

Tabla IV.4. Composición de la plantilla para la formación de las microcápsulas (porcentajes referidos al total del peso de la emulsión múltiple).

		wt% $W_1/O/W_2$	
$W_1$	Silicato de sodio	3,4	11,6
	Solución acuosa 1mM de fluoresceína	8,2	
O	Heptano	14,5	14,7
	EMALOX SS-5051	0,3	
$W_2$	Agua	73,4	73,7
	Tween 80	0,3	

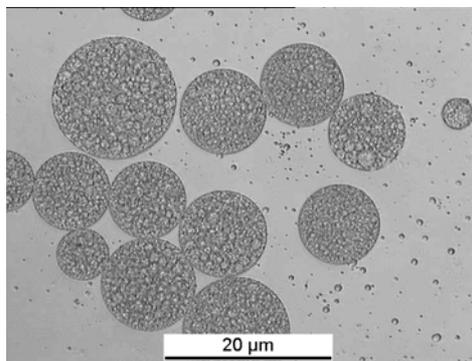


Figura IV.3. Imagen de la emulsión múltiple que actúa como plantilla en la síntesis de las microcápsulas.

## 4.2 FABRICACIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS

### 4.2.1 Elección del precipitante

La sílice es soluble en medios muy básicos, por lo que disuelta en una solución de hidróxido de sodio pasa a formar el silicato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ), también llamado vidrio soluble. Para provocar su precipitación para la formación de la microcápsula, se ha de producir un cambio de pH en el medio, en este caso una disminución del pH con una disolución ácida, lo que se llama la solución precipitante, que actúa de fase acuosa externa de la emulsión múltiple ( $W_2$ ). Una vez formulada la emulsión múltiple como plantilla se probaron distintas soluciones precipitantes (sustancias ácidas) como fases externas. Para saber la concentración mínima de precipitante necesaria, se realizaron valoraciones de la solución de silicato de sodio con las soluciones precipitantes y se usaron cantidades mayores para la síntesis de las microcápsulas para asegurar su total precipitación (Tabla IV.5).

Tabla IV.5. Concentraciones de las soluciones precipitantes usadas.

Precipitante	Concentración en la $W_2$ (M)
HCl	0,1
$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	2
$\text{NH}_4\text{Cl}$	2

Para la síntesis de las microcápsulas se siguió el mismo procedimiento que para las emulsiones múltiples como plantillas, pero esta vez la fase externa  $W_2$  contenía el precipitante también. En el caso del HCl, a pesar que en la valoración el silicato de sodio precipitó, no se obtuvo ningún sólido, posiblemente es un ácido demasiado fuerte que causa la desestabilización de la emulsión. Por este motivo se pasó a usar ácidos débiles como el  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  o el  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Con el  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  se obtuvieron estructuras esféricas embebidas en un sólido amorfo como se muestra en la Figura IV.4, por lo que se desestimó como componente precipitante.

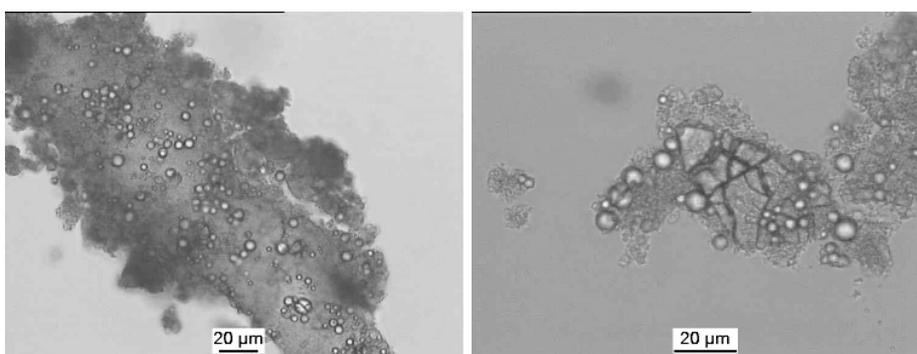


Figura IV.4. Sólido obtenido usando  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  como precipitante.

Al observar esta muestra con la lámpara de fluorescencia se observó que el sólido amorfo era fluorescente y las partes esféricas negras. Con el uso del precipitante  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , sí que se obtuvieron microcápsulas sin la presencia de ningún sólido amorfo, por lo que se escogió como solución precipitante para proceder a realizar los siguientes estudios.

#### 4.2.2 Variación de las condiciones de preparación

A partir de los estudios preliminares de formulación se pasó a estudiar la influencia de las condiciones de preparación en el tamaño de las microcápsulas. Para demostrar que el tamaño de las microcápsulas del presente sistema se veía afectado tanto por el tamaño de las gotas  $W_1/O$  de la emulsión simple como por el tamaño de los glóbulos  $W_1/O/W_2$  de la emulsión múltiple, por su actuación como plantilla como ya se había descrito con anterioridad<sup>28,30</sup>, se procedió a variar algunas condiciones durante la síntesis de las microcápsulas tales como la velocidad de la agitación con el Ultraturax<sup>TM</sup>, la agitación magnética y la relación  $O:W_1$ . Las distintas muestras preparadas y las correspondientes condiciones de síntesis se resumen en la Tabla IV.6.

Tabla IV.6. Condiciones de preparación de las muestras.

Muestra	Agitación $W_1/O$	Agitación $W_1/O/W_2$	$O:W_1$
A	9500 rpm	900 rpm	1,3
B	9500 rpm	500 rpm	1,3
C	9500 rpm	500 rpm	2,6
D	8000 rpm	500 rpm	2,6
E	1400 rpm	500 rpm	2,6

Se disminuyó la agitación magnética durante la formación de la  $W_1/O/W_2$  de 900 rpm a 500 rpm, de modo que el tamaño de las gotas múltiples aumentó y como consecuencia el tamaño de las microcápsulas también, con un incremento asociado de la polidispersidad en la distribución de tamaños. Esto se puede apreciar en la Figura IV.5, comparando la muestra A con la B.

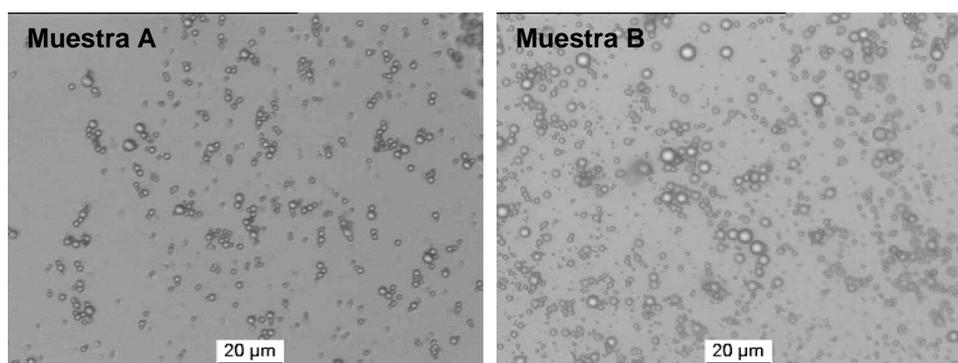


Figura IV.5. Fotografías de microscopía óptica de las muestras A (hecha a 900 rpm) y B (hecha a 500 rpm).

Para variar el tamaño de las gotas  $W_1/O$  de la emulsión simple se variaron dos parámetros. El primero que se varió fue la relación  $O:W_1$  manteniendo las concentraciones de los componentes igual que en los anteriores casos. Al duplicar la relación  $O:W_1$  hasta 2,6 las gotas de la emulsión simple y las microcápsulas de sílice derivadas aumentaron de tamaño considerablemente, a la vez que se obtuvo una distribución de tamaños más homogénea, como puede observarse en las imágenes de microscopía óptica de la Figura IV.6.

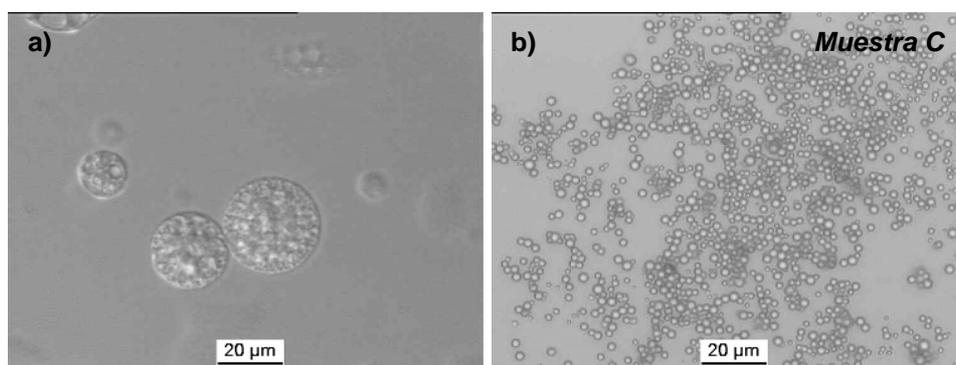


Figura IV.6. Imagen de microscopía óptica de a) la plantilla  $W_1/O/W_2$  correspondiente a las microcápsulas de la Muestra C y b) las microcápsulas (relación  $O:W_1=2,6$ ).

La segunda variable que se estudió con respecto a su influencia en el tamaño de las gotas de la emulsión simple  $W_1/O$  fue la agitación durante la formación de ésta. Al reducir la velocidad del dispositivo Ultraturax™ de 9500 rpm a 8000 rpm, el tamaño de las microcápsulas aumentó como es observable en la Figura IV.7 (comparar Muestra C de la Figura IV.6 con la Muestra D de la Figura IV.7) hasta un tamaño medio de 2,5 μm de diámetro. Para reducir aún más la velocidad de agitación, se tuvo que sustituir el dispositivo Ultraturax™ por un agitador magnético a 1400 rpm (su máxima velocidad). La emulsión obtenida presentó gotas de mayor tamaño pero no fue lo suficientemente estable como para mantenerse durante las dos horas requeridas para la síntesis. Tal y como se puede observar en la Figura IV.7 (Muestras E(1) y E(2)) las microcápsulas obtenidas

fueron de un tamaño mucho mayor comparado con las de la Muestra D y con una polidispersidad más elevada, pero a su vez, se detectó la existencia de precipitados amorfos (no siempre fluorescentes) debido a la inestabilidad de la emulsión que no actuó como plantilla adecuadamente. Por esta razón no se probaron menores velocidades de agitación ya que se supuso que no serían suficientes para una adecuada dispersión. Durante la observación por microscopio óptico de esta muestra, se pudieron detectar estructuras que parecían microcápsulas rotas (Figura IV.7, Muestra E(2)).

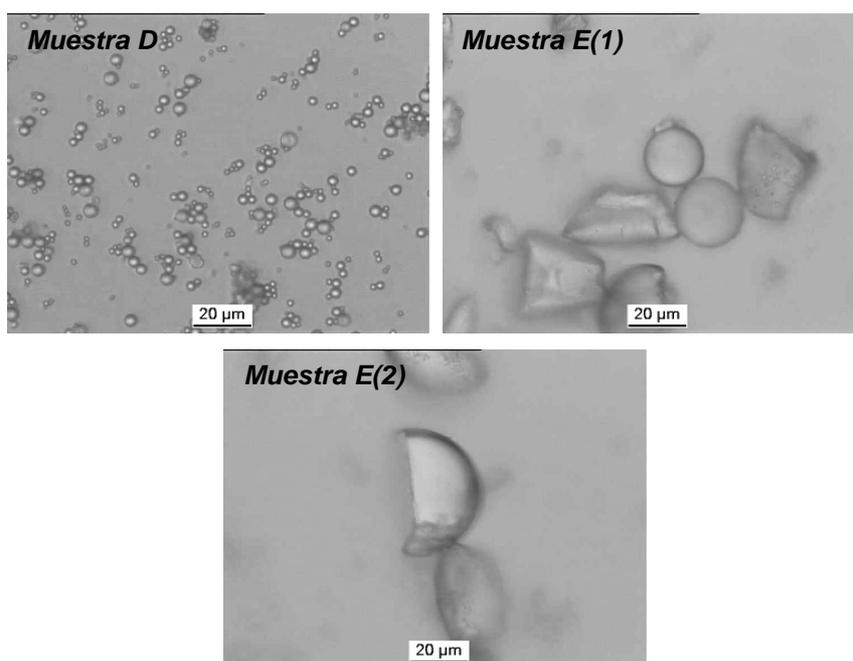


Figura IV.7. Fotografías de microscopio óptico de las muestras D (8000 rpm), E(1) y E(2) (1400 rpm).

En resumen, variando los parámetros mencionados (agitación durante la formación de la emulsión  $W_1/O$ , relación  $O:W_1$  y agitación durante la formación de la emulsión  $W_1/O/W_2$ ) se puede regular en cierta manera el tamaño de la microcápsulas, considerando siempre a un compromiso entre el tamaño deseado y la estabilidad de la emulsión durante la síntesis de las microcápsulas.

#### 4.2.3 Adición de la fase externa en dos etapas

En los procedimientos discutidos anteriormente, la formación de la emulsión ocurre casi simultáneamente a la precipitación de la sílice. Para intentar obtener una emulsión múltiple estable de manera previa a la formación de la sílice, se dividió la fase acuosa externa ( $W_2$ ) en dos partes para ser adicionadas en dos tiempos, la primera parte ( $W_2(1)$ ) conteniendo sólo el tensioactivo hidrófilo y la

segunda ( $W_2(2)$ ) constituida por una solución saturada de cloruro de amonio conteniendo el 41,4 % del agua total correspondiente a la fase acuosa externa  $W_2$  (minimizando así la cantidad de agua en la segunda adición). Una vez comprobado que la formación de la emulsión múltiple tenía lugar con sólo la adición de la fase  $W_2(1)$  se pasó la formación de las microcápsulas. Las condiciones de preparación fueron las mismas que las de la Muestra C (ver Tabla IV.6). Para estudiar el efecto del modo de adición de la fase  $W_2(2)$ , ésta se adicionó de tres maneras distintas: súbitamente al cabo de 10 minutos de añadir la fase  $W_2(1)$ , al cabo de una hora y paulatinamente (gota a gota) directamente después de formar la emulsión múltiple (Tabla IV.7). Se supuso que de este modo se favorecía la formación de la emulsión múltiple sin que hubiera reacción de precipitación al no estar presente el precipitante. El posterior tratamiento de las microcápsulas fue igual que en los anteriores casos (descrito en la sección Experimental).

 Tabla IV.7. Condiciones de adición de la  $W_2(2)$ .

Muestra	Modo de adición de la $W_2(2)$
F	10 min después de la formación
G	1 hora después de la formación
H	Adición paulatina después de la formación

A partir de la observación de las correspondientes muestras mediante el microscopio (Figura IV.8) se observó que al añadir la fase externa en dos etapas a los 10 minutos (Muestra F) el tamaño era similar (comparar con la Muestra C) a la adición en una sola etapa, pero se perdía homogeneidad. Contrariamente a lo que se esperaba, al adicionar al cabo de 1 hora (Muestra G), se obtuvieron microcápsulas más pequeñas y más polidispersas. Esto puede atribuirse a alguno de los procesos de desestabilización comentados anteriormente (ver Introducción) y a la difusión de los componentes, lo cual puede afectar el tamaño de las microcápsulas. Finalmente, en el tercer caso mediante la adición paulatina del precipitante (Muestra H) se consiguieron microcápsulas de un tamaño mayor pero poco homogéneo.

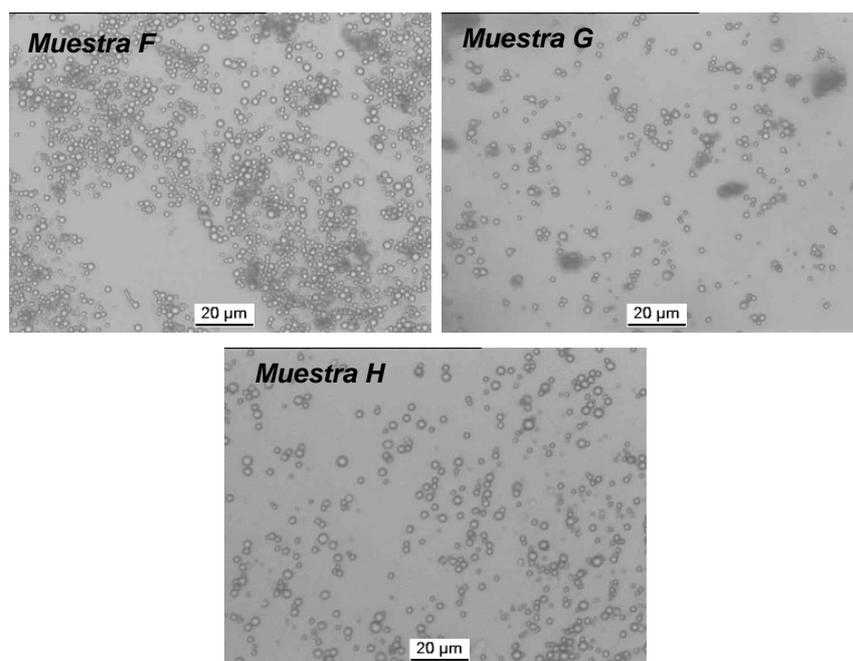


Figura IV.8. Imágenes de microscopía óptica de las muestras F, G y H.

#### 4.2.4 Efecto de la viscosidad en la fase acuosa externa

Si se compara el tamaño de las gotas internas de la emulsión múltiple (ver Figura IV.6.a) y el tamaño de las microcápsulas obtenidas de la correspondiente plantilla (Figura IV.6.b, Muestra C) se observa que son parecidos, por lo que se puede decir que gran parte de la precipitación de la sílice tiene lugar en la interfase  $W_1/O$ , una causa de esto puede ser la más rápida difusión del cloruro de amonio desde la fase externa  $W_2$  hacia la fase interna  $W_1$ , con respecto a la difusión del silicato en la dirección contraria. Para intentar disminuir la velocidad de difusión del precipitante hacia el interior y favorecer la precipitación en la interfase  $O/W_2$ , se aumentó la viscosidad de la fase externa mediante la adición de glicerina y de este modo obtener microcápsulas con un tamaño mayor. Se probaron distintas relaciones de agua:glicerina en la fase externa, las cuales están resumidas en la Tabla IV.8.

Tabla IV.8. Condiciones de preparación de muestras.

Muestra	Agitación de la $W_1/O$	Agitación $W_1/O/W_2$	$O:W_1$	Agua:glicerina
I	8000 rpm	500 rpm	2,6	1:1
J	8000 rpm	500 rpm	2,6	1:2
K	8000 rpm	500 rpm	2,6	0:1

Al aumentar la cantidad de glicerina en la fase externa  $W_2$ , aumentó la viscosidad de esta por lo que la disolución del cloruro de amonio fue más difícil. En el momento de añadir la emulsión simple  $W_1/O$  a la fase externa  $W_2$  se observó que

la homogenización no era tan instantánea como en los otros casos, sin embargo una vez formada la emulsión múltiple esta era más estable. La observación por el microscopio mostró una disminución en la polidispersidad de las gotas múltiples. Como se puede observar en la Figura IV.9, la adición de glicerina favoreció el aumento de tamaño de las microcápsulas si se comparan con las obtenidas en las mismas condiciones sin glicerina en la fase externa (Figura IV.7, Muestra D). Para una concentración de 50% de glicerina en la fase externa (Muestra I), el tamaño aumentó hasta un valor promedio de entre 3,5-4 $\mu\text{m}$ , un aumento significativo comparado con el valor de 2,5  $\mu\text{m}$  de la Muestra D. El mayor tamaño de microcápsulas fue obtenido usando un 100% de glicerina como fase externa (Muestra K) aumentando éste hasta 4,5 $\mu\text{m}$ , sin embargo las microcápsulas aparentemente poseen una superficie menos lisa. Para una concentración de 75% de glicerina en la fase externa  $W_2$  (Muestra J), las microcápsulas obtenidas tuvieron un tamaño comprendido entre 3 y 4 $\mu\text{m}$  (valores entremedios de los obtenidos a concentraciones de 50 y 100 % de glicerina (Muestra I y K.)), siendo la distribución bastante polidispersa.

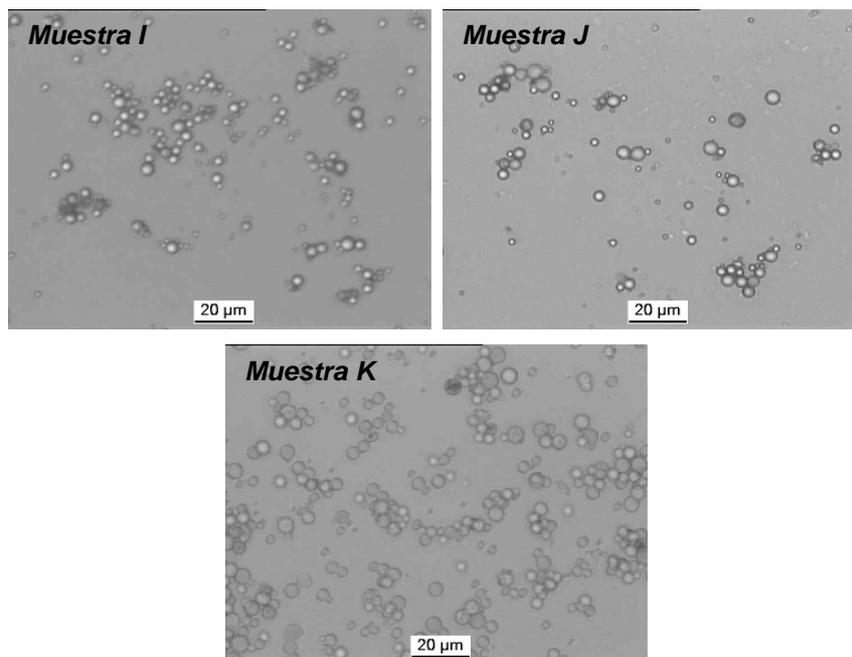


Figura IV.9. Imágenes de microcopia óptica de las Muestras I, J y K hechas con distintas relaciones agua:glicerina.

A pesar de conseguir un aumento de tamaño de las microcápsulas mediante el uso de glicerina en la fase externa, no parece que la reacción de precipitación tenga lugar en la interfase  $O/W_2$  ya que hay una diferencia notable entre el tamaño de la emulsión múltiple de partida y las microcápsulas obtenidas. No se debe descartar, sin embargo, la posible contracción de las partículas (microcápsulas)

durante su formación. Usando una lámpara de fluorescencia para el microscopio óptico se observó que las microcápsulas obtenidas en las Muestras A - K eran fluorescentes, lo cual demuestra que el sistema es capaz de encapsular la fluoresceína disuelta en la fase interna.

Según la bibliografía consultada<sup>36</sup>, el microscopio confocal es una buena herramienta para la observación de estructuras con una cavidad interior. Las imágenes obtenidas mediante microscopía confocal (Figura IV.10) confirmaron la presencia de varias estructuras con cavidades internas.

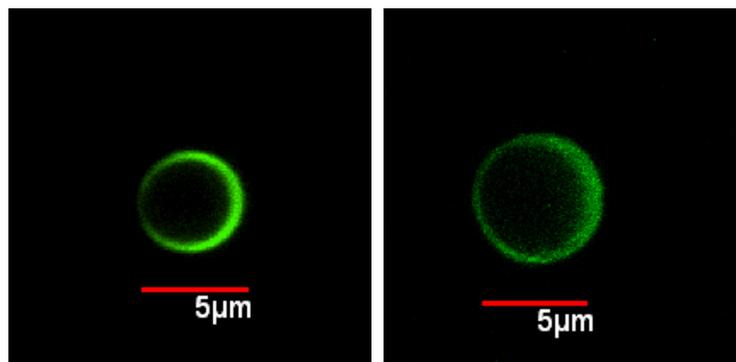


Figura IV.10. Imágenes de microscopía confocal de la Muestra I.

Para estimar aproximadamente el porcentaje de materia orgánica que contenían las microcápsulas de la Muestra I se realizó una termogravimetría (TGA) de la muestra encapsulando fluoresceína.

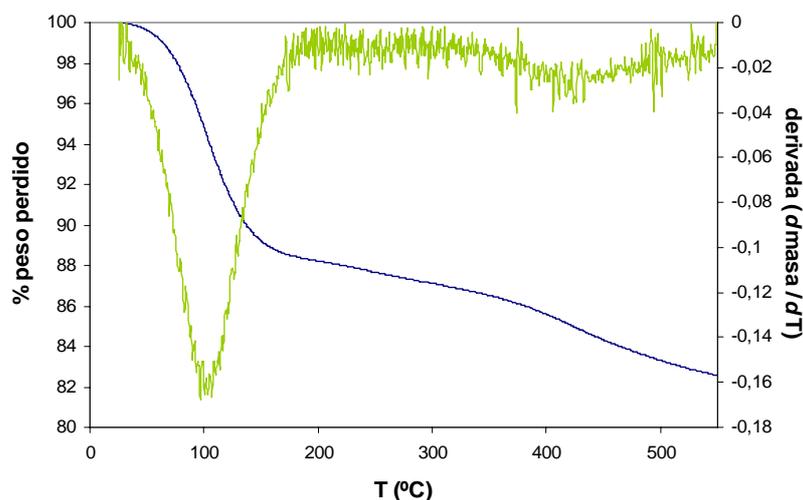


Figura IV.11. Curvas resultantes del análisis termogravimétrico realizado a la Muestra I a una velocidad de 10°C/min

La gran pérdida de peso (aproximadamente del 10%) que tiene lugar a temperaturas inferiores a 100°C se atribuye a la presencia de agua remanente y de componentes volátiles en la muestra (provenientes tanto de la formulación inicial

como del lavado). A partir de 200°C hay una pérdida continua de peso con una pendiente moderada hasta llegar a los 400°C. En este intervalo la pérdida es aproximadamente de un 3%. Debe indicarse que la fluoresceína descompone entre los 314 y 316°C<sup>37</sup>, lo cual debe contribuir a la pérdida indicada. Finalmente, a partir de 400 °C se observa un evidente cambio de pendiente. Dicha pendiente se mantiene prácticamente hasta los 550°C, y puede atribuirse a la descomposición de otros componentes orgánicos residuales (por ejemplo, restos de tensioactivo). Basándose en la información obtenida bajo las condiciones del ensayo calorimétrico, las microcápsulas poseen menos del 20% de materia orgánica.

Algunas de las microcápsulas sintetizadas usando un 100% de glicerina como fase externa muestran otro tipo de estructura en su interior como se puede observar en la Figura IV.12. La presencia aparente de poros y/o partículas esféricas en el interior de otras más grandes, lo cual sugiere una estructura similar a la de la emulsión múltiple actuando de plantilla.

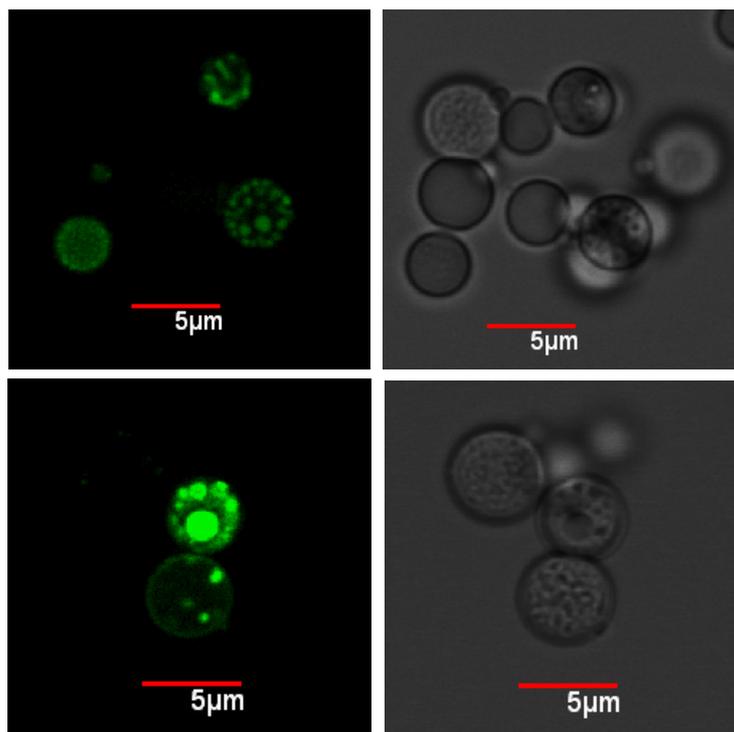


Figura IV.12. Imágenes de microscopía confocal de la Muestra K.

Se proponen dos mecanismos (esquematisados en la Figura IV.13) para la formación de microcápsulas en el presente estudio. El mecanismo 1 supone el desplazamiento de las gotas internas de la emulsión múltiple hacia la interfase O/W<sub>2</sub>. La precipitación de la sílice en la superficie de dichas gotas internas y la posterior evaporación del líquido en su interior produciría los poros observados

causando una superficie menos lisa. El mecanismo 2 supone la ocurrencia de la reacción de precipitación tanto en la interfase  $W_1/O$  como en la  $O/W_2$  lo cual generaría la formación de microcápsulas conteniendo partículas a su vez en el interior. Con estos resultados se puede concluir que el mecanismo de formación de las microcápsulas depende de la naturaleza de la fase externa  $W_2$ .

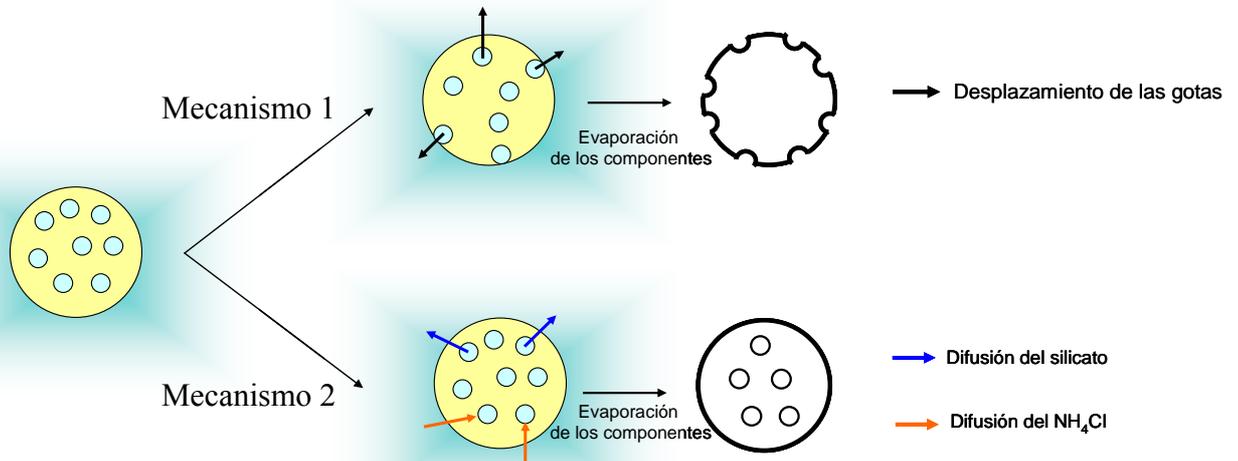


Figura IV.13 Mecanismos propuestos para la obtención de las microcápsulas correspondientes a la Muestra K.

Para tener una información más detallada de la morfología de las microcápsulas correspondientes a las Muestras I y K, se observaron dichas muestras por SEM. Para la Muestra I (Figura IV.14) se observaron partículas esféricas con una superficie lisa. La mayor magnificación obtenida mediante SEM permitió detectar la presencia de dos tipos de poblaciones de microcápsulas, las observables mediante microscopio óptico y otras de tamaño más pequeño; es probable que las partículas muy pequeñas no estén vacías en su interior, debido que la reacción de formación de sílice en todo el volumen se ve favorecida al disminuir el tamaño.

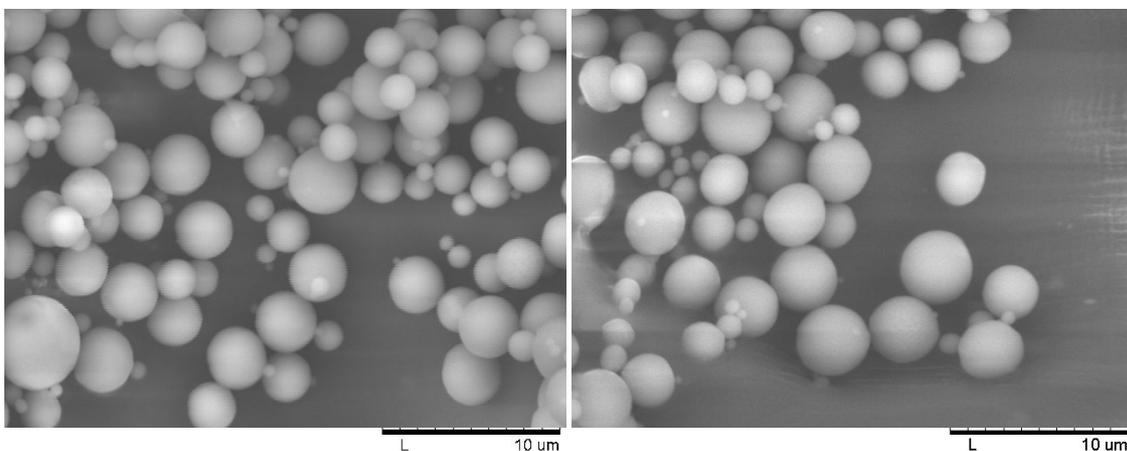


Figura IV.14. Imágenes de SEM de la Muestra I.

La observación de la Muestra K por SEM confirmó lo observado mediante el microscopio óptico con respecto a la presencia en algunas microcápsulas de una superficie rugosa, por la formación de pequeños poros en ella tal y como se puede comprobar en la Figura IV.15.

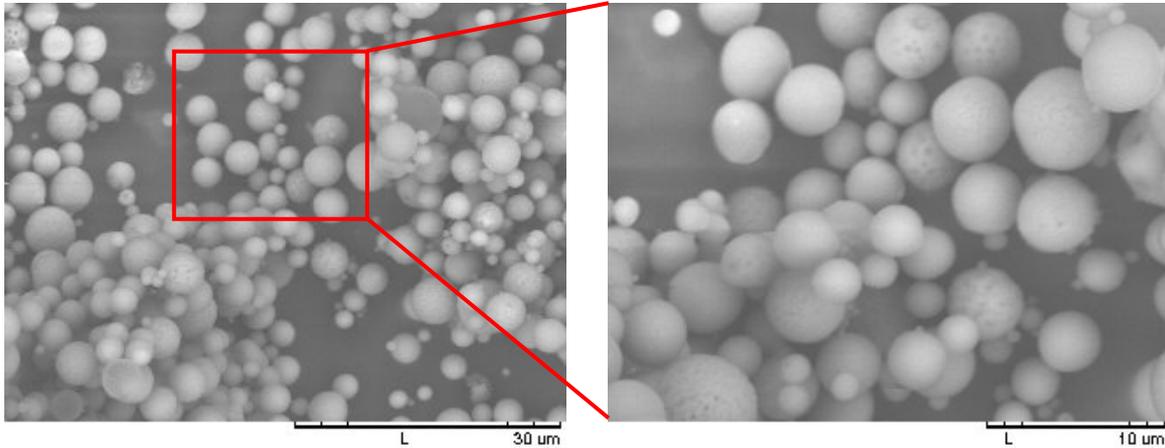


Figura IV.15. Imágenes de SEM de la Muestra K donde se pueden observar las superficies rugosas.

En esta misma muestra K también se pudo observar la presencia de microcápsulas con paredes más finas, con apariencia translúcida y muchas de ellas conteniendo en su interior otras estructuras esféricas (Figura IV.16); esto concuerda con las imágenes obtenidas por el microscopio confocal. Por otra parte también se observan microcápsulas rotas, que muestran más evidentemente la existencia de estructuras huecas.

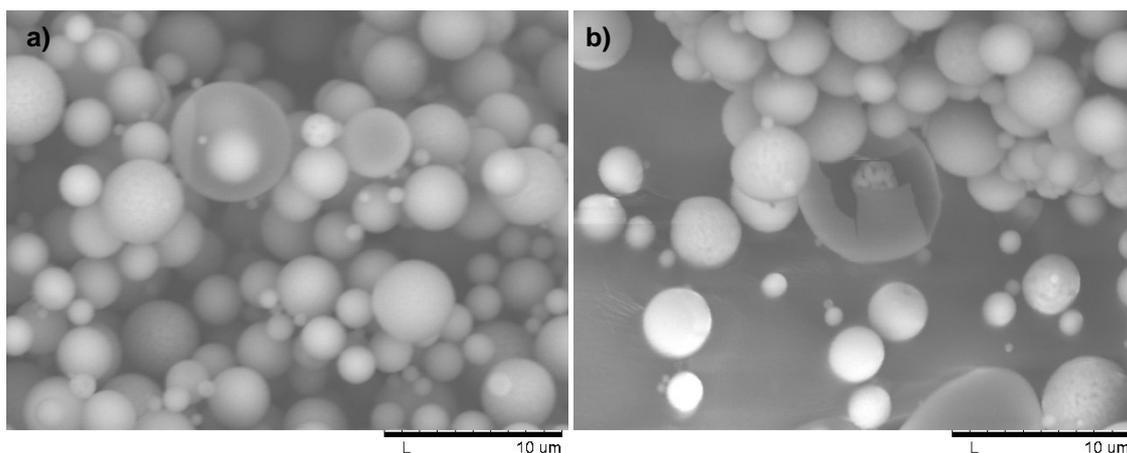


Figura IV.16. Imágenes de SEM de la Muestra K donde se pueden observar a) una microcápsula translúcida con partículas en su interior y b) una microcápsula rota.

### 4.3 ESTUDIOS DE LIBERACIÓN

En principio, se probó el azul de metileno como agente a encapsular. Sin embargo, este colorante es relativamente poco soluble a elevados pH. No se pudieron preparar microcápsulas usando concentraciones del colorante superiores al 0.02% respecto la fase acuosa interna  $W_1$ . Debido a la poca cantidad encapsulada de azul de metileno en la muestra, al realizar los estudios de liberación dispersando las microcápsulas en agua, la señal de absorbancia era casi nula y los cambios en el tiempo eran poco significativos, por lo que se desestimó su uso como agente susceptible a ser encapsulado en el sistema. Por lo tanto, se seleccionó otro colorante más soluble en agua (inclusive a altos pH), el Sunset Yellow FCF.

En los estudios de liberación se utilizaron microcápsulas sintetizadas usando una disolución acuosa al 2% de Sunset Yellow FCF, como fase acuosa interna y siendo las condiciones de preparación las correspondientes a la Muestra I (ver Tabla IV.8).

#### 4.3.1 Efecto del pH

La sílice amorfa es insoluble en medios acuosos cuando el pH está en el intervalo de 4 a 9, pero por encima de 9 la solubilidad aumenta debido a la formación de complejos de sílice solubles<sup>38</sup>, por lo que el mecanismo de liberación del compuesto encapsulado depende del pH del medio dispersante de las microcápsulas. A pH menores de 9 la liberación tiene lugar por mecanismos de difusión a través de los poros en las paredes de la microcápsula, por lo que el compuesto a liberar tiene que ser de un tamaño menor. A pH mayores de 9 la sílice empieza a solubilizarse por lo que la liberación es consecuencia de la disolución de la microcápsula llegando a una liberación total.

Los estudios de liberación se hicieron a las condiciones de pH de 7, 10 y 12. El máximo de la banda de absorción en el UV-Visible del Sunset Yellow FCF varía con el pH del medio. En el rango comprendido entre 7-10 el máximo se mantiene constante a 482 nm pero el valor de la absorbancia para una misma concentración varía según el pH (valores mayores de absorbancia para pH=10) y a pH=12 el máximo se desplaza hasta 446 nm. Por lo tanto, para poder cuantificar la cantidad liberada se realizaron tres rectas de calibración. En la Figura IV.17 se muestran los espectros correspondientes a la recta de calibración a pH neutro.

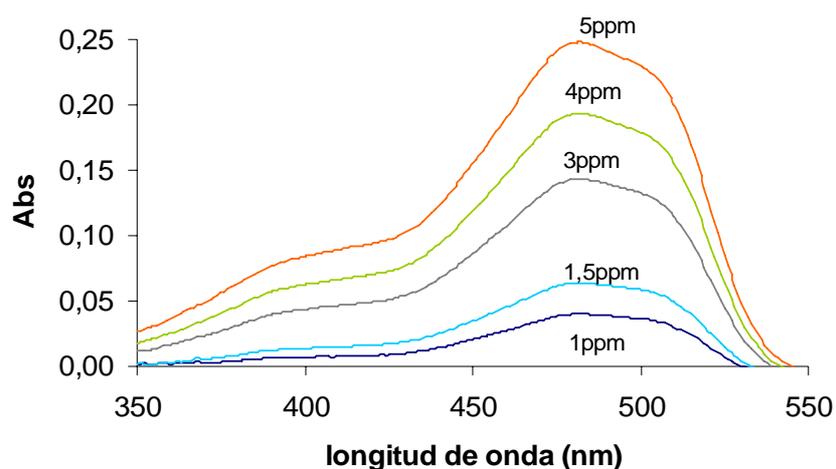


Figura IV.17. Espectro de UV-Visible del Sunset Yellow FCF a distintas concentraciones en un medio a pH neutro.

Tal y como se esperaba, al aumentar el pH del medio donde se dispersan las microcápsulas, la liberación también aumenta (Figura IV.18). El máximo liberado en condiciones neutras es mucho menor que los conseguidos en medios alcalinos. A pH=10 la disolución de la sílice no es total, por lo que la liberación es una combinación entre el proceso de difusión y el de disolución del material encapsulante, mientras que a pH=7 se espera que la liberación ocurra por el proceso de difusión a través de los poros. La observación posterior al estudio de las microcápsulas por el microcopio óptico confirmó este hecho, ya que en el caso del estudio a pH=7 las microcápsulas mantuvieron la misma morfología antes y después de la liberación, mientras que las estudiadas a pH=10 mostraron una modificación en su morfología. Donde se observa una diferencia más notable en cuanto al aumento de la liberación, es en los estudios a pH=12, donde la mayor parte de la liberación tiene lugar en las primeras 5 horas. En este caso las microcápsulas se disolvieron completamente después de las 13 horas de estudio, por lo cual se alcanzó la liberación total.

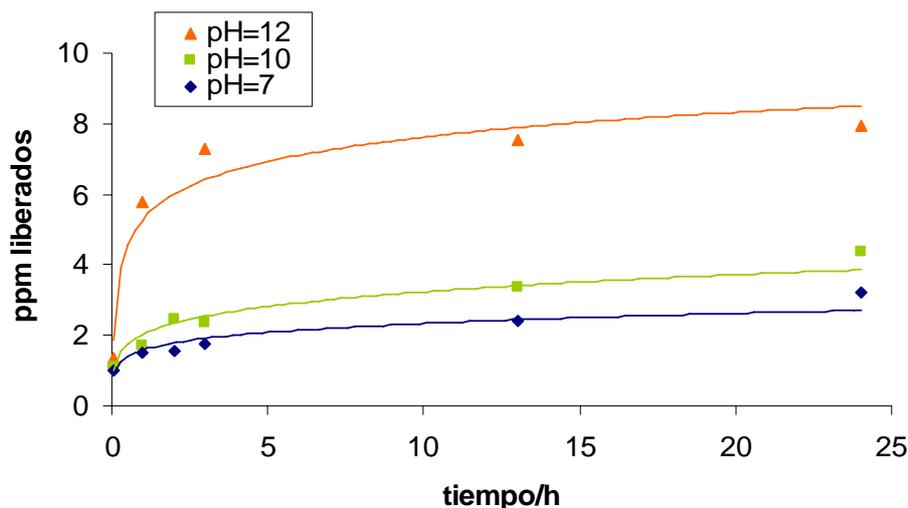


Figura IV.18. Liberación del Sunset Yellow FCF a las distintas condiciones de pH. Las líneas sólidas son solo guías visuales.

Los resultados obtenidos del estudio de liberación concluyen que la liberación de la sustancia encapsulada en este tipo de microcápsulas se puede controlar mediante el pH. A pH bajos la liberación es más lenta que a pH altamente básicos, obteniendo una total liberación para pH=12.

#### 4.3.2 Efecto de la temperatura

Se estudió también el efecto de la temperatura en la liberación del Sunset Yellow FCF del interior de las microcápsulas manteniendo las mismas condiciones de agitación. Al aumentar la temperatura del sistema se favorece la difusión del componente encapsulado hacia el exterior tal y como se puede comprobar en la Figura IV.19, donde se observa que la liberación a 60°C es mayor que a 25°C. La observación por el microscopio de las microcápsulas después de ser estudiadas a 60°C no permitió detectar cambios en la morfología, por lo cual la liberación parece tener lugar principalmente por procesos de difusión favorecidos por un aumento en la temperatura (el coeficiente de difusión y la solubilidad aumentan con la temperatura). No obstante, a pesar que la cantidad liberada aumenta, aun no se llega a la total liberación a 60 °C.

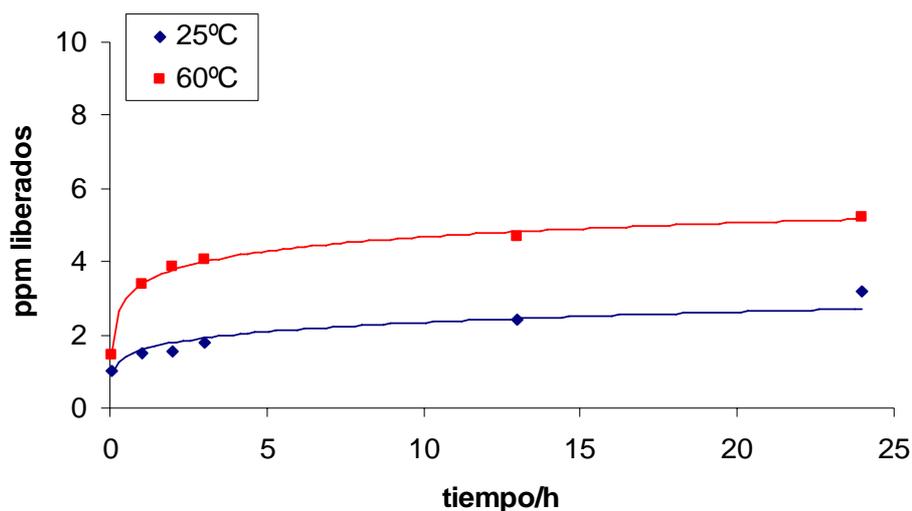


Figura IV.19. Liberación del Sunset Yellow FCF a distintas temperaturas. Las líneas sólidas son solo guías visuales.

Las cinéticas de liberación de componentes a través de poros de una matriz, donde se encuentran encapsulados y en cual son insolubles, sigue en ciertos casos el modelo de Higuchi<sup>39</sup>, el cual establece que la liberación es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo. Otros estudios afirman que la liberación en este tipo de sistemas ocurre en dos etapas, cada una con distintas velocidades de liberación<sup>40</sup>. La primera está asociada con una liberación muy rápida debido al elevado gradiente de concentraciones existente entre el interior de la microcápsula y el medio dispersante; la segunda etapa corresponde con una liberación más pausada a causa de la disminución del gradiente de concentración entre el interior y el exterior, por lo que la difusión disminuye. El comportamiento de las microcápsulas estudiadas en el presente trabajo es más cercano al último tipo de mecanismo mencionado.

#### 4.3.3 Efectos de la aplicación de ondas de ultrasonido

Para estudiar el efecto de un esfuerzo mecánico intenso sobre la liberación de Sunset Yellow FCF, se aplicaron ondas de ultrasonido a las microcápsulas en dispersión durante 2 minutos (equivalente a 640 KJ). La lectura de la absorbancia dio valores del mismo orden que los obtenidos con la agitación magnética (Figura IV.20). Además, la posterior observación de las microcápsulas una vez aplicadas las ondas de ultrasonido mediante microscopio óptico, mostró que estas seguían manteniendo su morfología, por lo que se pudo deducir que la liberación tuvo lugar mediante procesos de difusión a través de las paredes sin la destrucción de estas.

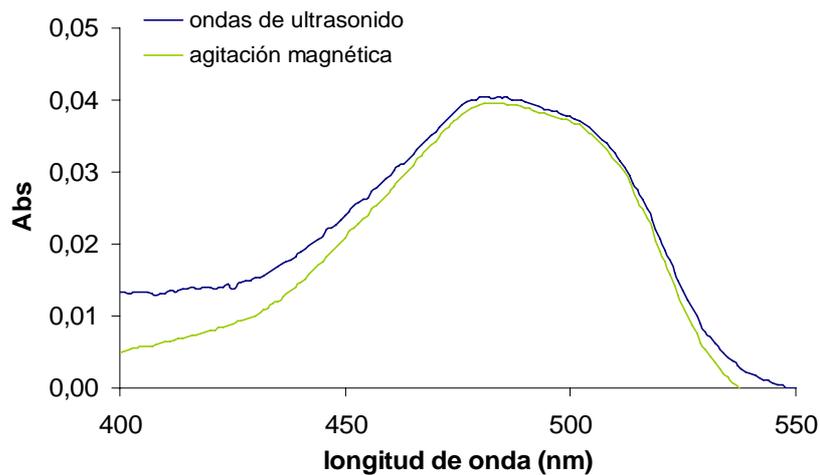


Figura IV.20. Espectro de UV-Visible del Sunset Yellow FCF liberado a los 2 minutos en las condiciones de agitación magnética (200 rpm) y de aplicación de ondas de ultrasonido.

No se observaron tampoco cambios en la morfología para un tiempo de aplicación de las ondas de 10 minutos (equivalente a 3200 KJ), lo que indica que las microcápsulas poseen una elevada resistencia mecánica.

Para la síntesis de las microcápsulas mediante emulsión múltiple se obtuvo un rendimiento del 61,5% respecto a la cantidad máxima teórica obtenible de sílice. La cantidad encapsulada de Sunset Yellow FCF, se calculó a partir de la concentración y cantidad de la solución después de 24 horas de liberación a pH=12. Se supone que a estas condiciones la disolución de las microcápsulas lleva a la liberación total, y la cantidad de colorante en la solución es equivalente a la cantidad inicialmente encapsulada; de esta manera se estima que la cantidad de Sunset Yellow FCF en las microcápsulas es cercana al 1%. Ello representa un 3% de eficiencia de encapsulación. Este bajo rendimiento puede ser debido a la alta solubilidad del Sunset Yellow FCF en medios acuosos, por lo cual tiene gran tendencia a transferirse hacia la fase acuosa externa  $W_2$  durante la síntesis de las microcápsulas.

## V. CONCLUSIONES

1. Se ha conseguido formular una emulsión múltiple estable usando una disolución acuosa de silicato de sodio como fase acuosa interna ( $W_1$ ), heptano como fase intermedia oleosa (O) y agua como fase acuosa externa ( $W_2$ ). Se ha usado el tensioactivo siliconado EMALOX SS-5051 como tensioactivo hidrófobo para la estabilización de la interfase  $W_1/O$  y el tensioactivo hidrófilo Tween 20 para la interfase  $O/W_2$ . La emulsión múltiple obtenida es lo suficientemente estable como para servir de plantilla en la eventual formación de microcápsulas de sílice.

2. Se han obtenido microcápsulas de sílice mediante el uso de emulsiones múltiples como plantillas, pudiendo incorporar el agente activo in-situ (fluoresceína y Sunset Yellow FCF) durante el proceso de síntesis de las microcápsulas (proceso de una sola etapa).

3. Se han estudiado los efectos que tienen la variación de parámetros de formación (agitación tanto durante la formación de la emulsión simple  $W_1/O$  como durante la formación de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ ) y formulación (relación  $O:W_1$  y adición de agentes viscosos a la fase acuosa externa  $W_2$ ) de la emulsión múltiple en el tamaño y la morfología de las microcápsulas. Las microcápsulas con un mayor tamaño se obtuvieron a bajas velocidades de mezclado durante la formación de la emulsión simple  $W_1/O$  y durante la formación de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ , con una relación  $O:W_1$  elevada y con la presencia de glicerina en la fase externa  $W_2$ . Se pudo comprobar la existencia de cavidades en el interior de las microcápsulas por microscopía confocal y microscopía electrónica de rastreo (SEM).

4. Se ha estudiado la difusión del colorante encapsulado Sunset Yellow FCF a diferentes condiciones de pH, temperatura y bajo la aplicación de ondas de ultrasonido. La liberación resultó ser mayor a valores elevados de pH, debido a una disolución parcial o total de las microcápsulas. La liberación también aumenta con la temperatura, por lo que se puede considerar que la cinética de liberación de las microcápsulas obtenidas es susceptible de ser controlada mediante los parámetros mencionados. Sin embargo la aplicación de ondas de ultrasonido no tuvo repercusión tangible ni en la liberación ni en la morfología de las microcápsulas, de

lo cual se deduce que las microcápsulas obtenidas tienen una elevada resistencia mecánica.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> B. Jonson, B. Lindman, K. Holmberg, B. Kronberg. Surfactants and polymers in aqueous solution. Ed. John Wiley&Sons (1998)
- <sup>2</sup> W. C. J. Griffin, Soc. Cosmet. Chem 5, 249 (1954)
- <sup>3</sup> B. P. Binks. Modern aspects of emulsion science. The Royal Society of Chemistry (1998)
- <sup>4</sup> B. V. Derjaguin, L. D. Landau. Acta Physicochimica 14, 633 (1941)
- <sup>5</sup> E. J. W. Verwey, J. T. G. Overbeek, K. van Nes, J. Phys. Coll. Chem 51, 631 (1947)
- <sup>6</sup> D. F. Evans, H, Wennerström. The colloidal domain. Where physics, chemistry, biology, and technology meet. VCH Publishers (1994)
- <sup>7</sup> W. D. Bancroft. J. Phys. Chem. 17 (6), 501 (1913)
- <sup>8</sup> J. L. Salager Phase transformation and Emulsion Inversion on the Basis of Catastrophe Theory, en Encyclopedia of Emulsion Technology. Vol. 3, P. Becher. Eds. M. Dekker (1988)
- <sup>9</sup> K. Shinoda. H. Arai, J. Phys. Chem 68, 3485 (1964)
- <sup>10</sup> J. L. Salager Emulsion properties and related know-how to attain them en Pharmaceutical emulsions and suspensions, F. Nielloud, G. Marti-Mestres Eds. M. Dekker (2000)
- <sup>11</sup> W. Seifritz, J. Phys. Chem 29, 738 (1925)
- <sup>12</sup> S. Raynal, J. L. Grossiord, M. Seiller, D. Clause. J. Control. Release 26, 129 (1993)
- <sup>13</sup> N. Garti. Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 123-124, 233 (1997)
- <sup>14</sup> J. M. Morais, O. D. H. Santos, J. R. L. Nunes, C. F. Zanatta, P. A. Rocha-Filho. J. Dispersion Sci. Technol 29, 63 (2008)
- <sup>15</sup> M. Seiller, F. Puisieux, J. L. Grossiord. Multiple emulsions in cosmetics en Surfactants in cosmetics. M. M. Rieger, L. D. Rhein Eds. M. Dekker. Surfactant Science Series. Vol 68 (1997)
- <sup>16</sup> W. Engl, R. Backov, P. Panizza. Curr. Op. Coll. Int. Sci. 13, 206 (2008)
- <sup>17</sup> M. F. Ficheux, L. Bonakdar, F. Leal-Caledron and J. Bibette. Langmuir 14, 2702 (1998)
- <sup>18</sup> N. Jager\_jezer, I. Terrisse, F. Bruneau, S. Tokgoz, L. Ferreira, D. Clause, M. Seiller, J. L. Grossiord. J. Control. Release 45, 1 (1997)
- <sup>19</sup> K. Pays, J. Giermanska-Kahn, B. Pouligny, J. Bibette, F. Leal-Calderon. Langmuir. 17, 7758 (2001)

- <sup>20</sup> L. Potier, S. Raynal, M. Seiller, J-L. Grossiord, D. Clause. *Thermochim. Acta*, 204. 145 (1992)
- <sup>21</sup> W. Sliwka. *Angew. Chem. Internat. Edit.* 14, 539 (1975)
- <sup>22</sup> F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Science* 282, 1111 (1998)
- <sup>23</sup> Y. F. Zhu, J. L. Shi, Y. S. Li, H. R. Chen, W. H. Shen, X. P. Dong. *J. Mat. Res* 20. 54 (2005)
- <sup>24</sup> R. Bodmeier, H. Chen, P. Tyleb, P. Jaroszb. *J. Control. Release* 15. 65 (1991)
- <sup>25</sup> J. Herrmann, R. Bodmeier. *Int. J. Pharm.* 126, 129-138 (1995)
- <sup>26</sup> I. H. Ciapara, L. F. Valenzuela, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal. *Carbohydr. Poly.* 56 , 41 (2004)
- <sup>27</sup> I. Kimura. *Res. Lett. Mat. Sci.* Article ID 71284 (2007) (Open access journal)
- <sup>28</sup> M. Fujiwara, K. Shiokawa, Y. Tanaka, Y. Nakahara. *Chem. Mater* 16, 5420 (2004)
- <sup>29</sup> M. Fujiwara, K. Shiokawa, K. Hayashi, K. Moriagaki, Y. Nakahara. *J. Biomed. Mat. Research. A* 81, 103-112 (2007)
- <sup>30</sup> C. Barbé, J. Bartlett, L. Kong, K. Finne, H. Q. Lin, M. Larkin, S. Calleja, A. Bush, G. Calleja. *Adv. Mat* 16, 1959 (2004)
- <sup>31</sup> R. K. Sharma, S. Das, A. Maitra. *J. Coll. Interf. Sci* 284. 358 (2005)
- <sup>32</sup> M. H. Lee, S. G. Oh, S. K. Moon, S. Y. Bae. *J. Coll. Interf. Sci.* 240, 83 (2001)
- <sup>33</sup> C. Oh, S. C. Chung. S. Shin, Y. C. Kim, S. S. Im, S. G. Oh. *J. Coll. Interf. Sci.* 254, 79 (2002)
- <sup>34</sup> Y. J. Hwang, C. Oh, S. G. Oh. *J. Control. Release* 106, 339 (2005)
- <sup>35</sup> B. P. Binks. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 71, 167 (1993)
- <sup>36</sup> B. G. Geest, C. Déjugnat, M. Prevot, G. B. Sukhorukov, J. Demeester, S. C. Smedt. *Adv. Funct. Mater.* 17, 531 (2007)
- <sup>37</sup> The Merck Index, 12th edition. Ed. Whitehouse Station (1996)
- <sup>38</sup> D. N. Furlong. *The colloid chemistry of silica.* Ed. H. Bergna. *Advances in Chemistry Series. Vol 234.* ACS, Washington (1994)
- <sup>39</sup> T. Higuchi. *J. Pharm. Sci.* 50, 874 (1961)
- <sup>40</sup> J. X. Wang, Z. H. Wang, J. F. Chen, J. Yun. *Mat. Res. Bull.* 43, 3374 (2008)