

Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева

На правах рукописи

Наговицына Татьяна Юрьевна

**Прямые наноэмульсии, стабилизированные
неионогенными ПАВ, для инкапсулирования
лекарственных веществ**

02.00.11 – Коллоидная химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
профессор Королева М. Ю.

Москва - 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	7
Глава 1. Литературный обзор	12
1.1. Наноэмульсии. Общая характеристика	12
1.2. Процессы, приводящие к расслаиванию наноэмульсий	16
1.3. Методы получения наноэмульсий	23
1.3.1. Высокоэнергетические методы получения наноэмульсий	23
1.3.1.1. Получение наноэмульсий механическим диспергированием.....	24
1.3.1.2. Получение наноэмульсий диспергированием под действием ультразвука.....	25
1.3.1.3. Получение наноэмульсий гомогенизацией под действием высокого давления.....	28
1.3.2. Низкоэнергетические методы получения наноэмульсий	32
1.3.2.1. Метод температурной инверсии фаз.....	32
1.3.2.2. Метод инверсии фаз при изменении состава.....	35
1.3.2.3. Спонтанное наноэмульгирование.....	38
1.4. Применение наноэмульсий	40
1.4.1. Применение наноэмульсий в фармацевтической отрасли.....	40
1.4.2. Применение наноэмульсий в других отраслях.....	43
Глава 2. Методики экспериментов и анализов	46
2.1. Реактивы и материалы	46
2.2. Методы исследования	47
2.2.1. Кондуктометрический метод для определения температуры инверсии фаз.....	47

2.2.2. Метод динамического светорассеяния для определения размера капель дисперсной фазы в наноэмульсиях.....	48
2.2.3. Измерение электрофоретической подвижности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях.....	48
2.2.4. Метод дифференциально-сканирующей калориметрии для определения температуры плавления ПАВ твердообразного адсорбционного слоя в наноэмульсиях.....	49
2.2.5. Метод поляризационной оптической микроскопии для определения жидкокристаллических структур в наноэмульсиях.....	49
2.2.6. Метод просвечивающей электронной микроскопии для исследования наноэмульсий.....	50
Глава 3. Результаты и обсуждение.....	51
3.1. Наноэмульсии «масло-в-воде», стабилизированные Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80.....	51
3.1.1. Определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30.....	52
3.1.1.1. Температура инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30.....	52
3.1.1.2. Влияние интенсивности перемешивания на дисперсность наноэмульсий.....	54
3.1.1.3. Влияние концентраций Brij 30 и дисперсной фазы на дисперсность наноэмульсий.....	56
3.1.1.4. Влияние концентрации водного раствора NaCl на дисперсность наноэмульсий, стабилизированных Brij 30.....	57
3.1.2. Определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80.....	59
3.1.2.1. Наноэмульсии, полученные высокоэнергетическим методом.....	59

3.1.2.2. Наноэмульсии, полученные методом инверсии фаз при изменении состава.....	61
3.1.2.2.1. Влияние интенсивности перемешивания на размер капель дисперсной фазы.....	61
3.1.2.2.2. Влияние температуры проведения процесса получения наноэмульсий на размер капель дисперсной фазы.....	62
3.1.2.2.3. Влияние концентрации водного раствора NaCl на размер капель дисперсной фазы наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80.....	64
3.1.2.2.4. Влияние мольного соотношения Tween 80 / Span 80 на размер капель дисперсной фазы.....	65
3.1.2.2.5. Влияние суммарной концентрации ПАВ на размер капель дисперсной фазы.....	67
3.1.2.3. Наноэмульсии, полученные методом температурной инверсии фаз.....	68
3.1.2.3.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80.....	68
3.1.2.3.2. Влияние мольного соотношения Tween 80 / Span 80 на размер капель дисперсной фазы.....	70
3.1.2.3.3. Влияние суммарной концентрации Tween 80 и Span 80 на размер капель дисперсной фазы.....	71
3.1.3. Сравнение высокоэнергетического и низкоэнергетических методов получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80.....	72
3.2. Процессы, приводящие к уменьшению дисперсности наноэмульсий.....	75
3.2.1. Теоретическое описание процессов, приводящих к уменьшению дисперсности и расслаиванию наноэмульсий.....	75

3.2.2. Характеристика наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 + Span 80, после их получения.....	77
3.2.3. Определение скорости оствальдова созревания в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 или Tween 80 и Span 80.....	79
3.2.4. Определение роли процессов коагуляции, коалесценции и оствальдова созревания в расслаивании наноэмульсий, стабилизированных Brij 30.....	82
3.2.5. Определение вклада процессов коагуляции, коалесценции и оствальдова созревания в уменьшении дисперсности наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80.....	85
3.2.6. Анализ данных о процессах, протекающих в наноэмульсиях с низкой и высокой концентрацией дисперсной фазы.....	88
3.3. Наноэмульсии «масло-в-воде» с твердообразным адсорбционным слоем на поверхности капель дисперсной фазы.....	89
3.3.1. Определение температуры плавления ПАВ и их смесей, использованных для стабилизации наноэмульсий.....	90
3.3.2. Наноэмульсии, стабилизированные смесью Solutol HS 15 и Span 60.....	92
3.3.2.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных смесью Solutol HS 15 и Span 60.....	93
3.3.2.2. Влияние интенсивности охлаждения и перемешивания на дисперсность наноэмульсий.....	95
3.3.2.3. Влияние суммарной концентрации ПАВ на дисперсность наноэмульсий.....	97
3.3.2.4. Влияние мольного соотношения ПАВ на дисперсность наноэмульсий.....	100

3.3.2.5. Устойчивость наноэмульсий, стабилизированных смесью Solutol HS 15 и Span 60.....	103
3.3.3. Наноэмульсии, стабилизированные смесями Tween 80, Tween 60, Span 80, Span 60 в различных комбинациях.....	104
3.3.3.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных смесями Tween и Span.....	105
3.3.3.2. Влияние мольного соотношения Tween / Span на дисперсность наноэмульсий.....	106
3.3.3.3. Устойчивость наноэмульсий, стабилизированных смесями Tween и Span.....	109
3.3.3.4. Изучение структуры твердой оболочки на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 60 и Span 60.....	110
3.4. Влияние инкапсулирования лекарственных веществ с низкой полярностью на дисперсность и устойчивость наноэмульсий, стабилизированных Tween 60 и Span 60.....	112
Выводы.....	116
Список литературы.....	118

Введение

В настоящее время наноэмульсии интенсивно изучаются в качестве средств направленной доставки лекарственных препаратов в организм человека [1-5], для детоксикации организма человека и вывода радиоактивных нуклидов [6], для использования в пищевых продуктах [7-9] и многих других. Размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях не превышает 100 нм, поэтому при их использовании в качестве векторов, например, при трансдермальной доставке лекарственные вещества и биологически-активные соединения быстрее проникают через эпидермис кожи [10-12].

Дисперсность наноэмульсий зависит от состава и способа их получения [13]. Для получения наноэмульсий используются высокоэнергетические и низкоэнергетические методы [14]. Среди высокоэнергетических методов производства наноэмульсий можно выделить механическое диспергирование [15], диспергирование под действием ультразвука [16], гомогенизация под действием высокого давления [17, 18].

Низкоэнергетические методы основаны на инверсии фаз, которая происходит при изменении температуры или состава системы [19-23]. Низкоэнергетические методы имеют ряд преимуществ по сравнению с высокоэнергетическими - это низкие затраты времени и энергии, более простой технологический процесс, не требующий дорогостоящего оборудования. По сравнению с высокоэнергетическими методами при получении наноэмульсий низкоэнергетическими методами инкапсулированные в каплях дисперсной фазы лекарственные вещества не подвергаются разрушению [14]. Поэтому в данной работе основными методами получения наноэмульсий были методы инверсии фаз при изменении температуры и состава.

Наноэмульсии перспективны для применения в различных областях, однако в настоящее время имеется лишь ограниченное количество примеров их практического использования. Прежде всего, это связано с тем, что наноэмульсии являются термодинамически нестабильными дисперсными

системами [18-20]. Укрупнение капель дисперсной фазы со временем может быть обусловлено остwaldовым созреванием, коагуляцией и последующей коалесценцией. Большинство исследователей считает, что основным процессом, приводящим к расслаиванию наноэмульсий, является остwaldово созревание [21, 24, 26-30].

Однако в литературе не приводятся сведения о детальном исследовании процессов дестабилизации наноэмульсий, в большинстве работ анализируется только процессы остwaldова созревания и коалесценции. При этом полагается, что коагуляция капель в таких дисперсных системах не протекает [16].

Поэтому актуальным является определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных неионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВ) - Brij 30, Tween 80, Tween 60, Span 80, Span 60, Solutol HS 15. Для увеличения устойчивости наноэмульсий необходимо детальное исследование процессов, приводящих к снижению дисперсности таких систем. Это позволит на основе анализа данных о влиянии процессов коагуляции, коалесценции и остwaldова созревания на расслаивание таких дисперсных систем разработать составы высокоустойчивых наноэмульсий и создать на их основе нанокапсулы, предназначенные для трансдермальной доставки лекарственных веществ: (+)α-токоферола, гидрокортизона, куркумина, нимесулида.

Целью работы являлась разработка коллоидно-химических основ получения наноэмульсий, устойчивых к остwaldову созреванию, коагуляции и коалесценции; получение на их основе высокоустойчивых нанокапсул с лекарственными веществами.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить условия получения прямых наноэмульсий, стабилизированных неионогенными ПАВ: Brij 30, Tween 80, Tween 60, Span 80 и Span 60 с диаметром капель дисперсной фазы менее 100 нм.

2. Установить вклад процессов оствальдова созревания, коагуляции и коалесценции в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, Tween 80, Tween 60, Span 80 и Span 60 с разной долей дисперсной фазы.
3. Получить высокоустойчивые нанокапсулы с оболочкой из твердообразного адсорбционного слоя ПАВ.
4. Получить высокоустойчивые нанокапсулы с лекарственными веществами: (+)α-токоферола, гидрокортизона, куркумина, нимесулида.

Научная новизна работы заключалась в следующем:

Определены концентрационные диапазоны образования прямых наноэмульсий с диаметром капель дисперсной фазы <100 нм методами температурной инверсии фаз и инверсии фаз при изменении состава:

- в системе углеводородное масло / Brij 30 / 0,17 М водный раствор NaCl - концентрация Brij 30 - 1,0-7,5 об.%, доля дисперсной фазы 10-40 об.%;
- в системе углеводородное масло / Tween 80 + Span 80 / 0,17 М водный раствор NaCl: суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 - 5-10 об.%, доля дисперсной фазы 25-45 об.%

Определены значения скорости стационарной стадии оствальдова созревания: $(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-29} \text{ м}^3/\text{с}$ в наноэмульсиях с углеводородным маслом в качестве дисперсной фазы, стабилизированных Brij 30; $(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-29} \text{ м}^3/\text{с}$ в наноэмульсиях с Tween 80 и Span 80.

Показано, что в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 (доля дисперсной фазы 17-35 об.%), в первые сутки после получения преобладала коагуляция капель, в последующее время - коалесценция. В наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80 (доля дисперсной фазы 20-45 об.%), уменьшение дисперсности обусловлено оствальдовым созреванием и коагуляцией.

Достигнуто увеличение стабильности наноэмульсий к оствальдову созреванию за счет создания твердообразной оболочки, образованной

молекулами ПАВ - Tween 60 и Span 60, на поверхности капель дисперсной фазы. Установлено, что основной вклад в увеличение стабильности к остальдову созреванию вносило ПАВ с более низким значением ГЛБ – Span 60.

Показано, что инкапсулирование неполярных лекарственных веществ: (+)α-токоферола, гидрокортизона, куркумина, нимесулида не приводило к снижению дисперсности и устойчивости исследованных наноэмульсий.

Практическая значимость работы:

Определены составы и условия получения прямых наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, Tween 80, Tween 60, Span 80, Span 60, Solutol HS 15 методами инверсии фаз при изменении температуры или состава.

Получены высокоустойчивые нанокапсулы на основе наноэмульсий с оболочкой из твердообразного адсорбционного слоя ПАВ.

Показана возможность использования исследованных прямых наноэмульсий для инкапсулирования лекарственных веществ: (+)α-токоферола, гидрокортизона, куркумина, нимесулида.

Достоверность результатов обеспечена использованием комплекса взаимодополняющих современных апробированных методов исследования (метод динамического светорассеяния, просвечивающая электронная микроскопия, поляризационная оптическая микроскопия, дифференциально-сканирующая калориметрия, кондуктометрия), воспроизводимостью результатов экспериментов.

Интерпретация результатов исследования основана на современных представлениях о физико-химических свойствах наноэмульсий. Полученные закономерности согласуются с результатами других авторов, изучающих свойства прямых наноэмульсий.

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на II Всероссийской школе-семинаре студентов, аспирантов и молодых ученых по тематическому направлению деятельности национальной нанотехнологической сети «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества» (Москва, 2011), на XXV-XXIX Международной конференции молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2011», «МКХТ-2012», «МКХТ-2013», «МКХТ-2014», «МКХТ-2015» (Москва, 2011-2015), на Международной конференции «Химическая технология ХТ'12» (Москва, 2012), на III Всероссийской молодежной конференции с элементами научной школы «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества» (Москва, 2012), на Международной научно-практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии» (Москва, 2012, 2014), на IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics (Moscow, 2013), на V ежегодной конференции Нанотехнологического общества России (Москва, 2013), на III Всероссийском симпозиуме с международным участием по поверхностно-активным веществам «ПАВ 2015» (Санкт-Петербург, 2015), на Всероссийской молодежной конференции с международным участием «Химическая технология функциональных наноматериалов» (Москва, 2015).

По материалам исследований, обобщенных автором в диссертации, опубликовано 17 научных работ, в том числе 2 статьи представлены в научных журналах из списка ВАК РФ и 15 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Наноэмульсии. Общая характеристика

Наноэмульсии – это дисперсные системы с диаметром капель дисперсной фазы до 100 нм [31]. Наноэмульсии состоят из органической фазы, водной фазы и ПАВ, адсорбированных на поверхности капель дисперсной фазы.

Наноэмульсии классифицируются на прямые и обратные. В прямых наноэмульсиях наиболее полярная жидкость (чаще всего вода) является дисперсионной средой, в обратных – дисперсной фазой. Полярную жидкость принято условно называть «водой», неполярную – «маслом». Соответственно, прямые наноэмульсии в литературе часто называют наноэмульсиями «масло-в-воде» (М/В), обратные – эмульсии «вода-в-масле» (В/М) (рис. 1.1). Превращение одного вида эмульсии в другой вид - инверсия фаз, возможна при изменении условий или при добавлении каких-либо веществ в систему [32].

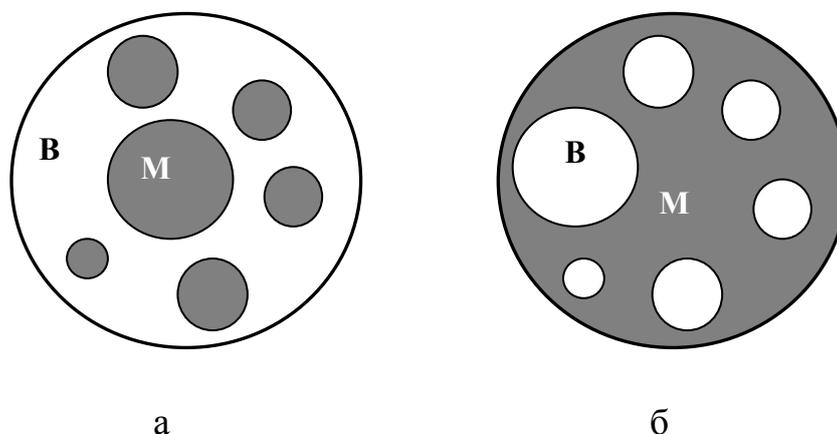


Рис. 1.1. Схематичное изображение прямой (а) и обратной (б) наноэмульсий

Для определения типа наноэмульсии пользуются следующими методами:

а) *Метод разбавления* заключается в добавлении к эмульсии небольшого количества жидкости, образующей одну из фаз наноэмульсии. Та жидкость, которая представляет собой дисперсионную среду, легко разбавляет

наноземульсию, в то время как дисперсная фаза разбавлять ее не может. Например, если капля наноземульсии равномерно распределяется в воде, то это прямая наноземульсия.

б) *Метод окраски* основан на растворении красителя в фазах наноземульсии. Для определения типа наноземульсии берут два красителя: один – водорастворимый, другой – маслорастворимый. Помещают их на поверхность наноземульсии. Если наноземульсия прямая, то произойдет быстрое растворение водорастворимого красителя, если наноземульсия обратная, то быстрее растворится маслорастворимый краситель.

в) *Метод электропроводности* основан на значительном различии электропроводности водной и масляной фаз, составляющих наноземульсию. Прямая наноземульсия лучше проводит электрический ток, соответственно электропроводность такой дисперсной системы выше. Обратная наноземульсия проводит электрический ток значительно хуже, поэтому электропроводность существенно ниже. Исследуя зависимость электропроводности от температуры, можно определить тип наноземульсии и инверсию фаз в системе.

Наноземульсии содержат мелкие капли, в которых свет рассеивается слабо, следовательно, такие дисперсные системы могут быть прозрачными или полупрозрачными (рис. 1.2) [33, 34].

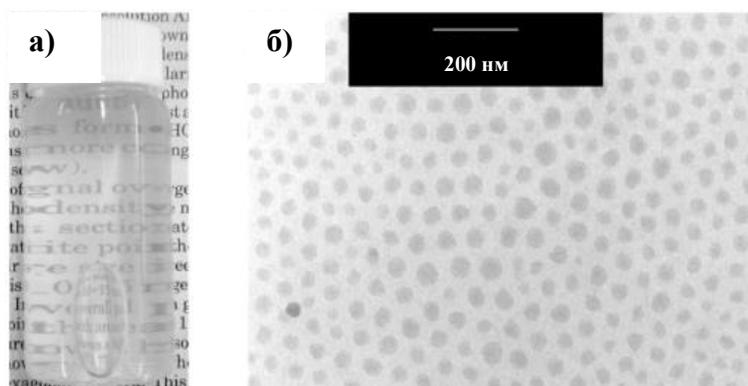


Рис. 1.2. Фотография наноземульсии (а) и микрофотография с просвечивающего электронного микроскопа (б) [35]

В зависимости от концентрации дисперсной фазы эмульсии подразделяют на разбавленные, концентрированные и высококонцентрированные. Разбавленные эмульсии содержат концентрацию дисперсной фазы до 0,1 об.%. Доля дисперсной фазы в концентрированных эмульсиях не превышает 74 об.%. Это максимальная концентрация, которая соответствует плотной гексагональной упаковке сферических капель одинакового размера при отсутствии их деформирования. В концентрированных эмульсиях капли постоянно находятся в контакте, и поэтому они устойчивы только в присутствии стабилизатора. Если концентрация дисперсной фазы превышает 74 об.%, то эмульсию называют высококонцентрированной. В таких эмульсиях движение капель отсутствует, капли существенно деформированы. Дисперсионная среда приобретает вид тонких прослоек – эмульсионных пленок.

Вязкость наноэмульсий зависит от доли дисперсной фазы, вязкости дисперсионной среды и дисперсной фазы, наличия различных структур в дисперсионной среде. Обычно наноэмульсии, состоящие из углеводов, диспергированных в водной среде, представляют собой текучие жидкости с низкой вязкостью. При увеличении доли дисперсной фазы и добавлении в дисперсионную среду глицерина могут быть получены полупрозрачные нетекучие наноэмульсии (рис. 1.3).

В литературе часто микроэмульсии называют наноэмульсиями. Это можно объяснить тем, что у микроэмульсий и наноэмульсий одинаковый размер капель дисперсной фазы (до 100 нм). Однако эти дисперсные системы сильно отличаются друг от друга [37].

Микроэмульсии – термодинамически стабильные системы, в то время как наноэмульсии – термодинамически нестабильные и для них характерны процессы укрупнения капель дисперсной фазы с течением времени [38]. Наноэмульсиям присущ избыток поверхностной энергии G^S из-за относительно высокого поверхностного натяжения на границе раздела дисперсионной среды

и дисперсной фазы 1-10 мН/м [39]. Для получения наноэмульсий, в отличие от микроэмульсий, необходимо внесение дополнительной энергии извне системы [19].

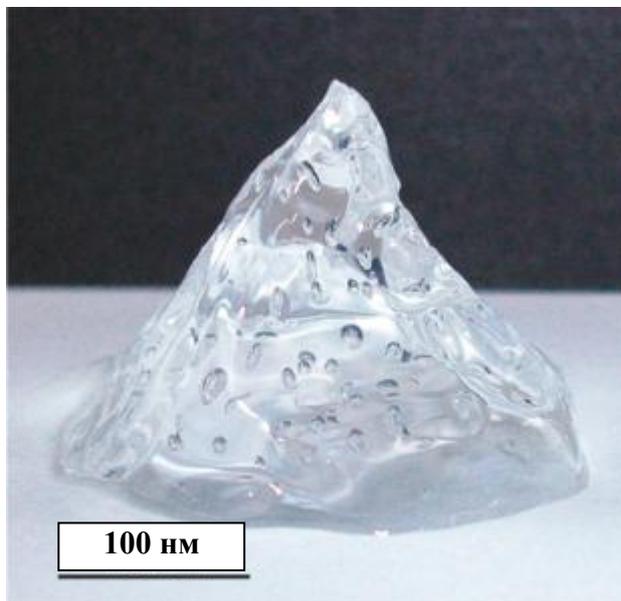


Рис. 1.3. Наноэмульсия, состоящая из 30 мас.% глицерина, 3 мас.% этанола, 16 мас.% диметилполисилаксана, 5 мас.% жирных кислот, 1,5 мас.% n-стеарил-L-глутамата натрия и воды [36]

Критическое межфазное натяжение $\sigma_{кр}$, при котором обеспечивается термодинамическая стабильность дисперсных систем, определяется уравнением Ребиндера-Щукина [32]:

$$\sigma_{кр} = \gamma \frac{k_B T}{a^2} \quad (1.1)$$

где γ – безразмерный коэффициент; k_B – константа Больцмана; a – средний размер частиц.

При условии эффективной стабилизации наноэмульсии могут обладать относительно высокой кинетической стабильностью [40].

Для стабилизации наноэмульсий требуется значительно меньшая концентрация ПАВ, чем для получения микроэмульсий. Низкое содержание

ПАВ в наноэмульсиях может значительно снизить негативное действие ПАВ при практическом применении таких эмульсий в фармацевтической, косметической, пищевой и других отраслях промышленности [41].

1.2. Процессы, приводящие к расслаиванию наноэмульсий

Наноэмульсии – термодинамически нестабильные дисперсные системы, для которых характерно укрупнение капель дисперсной фазы с течением времени [42]. Увеличению размеров капель происходит из-за протекания таких процессов, как коагуляция и последующая коалесценция, оствальдово созревание (рис. 1.4). При протекании этих процессах поверхностная энергия дисперсных систем G^S уменьшается [43].

Коагуляция наблюдается в том случае, если силы притяжения между каплями дисперсной фазы превышают силы отталкивания. Это приводит к объединению капель во флоккулы. Устойчивость наноэмульсий к коагуляции может быть оценена на основании анализа поверхностных сил, действующих в прослойках дисперсионной среды между каплями дисперсной фазы.

В зависимости от типа эмульгатора различают электростатическую и стерическую стабилизацию наноэмульсий [44]. Электростатическое отталкивание происходит при адсорбции на поверхности капель дисперсной фазы ионогенных ПАВ.

Стерическая стабилизация наноэмульсий обусловлена адсорбцией неионогенных ПАВ или полимеров. В таких системах при сближении капель и уменьшении толщины прослойки между ними ограничивается пространство для движения цепей полимера, то есть происходит снижение энтропийной составляющей свободной энергии, и капли притягиваются. С другой стороны, при увеличении концентрации цепей полимера в прослойке дисперсионной среды между каплями возрастает осмотическое давление, что приводит к отталкиванию капель дисперсной фазы друг от друга [14].

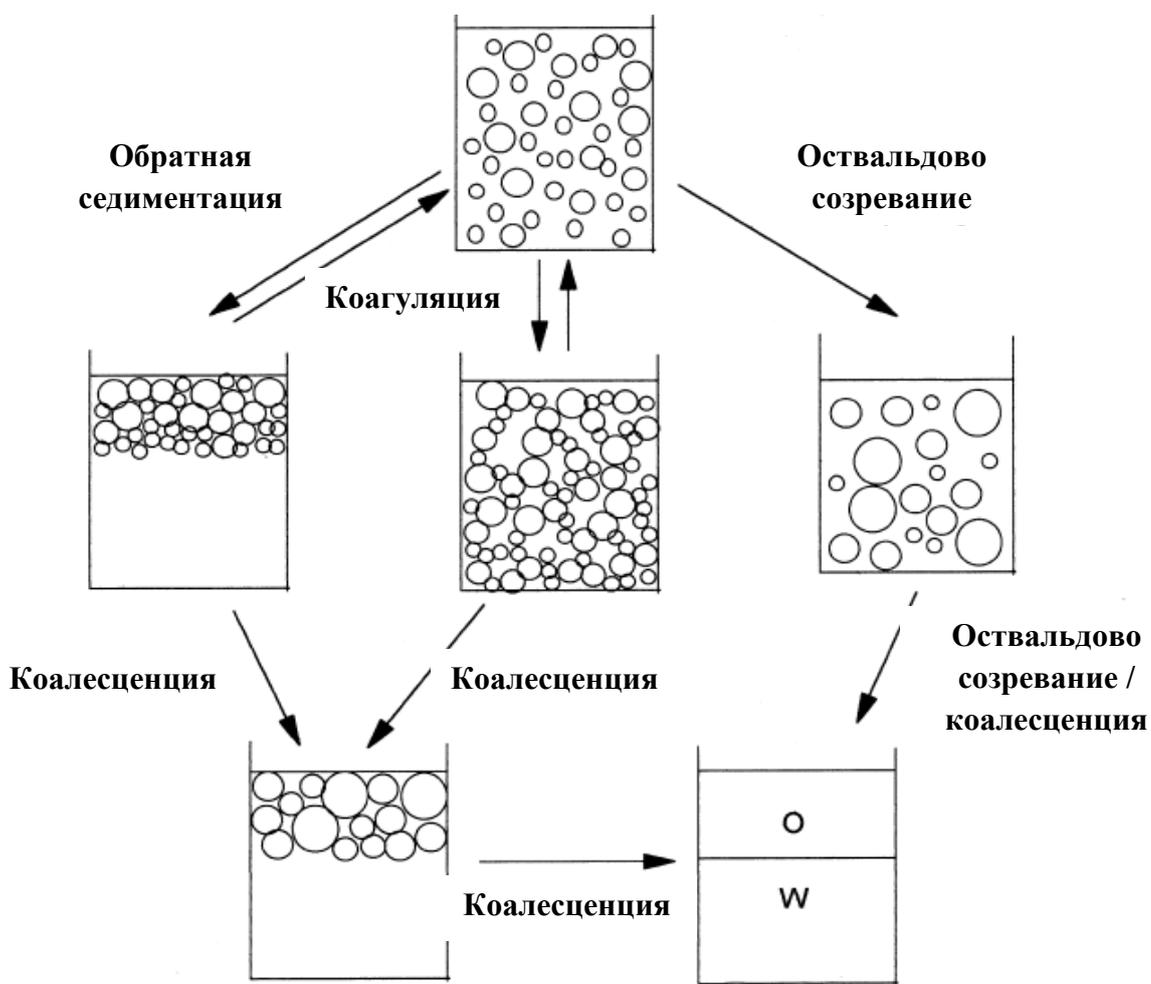


Рис. 1.4. Схема процессов, протекающих в эмульсиях со временем [45]

При *коалесценции* поверхностная энергия снижается за счет уменьшения площади поверхности капель дисперсной фазы, при этом межфазное натяжение на границе раздела фаз в эмульсии остается почти неизменным при условии, что в эмульсии содержится достаточное количество ПАВ.

В работе [45] показано, что если распределение капель по размерам в эмульсии в начальный момент времени может быть описано гауссовским распределением, и такой тип распределения по размерам сохраняется в последующие моменты времени, то зависимость обратной величины площади поверхности от времени будет иметь линейный характер.

К укрупнению капель дисперсной фазы также может приводить *оствальдово созревание*, при котором мелкие капли растворяются в дисперсионной среде, крупные капли увеличиваются в размерах [46]. Это

связано с разницей химических потенциалов капель дисперсной фазы [25]. Разность химических потенциалов возникает из-за различия в радиусах кривизны капель. Теория Лившица–Слезова–Вагнера предполагает, что капли дисперсной фазы сферические и скорость процесса зависит от скорости молекулярной диффузии вещества дисперсной фазы в дисперсионной среде. Теоретическая и экспериментальная скорости оствальдова созревания могут отличаться. Это связано с тем, что первоначально теория Лившица-Слезова-Вагнера создавалась для описания оствальдова созревание в твердых растворах. Для вывода уравнения авторы [47] принимали некоторые допущения. Считалось, что частицы являются однокомпонентными и что в дисперсионной среде протекает только молекулярная диффузия. Диффузия компонента в непрерывной фазе считается преобладающей стадией, т.к. этот процесс является диффузионно-контролируемым. Для проникновения компонента через межфазную поверхность отсутствуют кинетические преграды. Это применимо к эмульсиям, стабилизированным низко- и среднемолекулярным ПАВ, и не всегда может быть допустимо, если на границе масло-вода имеются полимерные пленки [45].

В теории Лившица-Слезова-Вагнера предполагается, что частицы дисперсной фазы сферические и не участвуют в броуновском движении, т.е. частицы имеют определенное положение в пространстве. Подразумевается, что дисперсные системы являются разбавленными, поэтому взаимодействие между частицами отсутствует, т.к. расстояние между ними намного больше диаметров этих частиц. Другие капли не оказывают влияние на диффузию растворенного вещества, и отсутствует зависимость скорости диффузии от локального окружения капель. В дисперсионной среде не наблюдается градиента концентраций, который возникает из-за диффузионного процесса, т.е. концентрация дисперсной фазы является постоянной, кроме поверхностных приграничных слоев вокруг частиц.

Согласно работе [30], разница в значениях теоретических и экспериментальных скоростей оствальдова созревания может быть связана с тем, что в теории Лившица–Слезова–Вагнера не учитываются такие факторы, как перенос масла с помощью мицелл.

При экспериментальном исследовании скорость оствальдова созревания часто возрастает с увеличением концентрации ПАВ. Так, в работе [21] показано, что при увеличении концентрации $C_{12}EO_4$ от 4 до 8 мас.% скорость оствальдова созревания возросла с $2 \cdot 10^{-27}$ м³/с до $39,7 \cdot 10^{-27}$ м³/с. Рост скорости оствальдова созревания может быть обусловлен рядом факторов. Уменьшается диаметр капель, увеличивается скорость диффузии за счет броуновского движения, что приводит к росту скорости. Количество мицелл возрастает при увеличении концентрации ПАВ. Соответственно возрастает количество масла, солюбилизированного в мицеллах, что может приводить к увеличению скорости диффузии молекул масла. Несмотря на то, что диффузия из мицелл является более медленным процессом, чем диффузия молекул масла, градиент концентрации может быть увеличен на порядок в результате солюбилизации. Следовательно, суммарное воздействие может увеличивать скорость оствальдова созревания.

Авторы статьи [28] предполагают, что избыток неионогенных ПАВ в дисперсионной среде приводит к повышению в 2-3 раза скорости оствальдова созревания.

В статье [48] авторы отмечают, что с течением времени сначала наблюдается уменьшение среднего диаметра капель дисперсной фазы, затем его рост. Увеличение капель дисперсной фазы может быть обусловлено как процессом оствальдова созревания, так и коалесценцией. Коалесценция является доминирующим механизмом при низкой концентрации ПАВ. Оствальдово созревание - при более высокой концентрации ПАВ.

Существует несколько методов, приводящих к снижению скорости оствальдова созревания [49, 50].

Одним из методов является использование в качестве материала дисперсной фазы веществ с низкой растворимостью в дисперсионной среде.

Так, в работе [28] были исследованы зависимости радиуса в кубе от времени в прямых наноэмульсиях (рис. 1.5). В качестве дисперсной фазы использовались n-алканы с разной молекулярной массой и, следовательно, с разной растворимостью в водной дисперсионной среде.

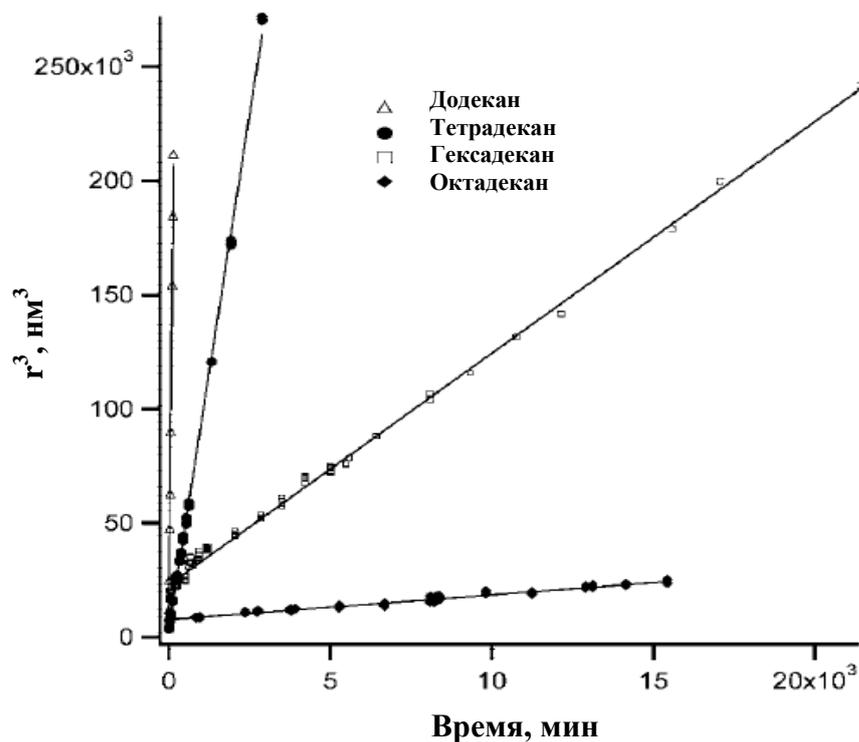


Рис. 1.5. Зависимости радиуса в кубе от времени в прямых наноэмульсиях [28]

Графики радиуса в кубе от времени представляют собой линейные зависимости, что свидетельствует о протекании оствальдова созревания в наноэмульсиях. С увеличением молекулярной массы углеводородов и снижением их растворимости в дисперсионной среде, скорость оствальдова созревания снижалась.

Более совершенным методом уменьшения скорости оствальдова созревания является добавление в дисперсную фазу второго компонента, который менее растворим в дисперсионной среде, чем основной компонент.

Компонент, имеющий более низкую растворимость в непрерывной фазе, будет концентрироваться в мелких каплях. При протекании остwaldова созревания в системе, содержащей смесь двух масел в качестве дисперсной фазы, равновесие устанавливается, когда разность химических потенциалов между каплями разного размера будет сбалансирована.

Модификация межфазного слоя на границе масло-вода является еще одним методом, который может привести к снижению скорости остwaldова созревания. ПАВ (например, полимерные) адсорбируются на границе масло-вода и создают защитную оболочку.

Скорость остwaldова созревания уменьшается с увеличением размера капель, поэтому это не единственный процесс, который может приводить к расслаиванию эмульсий на отдельные фазы [21].

На диаметр капель дисперсной фазы и на свойства наноэмульсий влияют множество факторов, такие как тип масла, тип ПАВ [51], соотношения ПАВ к маслу [24]. В статье [33] подробно описаны влияния этих параметров на размер капель. Эмульсии были получены методом инверсии фаз при изменении состава. Стабилизация эмульсий осуществлялась неионогенными ПАВ, такими как Tween 20, Tween 80 и Tween 85. В качестве дисперсной фазы использовали: среднецепочечные триглицериды, лимонен, оливковое, минеральное, кунжутное, арахисовое, апельсиновое масла и масло из семян винограда. Было установлено, что при более высоких значениях соотношений ПАВ к маслу (от 0,65 до 2,5), эмульсии были получены с относительно малыми каплями (от 0,16 до 0,10 мкм) (рис. 1.6).

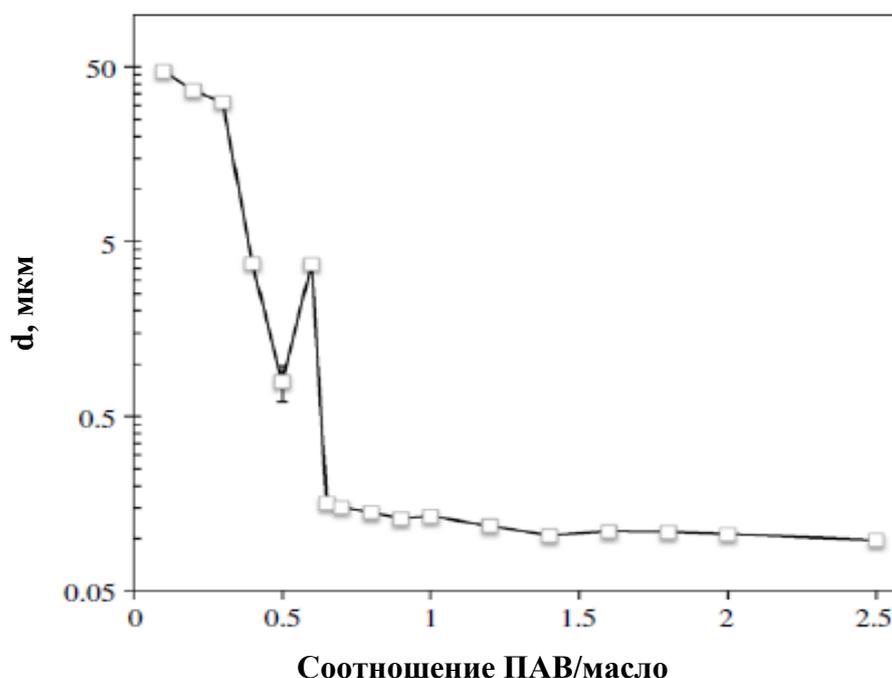


Рис. 1.6. Зависимость среднего диаметра капель от соотношения ПАВ/масло в прямой эмульсии [33]

Визуально, при увеличении соотношения ПАВ к маслу эмульсии казались менее мутными, что указывало на образование меньших капель, которые рассеивают свет менее сильно.

Размер капель сильно зависит от типа масла. Было обнаружено, что при получении эмульсий методом инверсии фаз при изменении состава наиболее мелкие капли могли быть получены с использованием среднецепочечных триглицеридов (МСТ), и с использованием ароматических масел (апельсиновое и терпеновое масла). Большие капли ($d > 0,6$ мкм) были получены при использовании минерального масла или длинноцепочечных триглицеридных масел (таких как оливковое, из семян винограда, кунжутное, арахисовое и каноловое масла).

В работе [33] было исследовано влияние неионогенных ПАВ (Tween 20, Tween 80, Tween 85 и смесь Tween 20 + Tween 80 + Tween 85) на размер капель дисперсной фазы наноэмульсий, полученных методом инверсии фаз при изменении состава (рис. 1.7).

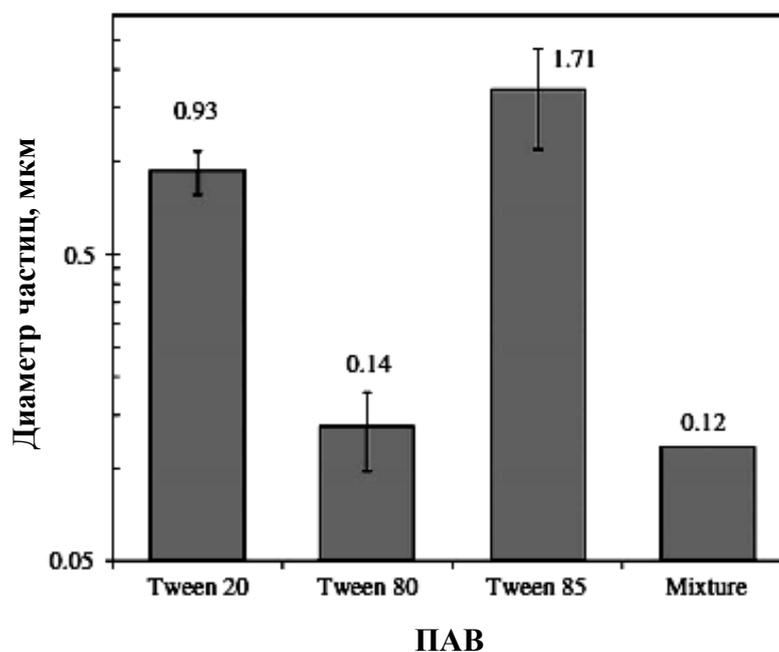


Рис. 1.7. Зависимость среднего диаметра капель от типа ПАВ в прямой эмульсии. Соотношение ПАВ/масло – 2,5, дисперсная фаза – среднецепочечные триглицериды, смесь ПАВ – Tween 20 + Tween 80 + Tween 85. Соотношение Tween 20 : Tween 80 : Tween 85 – 1:1:1 [33]

Наиболее мелкие капли были получены при стабилизации эмульсий Tween 80 и смесью ПАВ – Tween 20 + Tween 80 + Tween 85.

Свойства наноэмульсий зависят не только от состава системы, но и от таких параметров как способ эмульгирования, условия проведения процесса.

1.3. Методы получения наноэмульсий

1.3.1. Высокоэнергетические методы получения наноэмульсий

С ростом интереса к наноэмульсиям возникла необходимость разработки специальных методов получения таких дисперсных систем. На ранних стадиях изучения преимущественно использовались высокоэнергетические методы - механическое диспергирование, ультразвуковое воздействие, гомогенизация под давлением и др. Однако данными методами не во всех случаях можно получить эмульсии с размером капель дисперсной фазы менее 100 нм, а

количество расходуемой энергии делает их зачастую экономически неоправданными.

При использовании высокоэнергетических методов одним из основных факторов, влияющих на размер капель дисперсной фазы, является интенсивность диспергирования. Кроме скорости перемешивания на диаметр капель также влияет и скорость адсорбции ПАВ. Если скорость коалесценции выше скорости адсорбции, то происходит укрупнение капель, особенно после окончания процесса диспергирования и выхода наноэмульсии из зоны диспергирования [14].

1.3.1.1. Получение наноэмульсий механическим диспергированием

Для получения наноэмульсий используют аппараты с мешалкой, обеспечивающие эффективное перемешивание эмульгируемой смеси при большом числе оборотов, или коллоидные мельницы, которые состоят из статора и ротора (рис. 1.8).

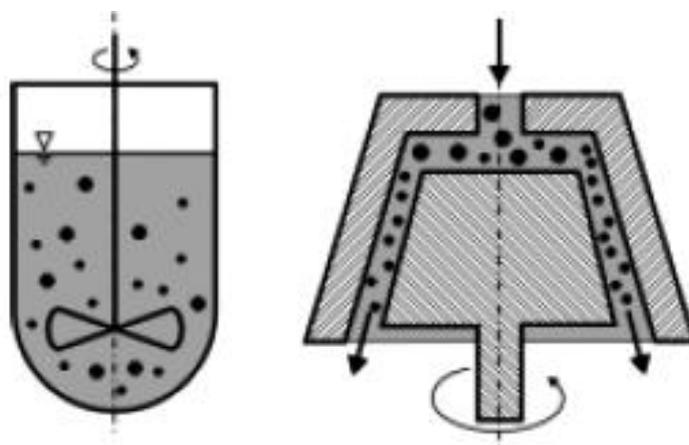


Рис. 1.8. Схематичное изображение ротор-статор системы для получения эмульсий [52]

При увеличении интенсивности перемешивания диаметр капель дисперсной фазы уменьшается, однако таким методом трудно получить капли размером менее 100 нм [14].

Системы ротор-статор могут работать в периодическом и непрерывном режиме. Высокое разрежение создается при высокой скорости вращения ротора, и составляющие эмульсии затягиваются в систему статор-ротор. Интенсивное диспергирование происходит между внутренней стенкой статора и ротором. Для получения эмульсий с малым размером капель дисперсной фазы необходимо осуществлять многократную циркуляцию, т.к. часто за один проход не достигается необходимая степень диспергирования. Если использовать вязкие среды, то эффективность диспергирования уменьшается, средний размер капель увеличивается [53].

1.3.1.2. Получение наноэмульсий диспергированием под действием ультразвука

Образование наноразмерных капель при воздействии ультразвука происходит из-за разрыва пузырьков кавитации и локального выделения значительной энергии. Схематичное изображение ультразвуковой системы для получения эмульсий представлено на рис. 1.9.

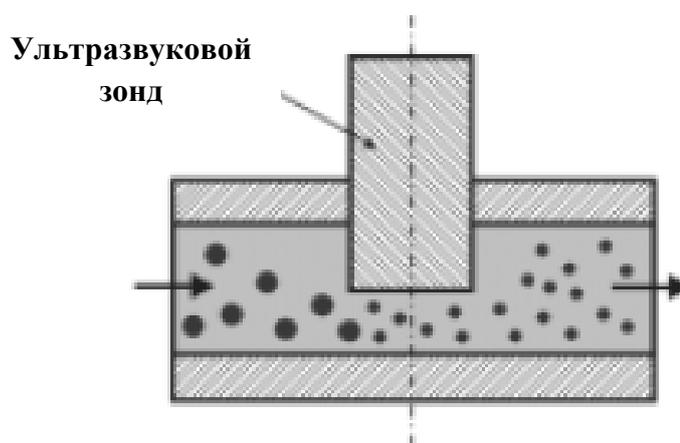


Рис. 1.9. Схематичное изображение ультразвуковой системы для получения эмульсий [53]

При увеличении мощности ультразвука до определенного предела происходит формирование более мелких капель дисперсной фазы [54]. Дальнейшее увеличение мощности незначительно изменяет диаметр капель (рис. 1.10) [55].

При получении наноэмульсий нежелательно использование ультразвука высокой мощности, т.к. возможно образование радикалов при термическом разложении воды. Под действием радикалов молекулы ПАВ могут разрушаться, что приведет к снижению устойчивости дисперсной системы.

Эффективный процесс эмульгирования происходит только в непосредственной близости от волновода-излучателя, поэтому для получения больших объемов эмульсий требуется механическое перемешивание всей системы.

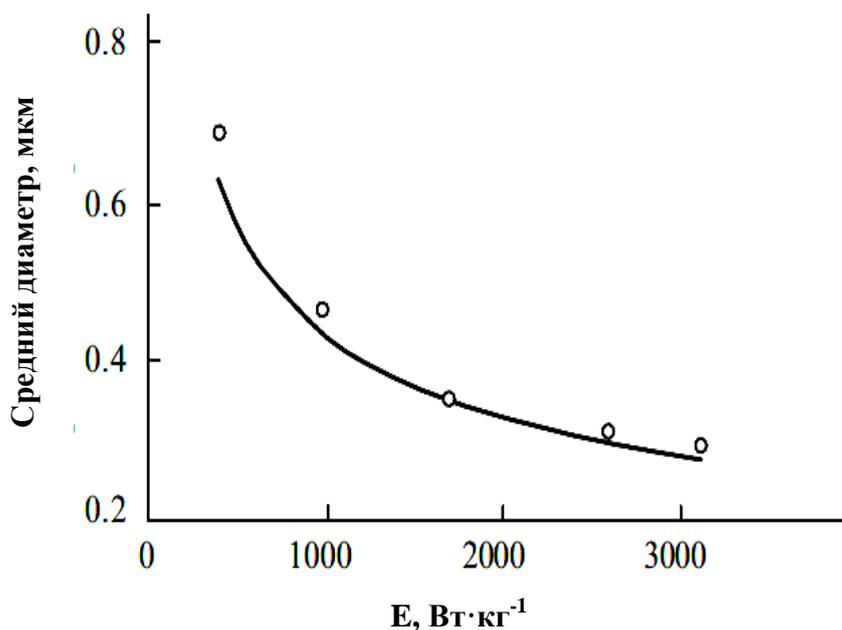


Рис. 1.10. Зависимость среднего диаметра капель дисперсной фазы от удельной энергии ультразвука [55]

Наноэмульсии с размером капель 140-150 нм были получены авторами работы [56] при УЗ-воздействии ($P = 480$ Вт, $t = 7$ мин) на макроэмульсию, полученную гомогенизацией масла в водной фазе при комнатной температуре и перемешивании в течение 2 минут со скоростью 14000 об/мин. Дисперсная фаза состояла из среднецепочечных триглицеридов ($C_8:57\%$, $C_{10}:40\%$, $C_6:2\%$ и $C_{12}:1\%$) и стабилизирующей оболочки – крахмала, модифицированного ангидридом октенилсукциновой кислоты. Так же в данной работе было исследовано влияние мощности ультразвука на размер капель дисперсной фазы. Увеличение мощности УЗ-воздействия приводило к снижению размеров капель с 240 до 180 нм (рис. 1.11).

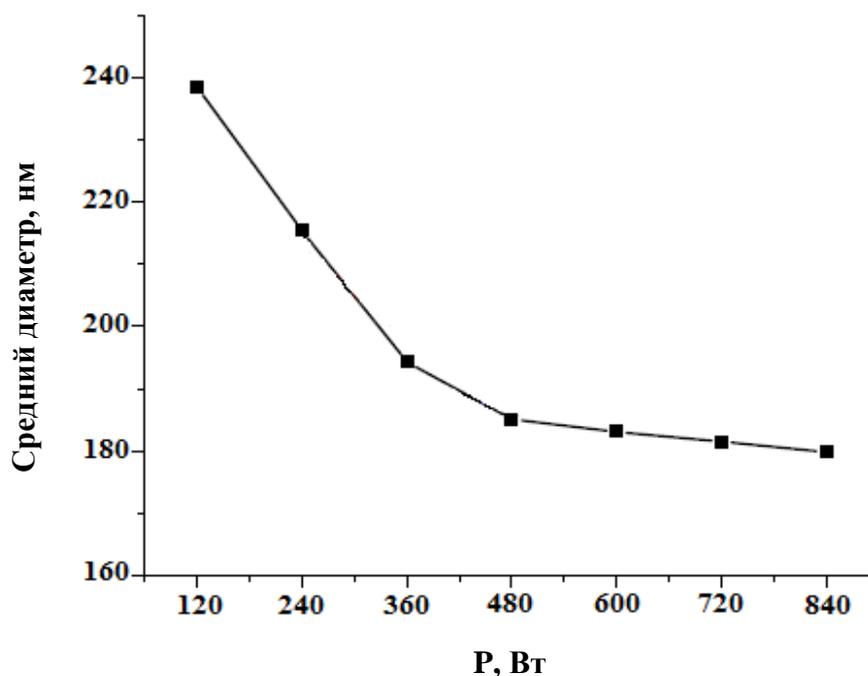


Рис. 1.11. Зависимость среднего размера капель дисперсной фазы в эмульсии от мощности УЗ-воздействия [56]

Под действием ультразвукового излучения можно получать эмульсии с размерами капель дисперсной фазы менее 200 нм. Однако в большинстве случаев при использовании данного метода происходит образование как нанометровых капель, так и капель размером более 100 нм.

1.3.1.3. Получение наноземulsionей гомогенизацией под действием высокого давления

Для систем с невысокой вязкостью применяют метод гомогенизации под действием высокого давления. Гомогенизация осуществляется в непрерывном режиме [57]. Гомогенизаторы классифицируются на струйные диспергаторы, радиальные диффузоры и сопловые аппараты [14].

Действие струйных гомогенизаторов основано на диспергировании при движении с высокой скоростью двух или более потоков (рис. 1.12). Толщину зазора позволяет изменять подвижная заслонка-клапан, таким образом, изменяется скорость потока компонентов эмульсии и варьируется давление в зоне гомогенизации.

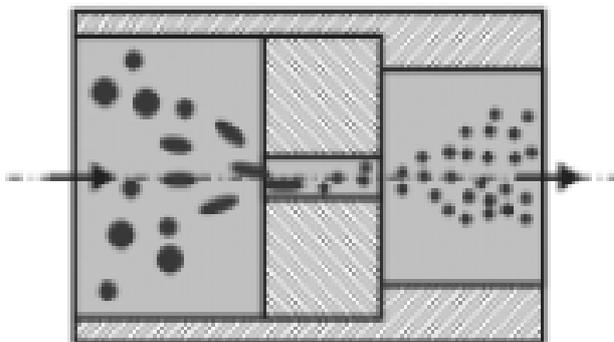


Рис. 1.12. Схематичное изображение гомогенизации под действием высокого давления для получения эмульсий [52]

Сонаправленное движение потоков обычно организуется в сопловых аппаратах. Были разработаны комбинированные системы, сочетающие детали соплового аппарата и подвижную клапан-заслонку.

В сопловых и струйных диспергаторах отсутствуют движущиеся элементы, поэтому в таких устройствах создаются более высокие давления в отличие от радиальных диффузоров.

На систему при гомогенизации под давлением одновременно оказывают влияние кавитация, турбулентность потоков и сдвигающие силы. Размер капель эмульсии зависит от режима течения жидкости. Режим течения жидкости

зависит от конструкции клапана, давления в аппарате, вязкости жидкости и других параметров.

Обычно в таких аппаратах время образования капель меньше времени достижения равновесной адсорбции ПАВ. Поэтому для получения наноэмульсий необходимо использовать ПАВ с высокой скоростью адсорбции на межфазной поверхности [58].

С помощью гомогенизаторов высокого давления можно получать наноэмульсии с диаметром капель дисперсной фазы менее 100 нм. В работе [59] были получены наноэмульсии методом гомогенизации под действием высокого давления и методом замещения растворителя (рис. 1.13).

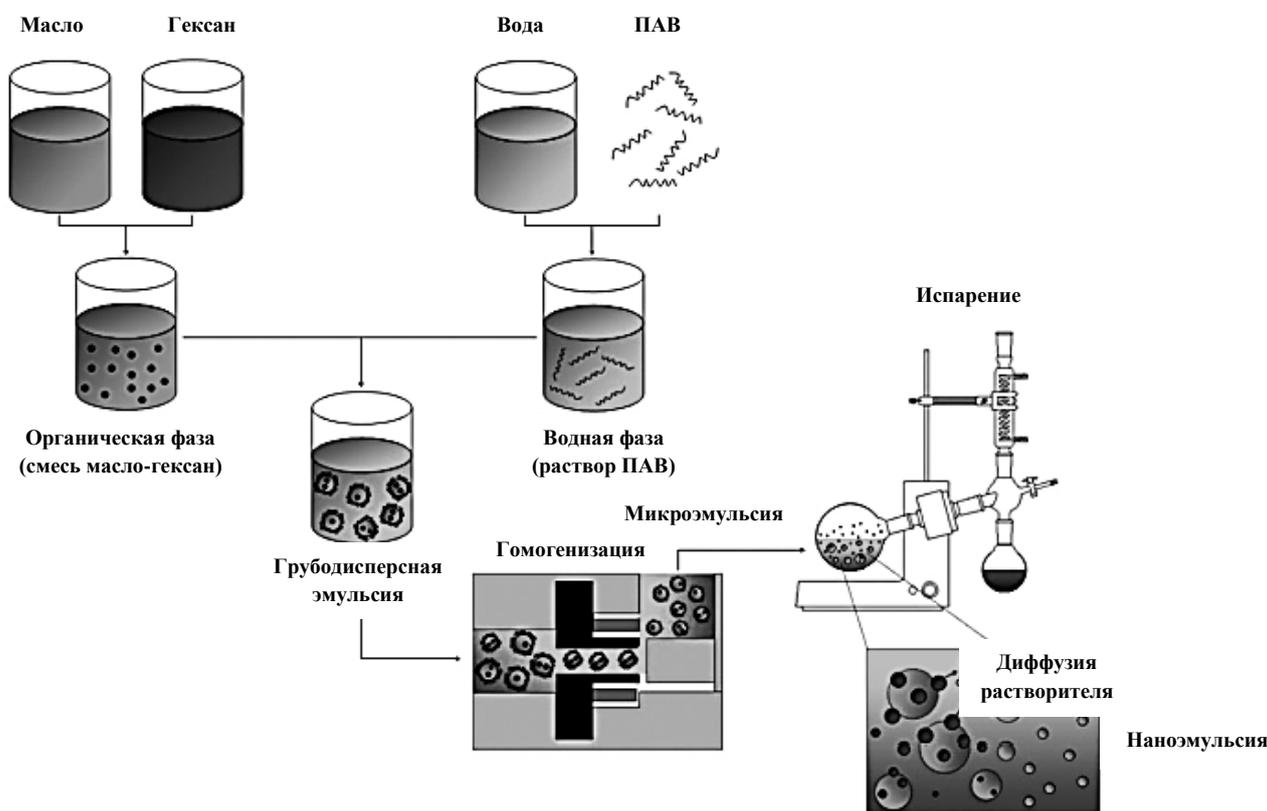


Рис. 1.13. Схема получения наноэмульсии при помощи гомогенизации под действием высокого давления и метода замещения растворителя [59]

Первоначально получали эмульсию высокоскоростным перемешиванием 10% органической фазы и 90% водной фазы. В качестве органической фазы

использовали смесь кукурузного масла и гексана. Водная фаза состояла из 1 мас.% раствора Tween 20. Полученную эмульсию сразу пропускали через гомогенизатор высокого давления со скоростью 15000 об/мин и получали наноэмульсию. Конечный размер капель дисперсной фазы составил 30-85 нм (рис. 1.14).

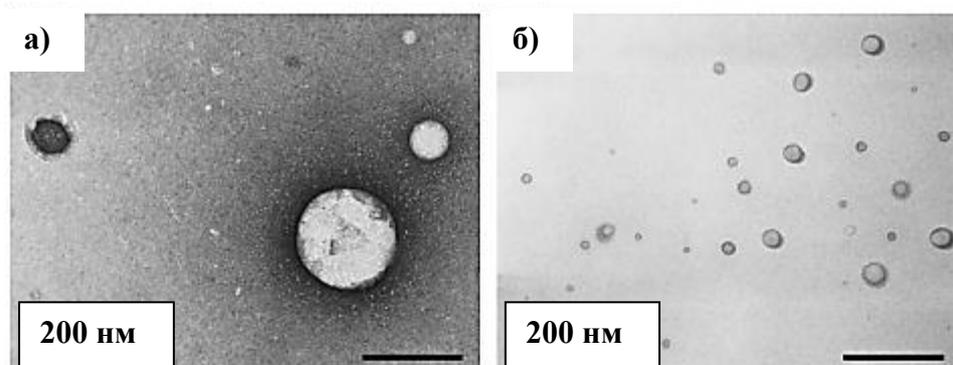


Рис. 1.14. Микрофотографии наноэмульсий, стабилизированных Tween 20, с гексаном (а), после испарения гексана (б) [59]

В работе [60] были получены наноэмульсии, стабилизированные Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 и Tween 85 с диаметром капель дисперсной фазы до 112 нм при диспергирование со скоростью 24000 об/мин в течение 5 мин, а затем в гомогенизаторе высокого давления.

Метод гомогенизации под действием высокого давления не целесообразно использовать для получения эмульсий с высокой вязкостью компонентов и высокими долями дисперсной фазы. В таких системах диаметр капель резко возрастает [61, 62].

С помощью микрофлюидных методов можно получать монодисперсные капли дисперсной фазы с заданным размером. Однако микрофлюидизаторы имеют ряд недостатков. Такие приборы менее удобны в практическом использовании из-за возможности закупорки каналов газовыми пузырьками и твердыми частицами [63]. При получении эмульсий, предназначенных для

медицины, возникают трудности со стерилизацией микрофлюидного оборудования.

В работе [64] изучали прямые эмульсии, включающие 5 мас.% кукурузного масла, стабилизированного 2 мас.% β -лактоглобулина и 93 мас.% воды. Для получения эмульсий использовали гомогенизаторы высокого давления (Microfluidics, Newton, MA, USA). Зависимости среднего диаметра капель от давления и числа проходов через гомогенизатор представлены на рис. 1.15.

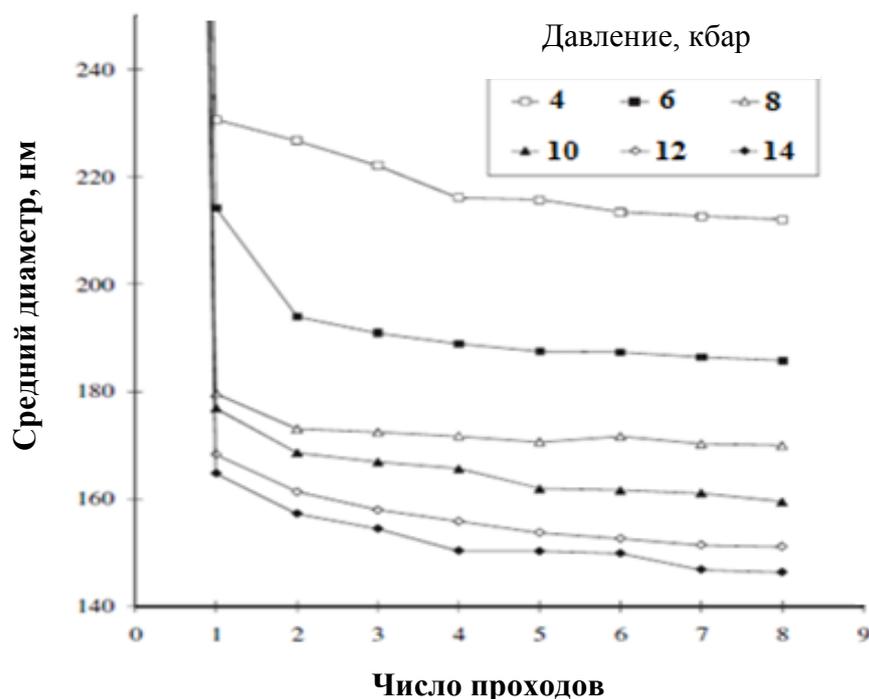


Рис. 1.15. Зависимость среднего размера капель дисперсной фазы от давления и количества проходов эмульсии через гомогенизатор [64]

С применением микрофлюидных устройств «Microfluidics» и «Model M-110» в работах [65, 66] были получены прямые эмульсии. Дисперсная фаза состояла из d-лимонена, в качестве водной фазы использовался раствор мальтодекстрина и сывороточного белка. Было показано, что при повышении давления в аппарате средний диаметр капель изменялся в невысокой степени, а

за три прохода через микрофлюидное устройство при 35 МПа средний диаметр снижался от 385 до 125 нм.

1.3.2. Низкоэнергетические методы получения наноэмульсий

Низкоэнергетические методы получения наноэмульсий, основанные на инверсии фаз при изменении состава или температуры системы, вызывают наибольший интерес по сравнению с высокоэнергетическими методами. Низкоэнергетические методы эффективны для использования в крупномасштабном производстве, т. к. не требуется большого расхода энергии.

1.3.2.1. Метод температурной инверсии фаз

Принцип метода температурной инверсии фаз основан на свойстве ПАВ (в особенности для этоксилированных ПАВ) изменять в зависимости от температуры сродство к маслу и к воде. При повышенной температуре этиленоксидные группы ПАВ дегидратированы. Вследствие этого образуется обратная эмульсия. При понижении температуры происходит гидратация полярных групп. Площадь, которую занимают полярные группы, становится больше, чем площадь, которую занимают углеводородные цепи, поэтому происходит инверсия фаз и происходит образование прямой эмульсии. Если сначала при повышенной температуре получить эмульсию «вода-в-масле», которая стабилизирована этоксилированным ПАВ, затем ее резко охладить, то при определенной температуре происходит инверсия фаз и формирование наноэмульсии «масло-в-воде» (рис. 1.16).

Формированию малых капель способствуют сверхнизкие межфазные натяжения при температурах, близких к температуре инверсии фаз [67, 68].

Метод температурной инверсии фаз менее эффективен при получении эмульсий, стабилизированных ионогенными ПАВ, т. к. их ГЛБ менее чувствителен к изменениям температуры [69].

В статье [70] были получены эмульсии, содержащие смеси неионогенных ПАВ: Tween 20-Span 20, Tween 20-Span 80, и Tween 20-Span 85. Для каждой смеси ПАВ максимальная стабильность совпадала с самым высоким значением температуры инверсии фаз. Самые высокие значения температуры инверсии фаз характерны для таких эмульсий, в которых образуется ассоциативный комплекс адсорбированных молекул Tween-Span на границе раздела масло-вода.

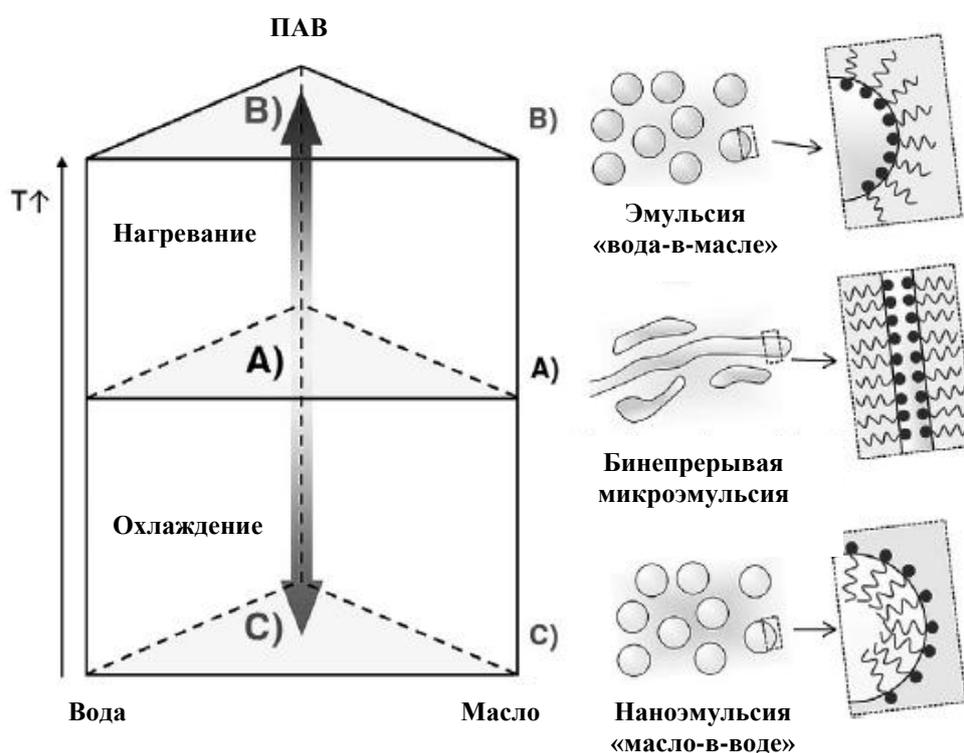


Рис. 1.16. Схема образования прямой наноэмульсии методом температурной инверсии фаз. В – вода, М – масло [22]

В статье [38] исследовалось получение наноэмульсий в системе 10^{-2} М раствор NaCl / $C_{12}EO_4$ / гексадекан методом температурной инверсии фаз. Эмульсии с соотношением гексадекан / 10^{-2} М раствор NaCl – 20/80 были приготовлены смешением гексадекана, неионогенного ПАВ и водного раствора NaCl при комнатной температуре ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Компоненты эмульсий термостатировались при высокой температуре, затем систему резко охлаждали.

Для определения температуры инверсии фаз была исследована электропроводность системы от температуры. При высокой температуре (60 – 70 °С) электропроводность была практически равна нулю, т. к. эмульсия обратная, при понижении температуры электропроводность резко возрастала, происходила трансформация обратной эмульсии в прямую.

В работе [30] исследовалось получение наноэмульсий в системе парафиновое масло / Span 80 / Tween 80 / 0,01 М раствор NaCl методом инверсии фаз при изменении температуры. Смесь компонентов перемешивали при температуре близкой к температуре инверсии фаз, до появления голубоватой опалесценции, затем систему резко охлаждали до 5 °С. Температуру инверсии фаз определяли по зависимости электропроводности системы от температуры (рис. 1.17).

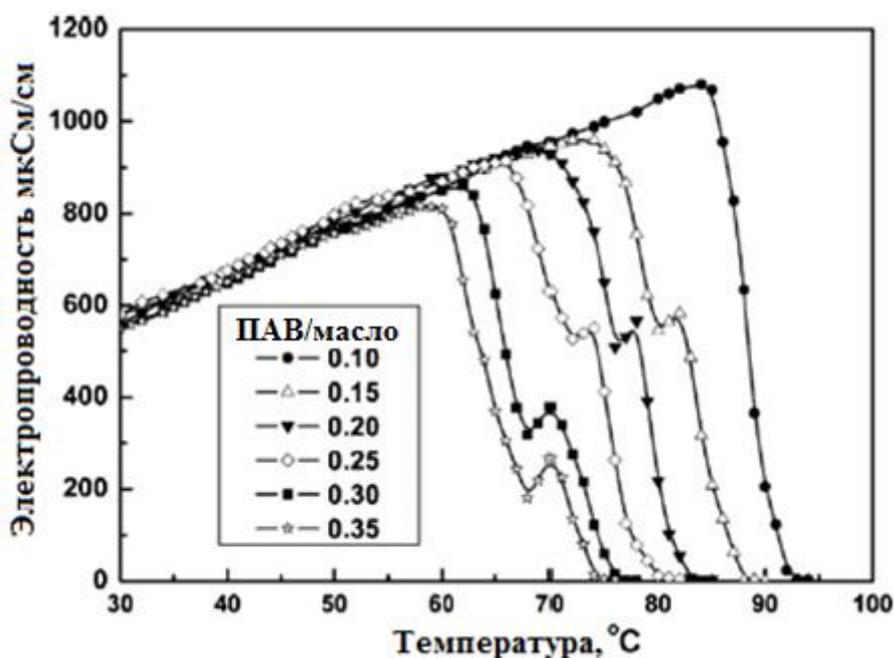


Рис. 1.17. Зависимость электропроводности от температуры в системе 0,01 М раствор NaCl / Tween 80 / Span 80 / парафиновое масло при различном содержании ПАВ и постоянной концентрации парафинового масла (40 мас.%) [30]

При массовом соотношении ПАВ / масло равном 0,1 наблюдалось постепенное увеличение электропроводности с возрастанием температуры до определенного предела, после чего начинался резкий спад. С увеличением массового соотношения ПАВ / масло от 0,15 до 0,35 на кривых появлялся второй максимум, обусловленный образованием жидкокристаллической фазы при переходе эмульсии от М/В к В/М [71].

В статье [30] описано получение прямых наноэмульсий в системе углеводородное масло / Tween 80 / Span 80 / вода. Массовое соотношение Tween 80 / Span 80 было равно 0,56/0,44. Авторы показали, что при увеличении концентрации электролита в водной фазе температура инверсии фаз снижалась от 85 до 40-50 °С. По эффективности снижения температуры инверсии фаз, исследованные электролиты были расположены в следующий ряд: $AlCl_3 \approx NaCl > KCl > CaCl_2$.

Размеры капель в наноэмульсии зависят от температуры, до которой проводилось охлаждение.

В работе [27] авторами показано, что наноэмульсии имеют более мелкие капли и меньшую полидисперсность, если систему быстро охладить до температуры на 25-30 °С ниже температуры инверсии фаз.

1.3.2.2. Метод инверсии фаз при изменении состава

Метод инверсии фаз при изменении состава основан на добавлении при постоянной температуре в эмульсионную систему вещества, которое изменяет ее ГЛБ. В этом случае происходит спонтанное изменение радиуса кривизны монослоя ПАВ, которое приводит к катастрофическому обращению фаз (рис. 1.18).

Например, для получения наноэмульсий «масло-в-воде» в смесь, состоящую из ПАВ и масла, добавляется водная фаза. При добавлении водной фазы происходит диффузия ПАВ из органической в водную фазу [72], что приводит к формированию наноразмерных капель.

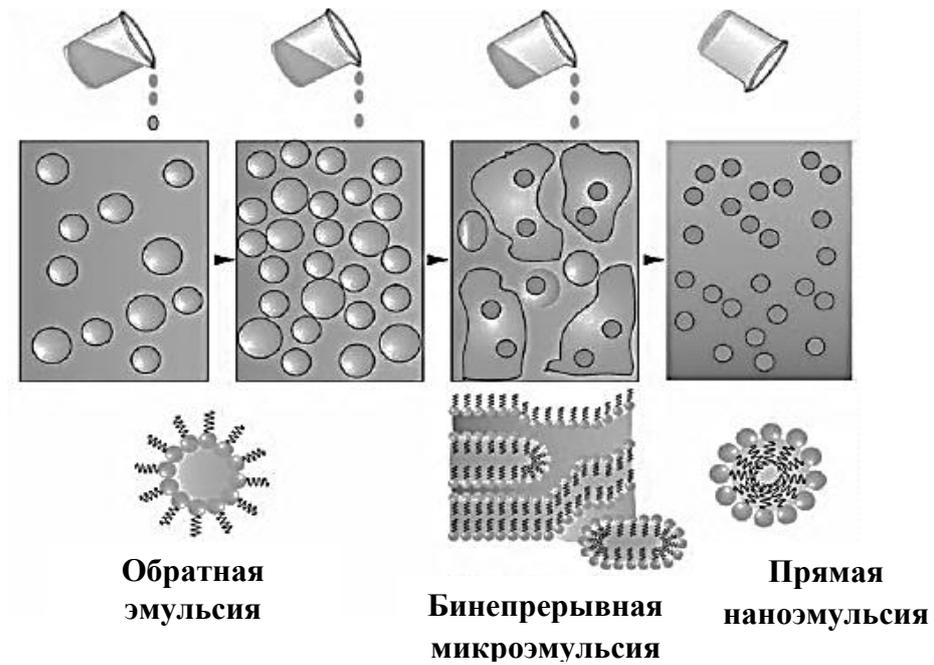


Рис. 1.18. Схема получения прямой наноэмульсии методом инверсии фаз при изменении состава [7]

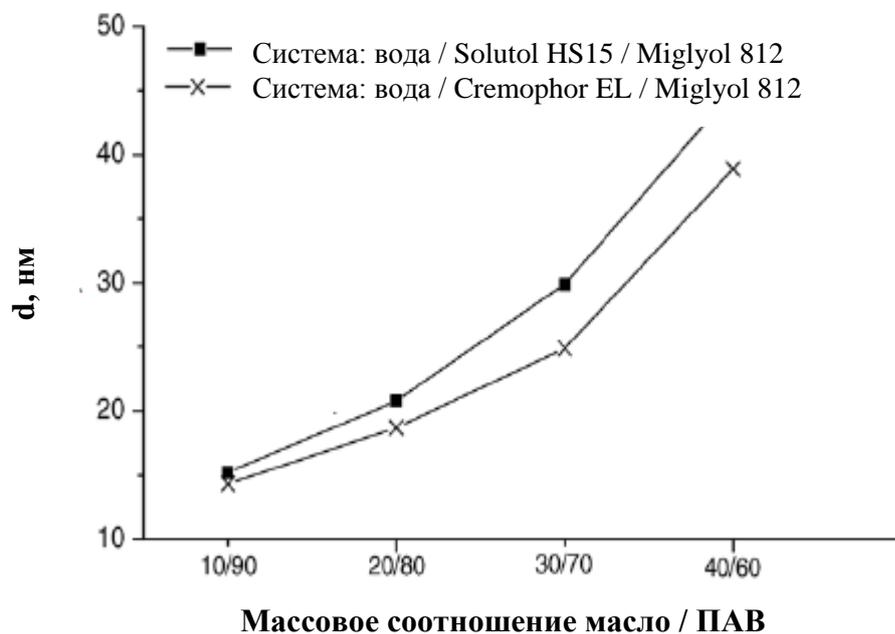


Рис. 1.19. Зависимость размера капель дисперсной фазы от массового соотношения масло / ПАВ, концентрация водной фазы 90 мас.% [73]

В статье [73] исследовалось получение наноэмульсий М/В методом инверсии фаз при изменении состава при повышенной температуре. Наноэмульсии получали постепенным добавлением водной фазы в смеси Solutol HS 15 / Miglyol 812 и Cremophor EL / Miglyol 812 при температуре 70 °С и перемешивании. Затем эмульсия охлаждалась (естественным путем) до комнатной температуры. Массовое соотношение масло / ПАВ варьировалось от 10/90 до 40/60, диаметр капель дисперсной фазы в образующихся наноэмульсиях не превышал 45 нм (рис. 1.19).

На рис. 1.20 представлены зависимости размеров капель от времени хранения для систем вода / Cremophor EL / Miglyol 812, при концентрациях водной фазы 90 и 95 мас.% и массовом соотношении масло / ПАВ 10/90 – 40/60. Размер капель либо не изменялся, либо незначительно возрастал в течение 300 сут, но не превышал 70 нм.

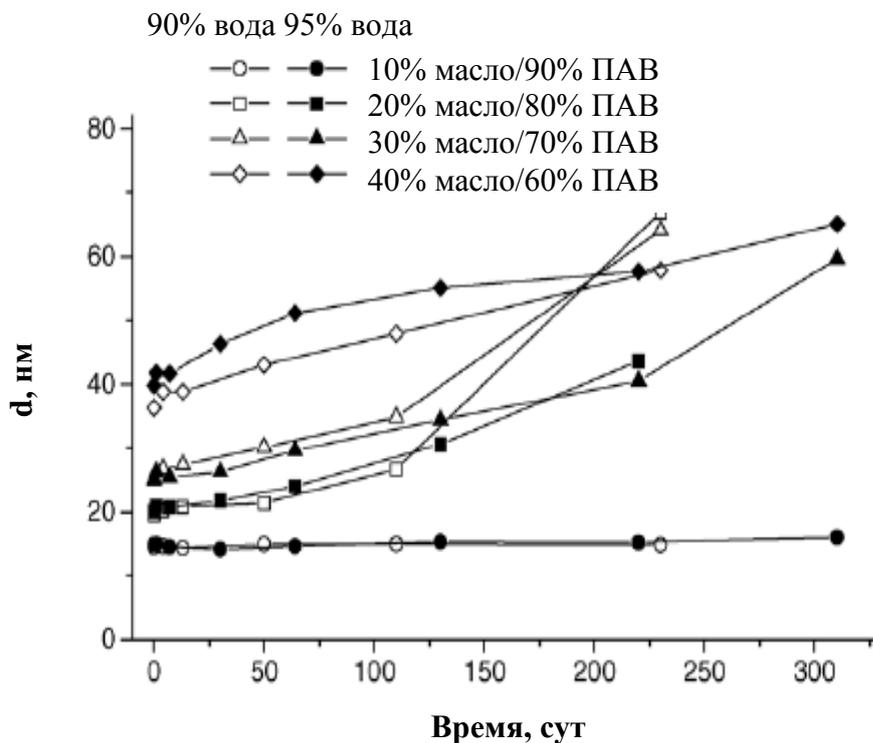


Рис. 1.20. Зависимость размера капель внутренней фазы от времени для системы вода / Cremophor EL / Miglyol 812 [73]

В отличие от метода температурной инверсии фаз, методом инверсии фаз при изменении состава можно получать наноэмульсии с более широким кругом ПАВ, в том числе можно использовать такие ПАВ, ГЛБ которых в меньшей степени зависит от температуры. При использовании данного метода не требуется нагревание системы, поэтому он может быть использован для инкапсулирования в каплях дисперсной фазы соединений, которые подвержены термическому разложению. В отличие от метода температурной инверсии фаз, в котором можно многократно проводить инверсию фаз, понижая и повышая температуру, в данном методе возможна только однократная инверсия, например, при увеличении доли водной фазы эмульсии, увеличении концентрации электролита или других соединений.

1.3.2.3. Спонтанное наноэмульгирование

Спонтанное эмульгирование протекает при контакте двух неравновесных жидких фаз [74]. Возможны три основных механизма протекания данного процесса:

- образование эмульсии происходит при конденсации новой фазы в локальных зонах пересыщения;
- диспергирование при возникновении градиента межфазного натяжения при диффузии компонентов через границу раздела фаз;
- диспергирование из-за кратковременного уменьшения межфазного натяжения практически до нулевых величин, сопровождаемое спонтанным ростом межфазной поверхности.

Первый механизм обусловлен формированием из гомогенной системы гетерогенной. Последние два механизма связаны с механическим разрывом межфазной поверхности. В процессе спонтанного эмульгирования возможно протекание процесса по разным механизмам, когда каждый механизм вносит определенный вклад в процесс эмульгирования.

При спонтанном эмульгировании распределение капель по размерам и их размер зависят от межфазного натяжения, межфазной вязкости, вязкости диспергируемой фазы, от концентрации и структуры ПАВ и др.

В работе [75] отмечено, что для получения капель дисперсной фазы достаточно маленького размера необходимо высокое содержание диффундирующего вещества в масляной фазе. Рост доли диффундирующего вещества приводит к увеличению диффузии и генерированию турбулентности.

В статье [76] наноэмульсии получали спонтанным эмульгированием без использования растворителя, в роли диффундирующего вещества выступало неионогенное ПАВ – Solutol HS 15. Эмульсии были получены путем медленного добавления смеси Solutol HS 15 / Labrafil M1944 CS в водную фазу при перемешивании (300 об/мин). Концентрации Solutol HS 15 и Labrafil M1944 CS в конечной наноэмульсии составляли 6 и 24 мас.%, соответственно. Концентрация водной фазы была равной 70 мас.%. После добавления смеси Solutol HS 15 / Labrafil M1944 CS каждый образец перемешивался в течении 15 мин. Водная фаза имела температуру 25 °С, органическая – 90 °С. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы и индекса полидисперсности от массового соотношения ПАВ / масло представлена на рис. 1.21.

Процесс спонтанного эмульгирования является простым методом при практическом применении. Эмульгирование происходит по всему объему смеси, благодаря этому процесс легко масштабировать. Но данным методом затруднительно получать эмульсии с высокой долей дисперсной фазы [14].

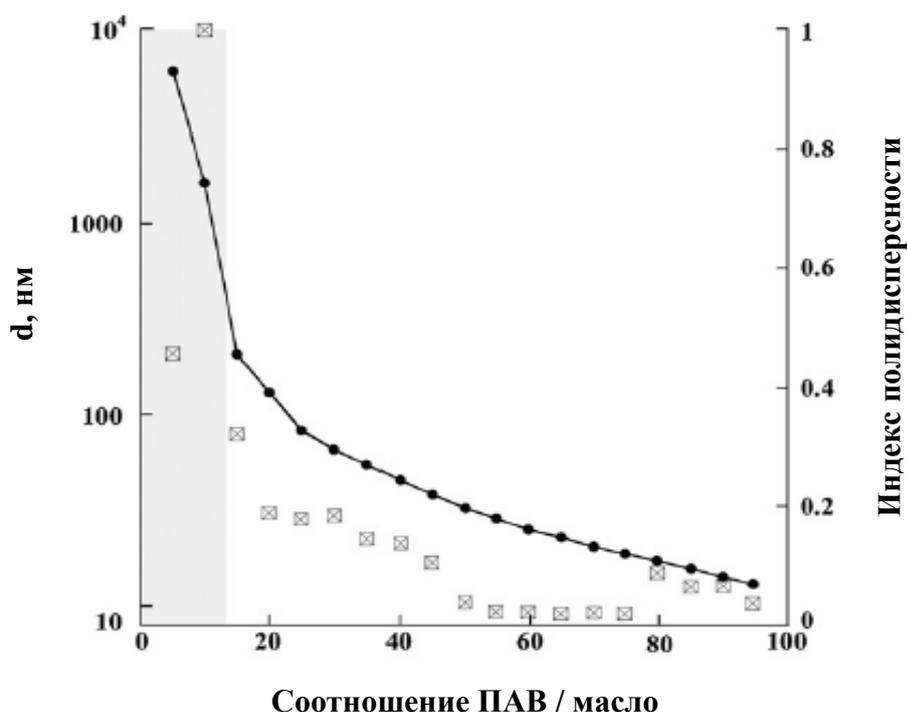


Рис. 1.21. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы (точки) и индекса полидисперсности от массового соотношения ПАВ / масло [76]

Низкоэнергетические методы являются более перспективными, т.к. они не требуют больших затрат энергии и времени на проведение эмульгирования, поскольку процесс протекает во всем объеме практически одновременно. При инкапсуляции лекарственных веществ не происходит разрушения активного компонента, а размер капель дисперсной фазы образующихся эмульсий значительно меньше, чем при использовании высокоэнергетических методов.

1.4. Применение наноэмульсий

1.4.1. Применение наноэмульсий в фармацевтической отрасли

Многие статьи и работы по наноэмульсиям отмечают их большой потенциал применений. Большая часть публикаций посвящена применению наноэмульсий в фармацевтической промышленности [77-80].

В обзоре [40] приводится анализ использования наноэмульсий для инкапсулирования и доставки биоактивных липофильных компонентов, таких

как пищевые добавки и лекарственные вещества. Предлагается использовать наноэмульсии для лечения рака [81-83], для создания вакцин против гриппа [84, 85], для лечения ВИЧ-инфекции [86], для лечения малярии [87], ишемической болезни сердца [88], в офтальмологии [89, 90], для лечения артрита и остеоартрита [91-93], для векторной транспортировки генного материала [94] и др.

В работе [95] описано пролонгированное действие лекарственного вещества в организме, следовательно, уменьшается количество вещества, необходимого для терапевтического лечения.

В работе [73] были получены прямые наноэмульсии содержащие водонерастворимый анестетик амидного типа лидокаин. Терапевтическая концентрация лидокаина достигалась в эмульсиях содержащих 90 мас.% воды, от 1 до 4 мас.% Miglyol 812 и 6-9 мас.% Cremophor EL. Эмульсии обладали высокой устойчивостью в течение длительного периода времени, поэтому их рассматривали как перспективные системы доставки лекарственных веществ, для наружного и перорального применения.

Наноэмульсии, полученные с использованием базиликового масла (*Ocimum basilicum*), неионогенного ПАВ (Tween 80) и воды, обладают бактерицидным действием в отношении кишечной палочки. Авторы статьи [96] показывают, что такие наноэмульсии могут быть использованы в дальнейшем для сохранения пищевых продуктов от микробиологической порчи.

Получение наноэмульсий, стабилизированных разветвленными гликозидами и содержащих инкапсулированный кетопрофен, описано в статье [97]. Было показано, что выход кетопрофена продолжался в течение 24 ч.

Наноэмульсии с эфирными маслами для снижения уровня глюкозы описаны в статье [98].

Анестезирующие ингаляционные препараты на основе наноэмульсий предлагают изготавливать авторы работы [4]. Для интраназального применения разрабатываются наноэмульсии с антигистаминными препаратами [99].

Рядом авторов предлагается возможность доставки лекарственных препаратов через гематоэнцефалический барьер с помощью наноэмульсий, например, рисперидона [5], лоперамида [1].

В терапии рака предлагается использовать наноэмульсии, содержащие белки, функционализированные фолиевой кислотой [100], дакарбазин [101].

При трансдермальной доставке наноэмульсии могут быть использованы в виде мазей и кремов или в составе пластырей [102]. Для улучшения проницаемости при трансдермальной доставке предлагается вводить в состав наноэмульсий капсаицин [103] или глицерил моноолеат [104]. В статье [105] показано, что биоактивность куркумина в наноэмульсии повышается в 9 раз по сравнению с неинкасулированным состоянием. рН-чувствительные наноэмульсии для контролируемого выхода лекарственных препаратов при уменьшении рН от 7,4 до 5,0 описаны в статье [106]. Разработаны наноэмульсии для оценки величины рН внутри клеток живых организмов [107].

Ряд авторов предлагает использовать самоэмульгирующиеся системы, таким образом, проблема стабильности решается путем использования наноэмульсий вскоре после их получения [40].

В обзоре [40] упоминаются различные области применения наноэмульсий в медицине: лекарства, солюбилизированные в наноэмульсиях для ВИЧ/СПИД терапии; исследование раковых заболеваний при помощи солюбилизированного вещества в наноэмульсии; кишечная абсорбция лекарств, солюбилизированных в наноэмульсиях; эффективность гистосоматического компонента в наноэмульсиях.

Таким образом, данные дисперсные системы являются перспективными для инкапсулирования лекарственных и биологически-активных веществ. Однако медицина не является единственной областью применения наноэмульсий.

1.4.2. Применение наноэмульсий в других отраслях

Наноэмульсии предлагается использовать в пищевой промышленности для инкапсулирования антибактериальных веществ, отдушки, красителей, консервантов [108-113].

Авторы статьи [59] показали возможность разработки и получения систем доставки пищевых компонентов, солюбилизированных в каплях дисперсной фазы наноэмульсий. В работе были получены наноэмульсии, содержащие 10% органической фазы и 90% водной фазы. В качестве органической фазы использовали смесь кукурузного масла и гексана. Водная фаза состояла из 1 мас.% раствора Tween 20.

Наноэмульсии, содержащие рыбий жир, предлагается получать в работе [114]. В работе [115] рассмотрены возможности создания на основе наноэмульсий различных напитков.

Также на основе наноэмульсии возможно создание нетоксичных дезинфицирующих средств [95]. Например, разработаны составы, обладающие бактерицидным действием по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям [116].

Наноэмульсии могут быть использованы в качестве антимикробного покрытия на пищевых продуктах [117, 118], в том числе на яблоках [119].

Предлагается использовать наноэмульсии в различных косметических продуктах - кремах, косметическом молочке, лосьонах, гелях, средствах по уходу за волосами и др. [35, 120, 121].

В статье [122] описано получение наноэмульсий, содержащих масло укропа.

Для применения в агрохимической промышленности предлагается солюбилизировать в каплях дисперсной фазы наноэмульсий нерастворимые в воде пестициды [123]. Наноэмульсии были получены разбавлением концентрата, содержащего масло, ПАВ, активное вещество и 50% воды.

Полученные наноэмульсии показали хорошую устойчивость, однако диаметр увеличился в 5 раз в течение 14 ч с 40 до 200 нм.

Авторы статьи [124] предлагают использовать наноэмульсии на основе биодизельного топлива в качестве смазочных материалов.

Таким образом, прямые наноэмульсии являются перспективными для применения в различных областях медицины и промышленности. Наиболее часто для стабилизации наноэмульсий используют неионогенные ПАВ - Brij 30 или смесь Tween 80 и Span 80. Основной причиной, сдерживающей их широкое применение по мнению многих авторов является их низкая устойчивость к остальдову созреванию. Однако в литературе не приводится детального исследования механизма расслаивания таких наноэмульсий. Поэтому было бы целесообразно изучить процессы, протекающие в таких дисперсных системах, оценить вклад процессов коагуляции, коалесценции и остальдова созревания в увеличении дисперсности и расслаивании наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 и Span 80. На основании анализа полученных результатов можно разработать способы повышения стабильности данных дисперсных систем с целью создания наноэмульсий, устойчивых в течение длительного времени.

Для получения наноэмульсий используют высокоэнергетические и низкоэнергетические методы. Низкоэнергетические методы менее затратны с экономической точки зрения, при их использовании не требуется дорогостоящее оборудование. Кроме того, при использовании низкоэнергетических методов часто получают наноэмульсии с более мелкими каплями дисперсной фазы. Поэтому в данной работе для получения наноэмульсий были использованы методы инверсии фаз при изменении температуры или состава системы.

Одной из интенсивно развивающихся областей применения наноэмульсий является разработка средств направленной доставки лекарственных препаратов

в организм человека. Поэтому актуальным является создание на основе разработанных наноэмульсий высокоустойчивых нанокапсул, содержащих лекарственные вещества широкого спектра действия, для трансдермальной доставки в организм человека.

ГЛАВА 2. МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И АНАЛИЗОВ

2.1. Реактивы и материалы

Для получения прямых наноэмульсий были использованы следующие реактивы: углеводородное масло (Bristol 20), полиэтиленгликоль додециловый эфир (Brij 30), полиэтиленгликоль (15)-гидроксистеарат (Solutol HS 15), полиэтиленгликоль сорбитан моноолеат (Tween 80), полиэтиленгликоль сорбитан моностеарат (Tween 60), сорбитан моноолеат (Span 80), сорбитан моностеарат (Span 60), водный раствор NaCl (0,17 М, Химмед), бидисциллированная вода. В качестве инкапсулируемых лекарственных веществ использовались: (+) α -токоферол, гидрокортизон, куркумин и нимесулид. В работе реактивы дополнительной очистке не подвергались.

В таблице 2.1 представлена характеристика использованных реактивов.

Таблица 2.1

Реактивы, используемые в работе

№	Наименование	Изготовитель	Примечание
1	Углеводородное масло (Bristol 20)	USP, Канада	«ХЧ»
2	Тетраэтиленгликоль додециловый эфир (Brij 30)	Sigma-Aldrich, Великобритания	95,0 мас.% основного вещества
3	Полиэтиленгликоль(15)- гидроксистеарат (Solutol HS 15)	Sigma-Aldrich, Германия	95,0 мас.% основного вещества
4	Полиэтиленгликоль сорбитан моноолеат (Tween 80)	Sigma-Aldrich, Франция	95,0 мас.% основного вещества

5	Полиэтиленгликоль сорбитан моностеарат (Tween 60)	Sigma-Aldrich, США	95,0 мас.% основного вещества
6	Сорбитан моноолеат (Span 80)	Sigma-Aldrich, США	95,0 мас.% основного вещества
7	Сорбитан моностеарат (Span 60)	Sigma-Aldrich, США	95,0 мас.% основного вещества
8	Хлорид натрия (NaCl)	Химмед, Россия	«ХЧ»
9	(+)α-Токоферол	Sigma-Aldrich, США	
10	Гидрокортизон	Sigma-Aldrich, Китай	98,0 мас.% основного вещества
11	Куркумин	Sigma-Aldrich, Китай	65,0 мас.% основного вещества
12	Нимесулид	Sigma-Aldrich, Италия	

2.2. Методы исследования

Исследование капель дисперсной фазы в наноэмульсиях осуществлялось такими методами, как кондуктометрия, динамическое светорассеяние, дифференциально-сканирующая калориметрия, поляризационная оптическая микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия. В работе были проведены измерения электрокинетического потенциала капель дисперсной фазы в наноэмульсиях.

2.2.1. Кондуктометрический метод для определения температуры инверсии фаз

Электропроводность наноэмульсий была исследована с помощью портативного кондуктометра HI 8733 N (Hanna Instruments, Германия).

Характеристики прибора: диапазоны измерений (0 - 199,9 мкСм/см; 0 - 1999 мкСм/см; 0 - 19,99 мСм/см; 0 - 199,9 мСм/см); автоматическая компенсация температурных изменений.

Методика измерения заключалась в погружении датчика на 8 см в исследуемую наноземulsion. Измерения проводились при температурах от 42 °С до (95-100) °С с шагом 2 °С.

2.2.2. Метод динамического светорассеяния для определения размера капель дисперсной фазы в наноземulsionях

Диаметры капель дисперсной фазы в наноземulsionях определяли методом динамического светорассеяния на лазерном анализаторе характеристик частиц субмикронного диапазона Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания). Прибор измеряет интенсивность рассеянного частицами образца света и строится корреляционная кривая изменения интенсивности света за определенные возрастающие временные интервалы. Рассеянный свет регистрируется под углом 173°.

Измерения проводили следующим образом: прозрачную кювету DTS0012 из полистирола заполняли наноземulsionей общим объемом 1 мл. Кювету с образцом помещали в кюветное отделение, накрывали термоизолирующей крышкой и проводили измерение посредством управления через программный интерфейс. Измерения проводились при температуре 25 °С. Для каждого образца снимали серию из трех измерений. Для обработки результатов эксперимента брали среднее значение.

2.2.3. Измерение электрофоретической подвижности капель дисперсной фазы в наноземulsionях

Электрокинетический потенциал наноземulsionей измеряли при помощи лазерного анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания). Измерение ζ -потенциала основано на измерении электрофоретической

подвижности частиц в жидкости под действием приложенного электрического поля с использованием эффекта Доплера. Методика измерения ζ -потенциала: полистирольную кювету DTS1060C промывали дистиллированной водой с помощью двух шприцов на 1,5 мл. После промывания кювету при помощи шприца заполняли наноэмульсией объемом 1 мл, устанавливали кювету в кюветное отделение анализатора и проводили измерение с помощью компьютерной программы. Измерения проводились при 25 °С. Для каждого образца снимали серию из трех измерений.

2.2.4. Метод дифференциально-сканирующей калориметрии для определения температуры плавления ПАВ твердообразного адсорбционного слоя в наноэмульсиях

Температуру плавления ПАВ и температуру плавления твердого адсорбционного слоя на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях определяли методом ДСК-ТГА на приборе SDT Q600 (TA Instruments, США). Анализатор позволяет регистрировать процессы, сопровождающиеся поглощением или выделением тепла и изменения массы образца. Измерение проводилось следующим образом: помещали небольшое количество (не более 200 мг) наноэмульсии в алюминиевый тигель с крышкой без отверстия. Устанавливали температуру нагрева 90 °С, скорость нагрева - 1 °С/мин в токе воздуха (скорость подачи воздуха – 100 мл/мин).

2.2.5. Метод поляризационной оптической микроскопии для определения жидкокристаллических структур в наноэмульсиях

Определение жидкокристаллических структур в наноэмульсиях, стабилизированных смесью Solutol HS 15 и Span 60, проводилось на поляризационном оптическом микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете с цифровой фотокамерой Canon. Методика измерения: на

предметное стекло наносили тонким слоем наноэмульсию, накрывали образец покровным стеклом и помещали на предметный столик микроскопа.

2.2.6. Метод просвечивающей электронной микроскопии для исследования наноэмульсий

Структура слоя на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях исследовалась с помощью метода негативного контрастирования на просвечивающем электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония). Добавление к наноэмульсии контрастера увеличивает контрастность капель дисперсной фазы при помощи неровностей на поверхности образца, инфильтрации пор и электронно-прозрачный объект становится окружен электронно-плотным материалом. Таким образом, на фоне электронно-плотного окружения капли дисперсной фазы выглядят как электронно-прозрачная область.

Подготовка образцов для исследования: каплю наноэмульсии наносили на сетку с подложкой, высушивали в течение 15-30 мин. На парафиновую пленку наносили каплю контрастера – уранилацетата натрия, окунали в контрастер сетку с образцом на 5-7 с и высушивали в течение 15-30 мин. Приготовленные образцы наноэмульсий исследовали на просвечивающем электронном микроскопе. Ускоряющее напряжение было равно 80 кВ, увеличение – до $\times 600\ 000$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В статьях для получения прямых наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80, в качестве дисперсной фазы чаще всего используют декан, додекан, тетрадекан, гексадекан [67], изогексадекан [24], трибутирин [125], апельсиновое, кокосовое, оливковое масла [33]. В литературе мало изучено влияния углеводородного масла на дисперсность и устойчивость наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80.

В данной работе было проведено определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных неионогенными ПАВ и их смесями, в определении влияния различных параметров (температура, интенсивность перемешивания, концентрации ПАВ и дисперсной фазы) на размер капель дисперсной фазы. Для получения наноэмульсий были использованы метод температурной инверсии фаз и инверсии фаз при изменении состава. Для сравнения дисперсности наноэмульсий, полученных этими методами, было проведено сравнение полученных результатов с характеристиками эмульсий, полученных высокоэнергетическим диспергированием.

3.1. Наноэмульсии «масло-в-воде», стабилизированные Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80

В данном разделе изучались условия получения прямых наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, методом температурной инверсии фаз. Также были проведены исследования по определению условий получения наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80, высокоэнергетическим и низкоэнергетическими методами. Этоксигированное ПАВ Brij 30, ГЛБ которого сильно зависит от температуры, может быть использовано только для получения наноэмульсий методом температурной инверсии фаз. Известно, что некоторые смеси ПАВ обеспечивают лучшую стабилизацию, чем индивидуальное ПАВ [30]. Использование смесей неионогенных ПАВ

Tween 80 и Span 80 позволяет получать наноэмульсии различными методами, при этом полисорбаты (Tween) и сорбитаны (Span) являются биосовместимыми, биоразлагаемыми и разрешены для применения в косметике и пищевой промышленности.

В данном разделе были определены температуры инверсии фаз, также было оценено влияние концентраций дисперсной фазы, дисперсионной среды, ПАВ, интенсивности перемешивания на размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях.

3.1.1. Определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30

Прямые наноэмульсии были получены в системе углеводородное масло – Brij 30 – водный раствор NaCl методом температурной инверсии фаз. Концентрация углеводородного масла находилась в диапазоне от 10 до 40 об.%, концентрация Brij 30 – 1,0-7,5 об.%, водный раствор NaCl – 0,17 М.

Получение наноэмульсий проводили по следующей методике: смесь компонентов из углеводородного масла, Brij 30, 0,17 М водного раствора NaCl помещали в термостат при температуре 80 °С и выдерживали в течение 15 мин. После этого смесь переливали в охлажденный до +5 °С бюкс и перемешивали на магнитной мешалке в ледяной бане 5 мин.

3.1.1.1. Температура инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30

Для получения наноэмульсий методом температурной инверсии фаз необходимо первоначально нагреть компоненты эмульсии до высокой температуры, при этом происходит формирование эмульсии «вода-в-масле». После этого обратную эмульсию резко охлаждают ниже температуры инверсии фаз для получения прямой наноэмульсии. Температура, при которой происходит обращение фаз, была определена кондуктометрическим методом.

Исследовалась система, состоящая из 10-40 об.%. углеводородного масла, 3 и 5 об.% Brij 30 и водного раствора NaCl (0,17 М). Сосуд со смесью помещали в термостат, нагревали до температуры 80 °С. При данной температуре и умеренном перемешивании сосуд выдерживали в течение 15 мин. После этого температуру уменьшали с шагом 2°С и измеряли электропроводность. В качестве примера на рис. 3.1 представлены зависимости электропроводности от температуры для наноэмульсий, содержащих 15, 20 и 30 об.%. углеводородного масла.

При температуре 70-80 °С значения электропроводности были низкими 0-3 мкСм/см, т. к. эмульсия была обратная (рис. 3.1). Уменьшение температуры приводило к резкому увеличению значений электропроводности системы вследствие инверсии фаз. При дальнейшем снижении температуры значения электропроводности незначительно уменьшались.

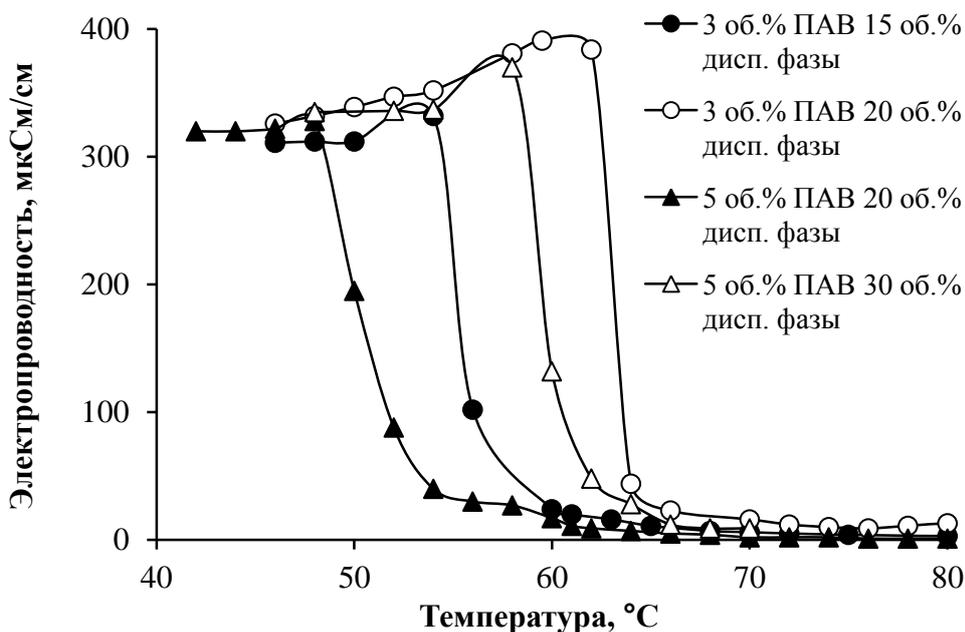


Рис. 3.1. Зависимости электропроводности системы от температуры при разных концентрациях дисперсной фазы

По полученным данным электропроводности от температуры были определены температурные интервалы существования обратных,

бинепрерывных и прямых эмульсий. Диаграмма состояния для системы, содержащей 5 об.% Brij 30, показана на рис. 3.2. При снижении температуры обратная эмульсия переходила в бинепрерывную эмульсию. Дальнейшее уменьшение температуры приводило к образованию прямой наноэмульсии.

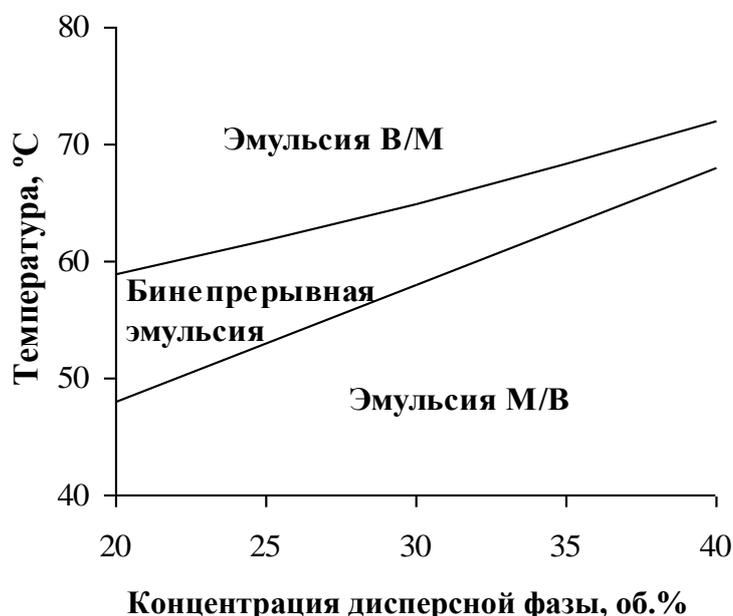


Рис. 3.2. Температурные интервалы существования разных типов эмульсий, стабилизированных Brij 30. Концентрация Brij 30 в системе - 5 об. %

Температурные диапазоны инверсии фаз для наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, находились в интервале от 48 до 70 °C. Для получения обратной эмульсии, из которой при охлаждении получается прямая наноэмульсия, была выбрана температура на 10 °C выше, чем температура инверсии фаз. Таким образом, была выбрана температура 80 °C.

3.1.1.2. Влияние интенсивности перемешивания на дисперсность наноэмульсий

Скорость перемешивания может оказывать влияние на размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, получаемых методом температурной инверсии фаз [126]. Авторы статьи [127] отмечают, что при недостаточно

высокой скорости перемешивания может происходить коалесценция капель в получаемой эмульсии.

В данной работе было изучено влияние интенсивности перемешивания на диаметр капель дисперсной фазы (рис. 3.3). Исследовались наноэмульсии, содержащие 3 об.% Brij 30, 20 и 30 об.% углеводородного масла и водный раствор NaCl (0,17 M). Систему выдерживали в термостате при температуре 80 °С в течение 15 мин. После нагрева смесь компонентов несколько раз интенсивно встряхивали. Переливали горячую смесь в сосуд, предварительно охлажденный до +5 °С. Сосуд помещали в ледяную баню и смесь перемешивали на магнитной мешалке со скоростью от 100 до 1500 об/мин.

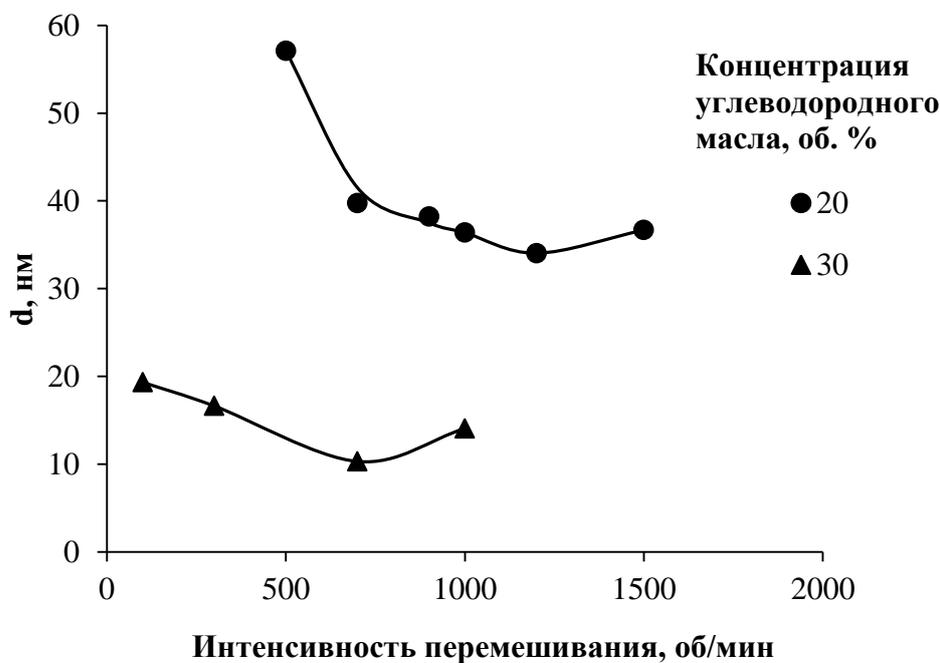


Рис. 3.3. Зависимости размера капель дисперсной фазы от интенсивности перемешивания эмульсии на магнитной мешалке

Из данных рис. 3.3 видно, что при концентрации дисперсной фазы 20 об.% с ростом интенсивности перемешивания от 500 до 1000 об/мин диаметр капель дисперсной фазы в наноэмульсиях уменьшался до 35 нм, в диапазоне 1000-1500 об/мин размер капель дисперсной фазы изменялся незначительно. При

концентрации углеводородного масла 30 об.% с возрастанием интенсивности перемешивания от 100 до 1000 об/мин диаметр капель дисперсной фазы также незначительно изменялся. Следует отметить, что во всех наноэмульсиях диаметр капель не превышал 60 нм. Так как при содержании дисперсной фазы 20 об.% наблюдалось некоторое уменьшение размеров капель с увеличением интенсивности перемешивания, то для получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, методом температурной инверсии фаз была выбрана интенсивность перемешивания 1000 об/мин.

3.1.1.3. Влияние концентраций Brij 30 и дисперсной фазы на дисперсность наноэмульсий

Как известно, с ростом концентрации ПАВ до определенного предела средний размер капель в эмульсиях уменьшается [29]. Увеличение содержания дисперсной фазы в эмульсии, как правило, приводит к увеличению диаметров капель [21].

Для изучения влияния концентрации ПАВ и доли дисперсной фазы на размер капель дисперсной фазы исследовались наноэмульсии, стабилизированные Brij 30. Наноэмульсии были получены методом температурной инверсии фаз. Концентрация Brij 30 была равна 1,0-7,5 об.%, концентрация углеводородного масла – 5-50 об.%. Дисперсионная среда – водный раствор NaCl (0,17 М).

По полученным данным (рис. 3.4) видно, что с увеличением концентрации углеводородного масла в наноэмульсиях диаметр капель дисперсной фазы уменьшался до 15-30 нм, в определенном интервале оставался практически неизменным. При дальнейшем возрастании концентрации углеводородного масла размер капель дисперсной фазы резко возрастал.

Это обусловлено тем, что при низких концентрациях углеводородного масла количество Brij 30 оказывалось недостаточным для стабилизации обратной эмульсии, поэтому получались крупные капли дисперсной фазы. При

высоких концентрациях углеводородного масла содержание ПАВ в системе было недостаточно для стабилизации всех капель дисперсной фазы в прямых наноэмульсиях, поэтому наблюдался резкий рост диаметров капель дисперсной фазы.

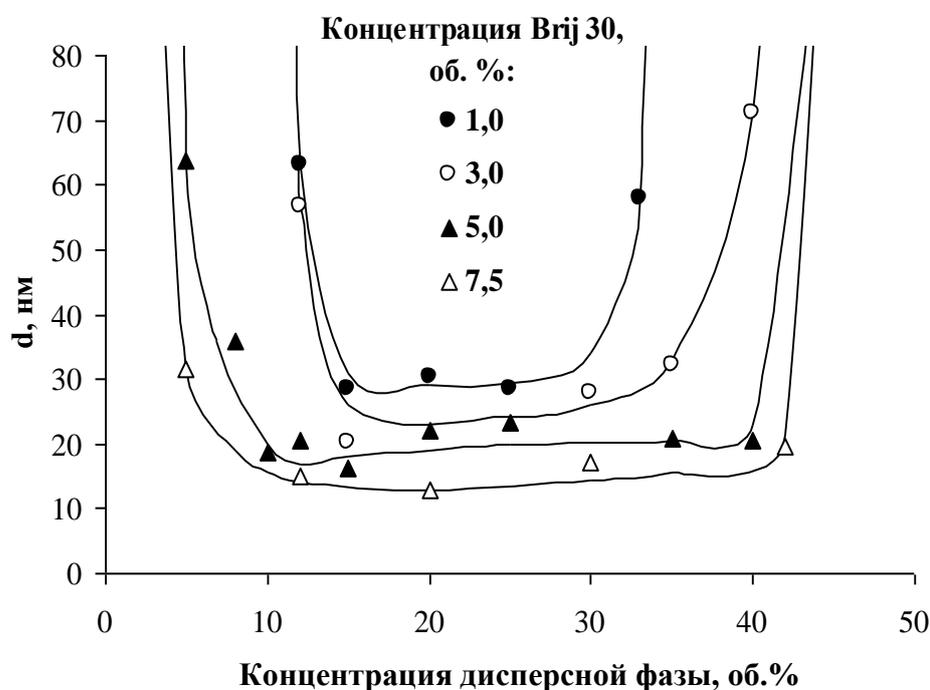


Рис. 3.4. Зависимости диаметров капель дисперсной фазы в наноэмульсиях от концентрации углеводородного масла при разном содержании Brij 30

По мере роста концентрации ПАВ плато на зависимостях на рис. 3.4 становилось более широким. При этом также наблюдалось уменьшение размеров капель. Так, при увеличении концентрации Brij 30 от 1,0 до 7,5 об. % диаметр капель дисперсной фазы снижался от 30 до 15 нм.

3.1.1.4. Влияние концентрации водного раствора NaCl на дисперсность наноэмульсий, стабилизированных Brij 30

Хлорид натрия является важнейшим компонентом, который поддерживает необходимое осмотическое давление внеклеточной жидкости и плазмы крови. Концентрация NaCl в биологических жидкостях человека составляет 0,15 М [128]. При более низких концентрациях NaCl в дисперсионной среде

наноэмульсий вода будет диффундировать в клетки, при более высокой - наоборот выходить из клеток, что является нежелательным при использовании таких систем для трансдермальной доставки.

С другой стороны содержание NaCl может влиять на дисперсность наноэмульсий, поэтому в данной работе было определено влияние концентрации водного раствора NaCl в дисперсионной среде на размер капель дисперсной фазы (рис. 3.5). Исследовались прямые наноэмульсии, стабилизированные Brij 30. Концентрация Brij 30 была равна 3,0 об.%, концентрация углеводородного масла составила 30 об.%. Концентрация NaCl находилась в интервале от 0 до 0,85 М.

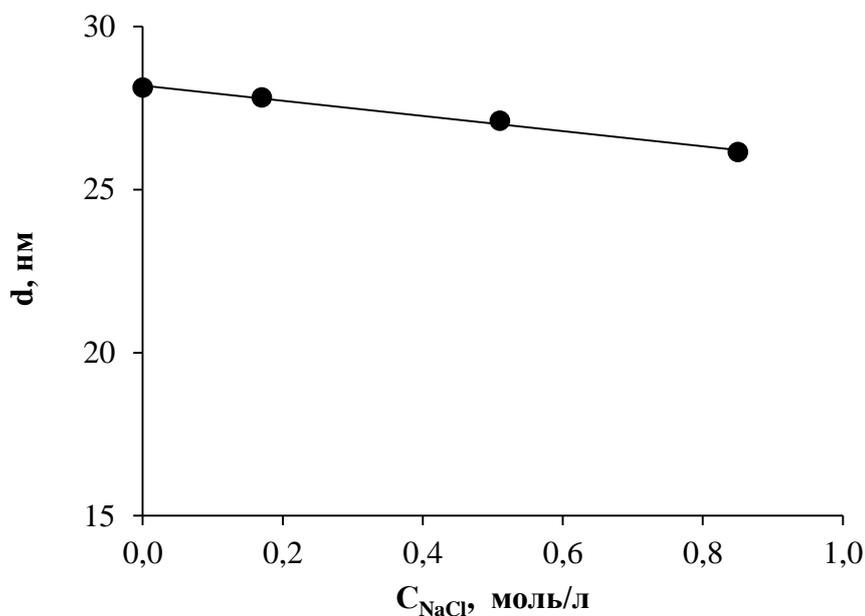


Рис. 3.5. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы от концентрации водного раствора NaCl в наноэмульсиях

С ростом концентрации NaCl от 0 до 0,85 М диаметр капель дисперсной фазы практически не изменялся и был равен 27 ± 3 нм (рис. 3.5). Поэтому в работе была выбрана концентрация NaCl 0,17 М, которая является наиболее близкой к физиологическому раствору.

3.1.2. Определение условий получения наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80

В большинстве публикаций рассматривается получение наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, т. к. гидратация молекул данного ПАВ сильно зависит от температуры. Если зависимость гидратации молекул от температуры или состава системы невысокая, то, как правило, используют смеси двух (или более) ПАВ с разными величинами ГЛБ. Такая смесь должна состоять из ПАВ с низким значением ГЛБ для стабилизации обратной эмульсии и ПАВ с высоким значением ГЛБ для стабилизации прямой наноэмульсии.

В данной работе было проведено определение условий образования прямых наноэмульсий в системе углеводородное масло – смесь Tween 80 + Span 80 – водный раствор NaCl разными методами: высокоэнергетическим методом, методом инверсии фаз при изменении состава и методом температурной инверсии фаз. Концентрация углеводородного масла составила 25 об.%, суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 варьировалась от 1 до 20 об.%. В качестве дисперсной фазы использовался 0,17 М водный раствор NaCl.

3.1.2.1. Наноэмульсии, полученные высокоэнергетическим методом

Наноэмульсии получают высокоэнергетическими методами, такими как ультразвуковое, механическое диспергирование и др. Высокоэнергетическими методами размер капель дисперсной фазы часто превышает 100 нм. Для того, чтобы высокоэнергетическим методом получить капли дисперсной фазы менее 100 нм необходимо большое количество ПАВ и/или большие затраты энергии [20].

В данной работе были получены эмульсии, стабилизированные смесью Tween 80 и Span 80, высокоэнергетическим методом – механическим диспергированием. Эмульсии получали диспергированием смеси, состоящей из углеводородного масла, Tween 80, Span 80 и водного раствора NaCl (0,17 М), на

приводной мешалке со скоростью перемешивания 3000 об/мин в течение 15 мин. Эмульсии с наименьшим размером капель были получены диспергированием при температуре 25 °С смеси, состоящей из 25 об.% углеводородного масла, 12,5 об.% смеси ПАВ Tween 80 + Span 80 (мольное соотношение Tween 80 / Span 80 – 0,76) и 62,5 об.% водного раствора NaCl (0,17 М).

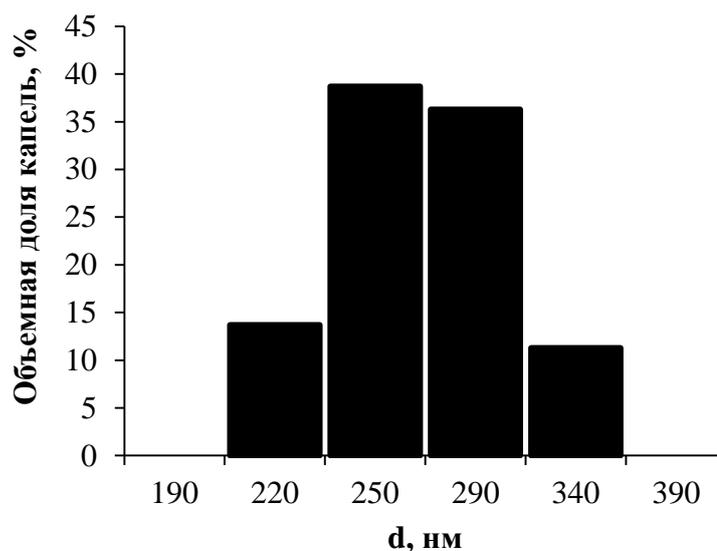


Рис. 3.6. Распределение капель дисперсной фазы по размерам в эмульсии, стабилизированной смесью Tween 80 и Span 80, полученной методом высокоэнергетического диспергирования

Средний размер капель дисперсной фазы в такой эмульсии составил 250 нм (рис. 3.6). Этот результат подтверждает тот факт, что высокоэнергетическим методом часто получают капли дисперсной фазы, размеры которых превышают 100 нм, поэтому этот метод не подходит для получения наноэмульсий данного состава. Высокоэнергетический метод также является экономически невыгодным из-за большого расхода энергии. Поэтому для получения капель дисперсной фазы в наноэмульсиях менее 100 нм в дальнейшей работе были использованы низкоэнергетические методы.

3.1.2.2. Наноэмульсии, полученные методом инверсии фаз при изменении состава

Одним из низкоэнергетических методов получения наноэмульсий является метод инверсии фаз при изменении состава. Изменяя состав системы в процессе эмульгирования при постоянной температуре, возникают фазовые переходы. Следовательно, в методе инверсии фаз при изменении состава можно использовать ПАВ, отличные от этоксилированных [22]. Этот метод заключается в постепенном добавлении водной фазы в органическую фазу. Первоначально происходит образование обратной наноэмульсии. Дальнейшее добавление водной фазы в органическую приводит к инверсии фаз и образованию прямой наноэмульсии.

3.1.2.2.1. Влияние интенсивности перемешивания на размер капель дисперсной фазы

Размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях зависит от интенсивности перемешивания. Экспериментально было изучено влияние перемешивания на диаметр капель дисперсной фазы (рис. 3.7).

В работе были исследованы наноэмульсии, содержащие 25 об.% углеводородного масла и 5 об.% смеси Tween 80 и Span 80 (мольное соотношение Tween 80 / Span 80 – 0,76). Компоненты наноэмульсии перемешивали при температуре 25 °С на приводной мешалке со скоростью перемешивания 150-900 об/мин и одновременно по каплям с помощью перистальтического насоса ($v = 2,5$ мл/мин) добавляли 0,17 М водный раствор NaCl.

По рис. 3.7 видно, что увеличение интенсивности перемешивания приводило к уменьшению размера капель только при низкой интенсивности перемешивания. Так при увеличении скорости перемешивания от 150 до 300 об/мин, диаметр капель дисперсной фазы резко снижался от 5000 до

230 нм. В интервале 300-700 об/мин диаметр каплей дисперсной фазы практически не изменялся и находился в диапазоне 230-280 нм.

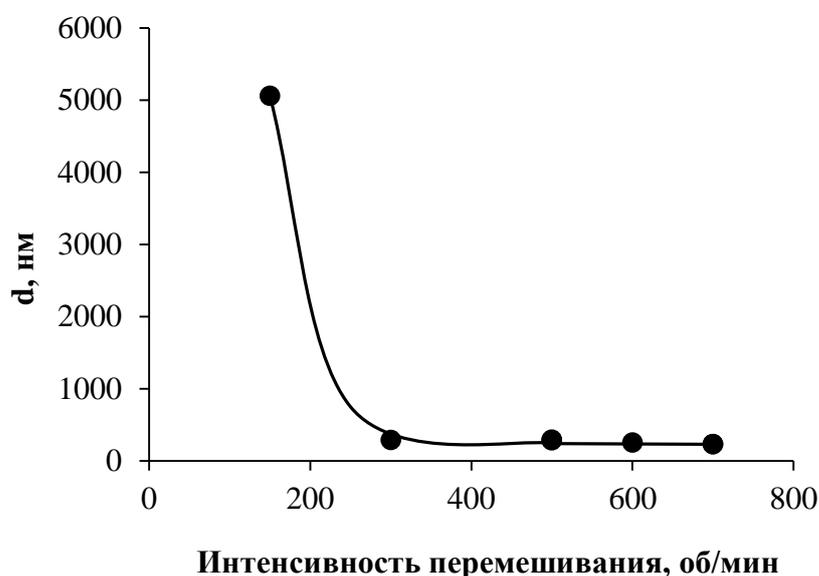


Рис. 3.7. Зависимость размера каплей дисперсной фазы от интенсивности перемешивания. Суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 - 5 об.%

Таким образом, при интенсивности перемешивания 300-700 об/мин получались капли дисперсной фазы наименьшего размера. В дальнейшей работе для получения наноэмульсий методом инверсии фаз при изменении состава была выбрана скорость перемешивания 500 об/мин. Следует отметить, что в данном случае также происходило образование эмульсий с относительно крупными каплями, поэтому было проведено изучение влияния температуры на дисперсность эмульсий.

3.1.2.2.2. Влияние температуры проведения процесса получения наноэмульсий на размер каплей дисперсной фазы

Температура, при которой проводится получение эмульсий методом инверсии фаз при изменении состава, является одним из параметров, оказывающих влияние на дисперсность. В работе были исследованы

наноэмульсии, состоящие из 25 об.% углеводородного масла и 5 об.% смеси Tween 80 и Span 80 (мольное соотношение Tween 80 / Span 80 – 0,76). Эмульсии были получены при температурах от 13 до 70 °С на приводной мешалке со скоростью перемешивания 500 об/мин. По каплям с помощью перистальтического насоса ($v = 2,5$ мл/мин) добавляли 0,17 М водный раствор NaCl. На рис. 3.8 представлена зависимость размера капель дисперсной фазы от температуры проведения процесса получения эмульсий.

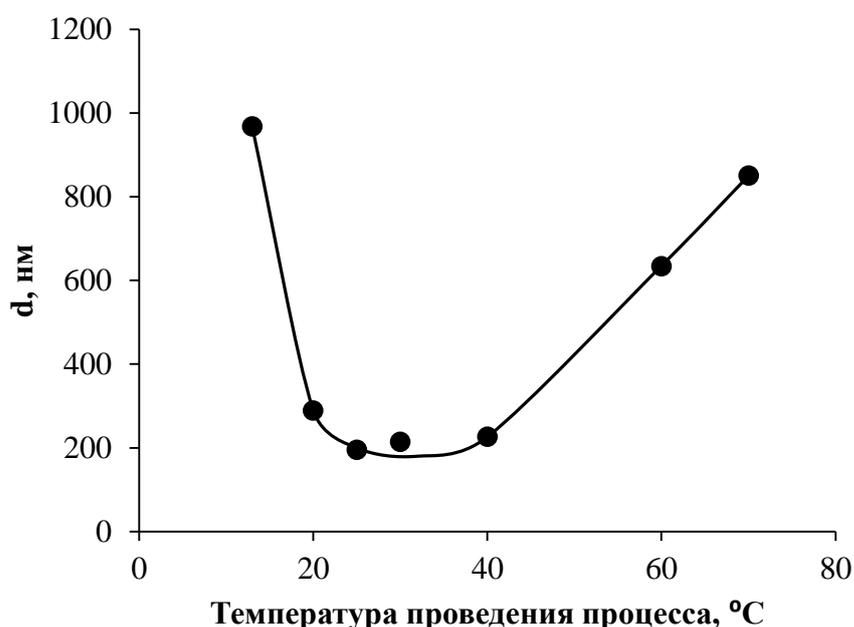


Рис. 3.8. Зависимость размера капель дисперсной фазы от температуры получения наноэмульсий. Суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 – 5 об.%

Из представленных данных можно сделать вывод, что при увеличении температуры от 13 до 20 °С диаметр капель дисперсной фазы резко уменьшался, в интервале температур 20-40 °С диаметр капель был равен 225-285 нм, при температуре выше 40 °С размер капель возрастал. Следовательно, при комнатной температуре 20-25 °С средний диаметр капель дисперсной фазы получался наименьшим.

3.1.2.2.3. Влияние концентрации водного раствора NaCl на размер капель дисперсной фазы наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80

В данной работе было изучено влияние концентрации NaCl на размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, содержащих 25 об.% углеводородного масла, 5 об.% смеси Tween 80 + Span 80 (мольное соотношение Tween 80 / Span 80 - 0,76). Концентрация NaCl в дисперсионной среде варьировалась в диапазоне 0,09-0,30 М. Температура получения наноэмульсий составляла 25 °С, интенсивность перемешивания – 500 об/мин.

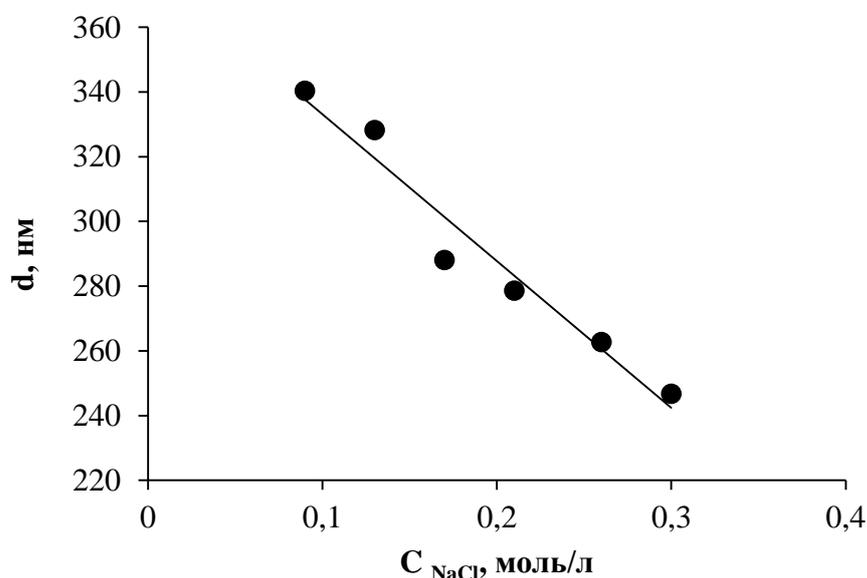


Рис. 3.9. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80, от концентрации водного раствора NaCl

Увеличение концентрации водного раствора NaCl от 0,09 до 0,30 М привело к снижению размера капель дисперсной фазы от 340 до 245 нм (рис. 3.9). Однако, в дальнейшей работе для получения прямых наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80, была выбрана концентрация водного раствора NaCl 0,17 М, которая является близкой к физиологическому раствору.

3.1.2.2.4. Влияние мольного соотношения Tween 80 / Span 80 на размер капель дисперсной фазы

Следующим этапом было изучено влияние соотношения ПАВ на диаметр капель дисперсной фазы. Исследовались наноэмульсии, содержащие 25 об.% углеводородного масла и 5 об.% смеси Tween 80 и Span 80. Мольное соотношение Tween 80 / Span 80 находилось в интервале от 0,33 до 2,93. ПАВ с низкими значениями ГЛБ стабилизируют обратные эмульсии, ПАВ с высоким значением ГЛБ – прямые [24]. В работе значения ГЛБ смеси были рассчитаны по формуле [32]:

$$ГЛБ_{см} = \frac{W_T ГЛБ_T + W_S ГЛБ_S}{W_T + W_S} \quad (3.1)$$

где $ГЛБ_{см}$ – значение ГЛБ смеси ПАВ, W_T – массовая доля Tween 80, W_S – массовая доля Span 80, $ГЛБ_{Tween\ 80} = 15,0$; $ГЛБ_{Span\ 80} = 4,3$.

Компоненты наноэмульсии перемешивали при температурах 25 и 40 °С на приводной мешалке со скоростью 500 об/мин. Одновременно по каплям с помощью перистальтического насоса ($v = 2,5$ мл/мин) добавляли 0,17 М водный раствор NaCl.

Зависимости размера капель дисперсной фазы от мольного соотношения Tween 80 / Span 80 при разных температурах приведены на рис. 3.10.

При температуре 25 °С с увеличением мольного соотношения Tween 80 / Span 80 от 0,33 до 0,49, диаметр капель дисперсной фазы снижался от 210 до 180 нм. При мольном соотношении Tween 80 / Span 80 от 0,49 до 1,31 диаметр капель возрастал до 250 нм.

При температуре 40 °С с ростом мольного соотношения Tween 80 / Span 80 от 0,33 до 0,76 размер капель дисперсной фазы уменьшался от 300 до 210 нм. При дальнейшем увеличении мольного соотношения от 0,76 до 2,93 – диаметр капель увеличивался до 620 нм. Возможно, что при значениях мольного

соотношения Tween 80 / Span 80 менее 0,76 количество Span 80 было больше и Tween 80 было недостаточно для стабилизации капель прямых эмульсий. При значениях мольного соотношения Tween 80 / Span 80 выше 0,76 рост капель дисперсной фазы в эмульсиях происходил из-за уменьшения содержания в системе Span 80 и увеличения количества Tween 80. Span 80 было недостаточное количество для стабилизации капель обратной эмульсии, поэтому происходил рост капель дисперсной фазы.

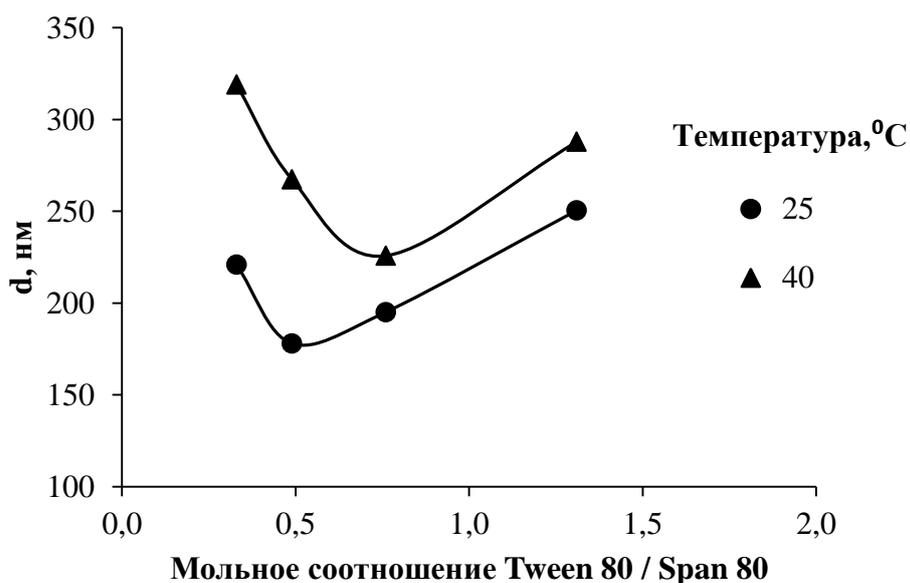


Рис. 3.10. Зависимости размера капель дисперсной фазы от мольного соотношения Tween 80 / Span 80 при разных температурах проведения синтеза.
Суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 - 5 об.%

С ростом температуры процесса получения наноэмульсий диаметр капель дисперсной фазы возрастал. Капли дисперсной фазы наименьшего размера были получены при 25 °C.

При температуре 40 °C минимальный диаметр капель дисперсной фазы был при мольном соотношении Tween 80 / Span 80 – 0,76, при 25 °C – 0,49. Однако при мольных соотношениях 0,49 и 0,76 разница в значениях размера

незначительна, поэтому в дальнейшее работе наноэмульсии получали при мольном соотношении Tween 80 / Span 80 – 0,76.

3.1.2.2.5. Влияние суммарной концентрации ПАВ на размер капель дисперсной фазы

При низких концентрациях ПАВ недостаточно для стабилизации всех капель, поэтому протекает их коалесценция. В результате образуются более крупные капли дисперсной фазы. Увеличение концентрации ПАВ приводит к экспоненциальному уменьшению среднего диаметра капель, к увеличению дисперсности и к более узкому распределению капель по размерам [129]. Для определения суммарной концентрации Tween 80 и Span 80, необходимой для стабилизации прямых наноэмульсий, была изучена зависимость размера капель дисперсной фазы от концентрации ПАВ при мольном соотношении Tween 80 / Span 80, равном 0,76 (рис. 3.11). Исследовались наноэмульсии, состоящие из 25 об.% углеводородного масла, 1-20 об.% смеси Tween 80 + Span 80 и водного раствора NaCl (0,17 М). Интенсивность перемешивания приводной мешалки составляла 500 об/мин. Температура проведения процесса 25 °С.

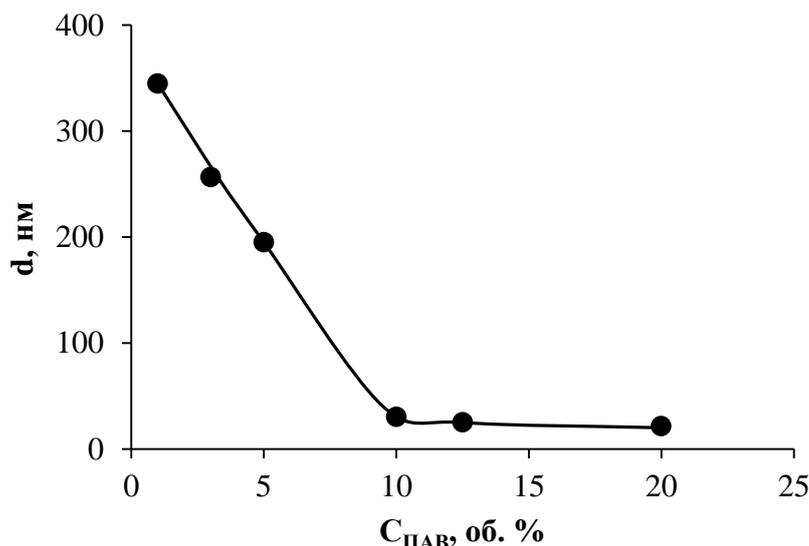


Рис. 3.11. Зависимость суммарной концентрации Tween 80 + Span 80 от среднего диаметра капель дисперсной фазы наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80

С увеличением суммарной концентрации Tween 80 и Span 80 от 1 до 10 об.% размер капель дисперсной фазы резко уменьшался от 350 до 30 нм. При дальнейшем увеличении суммарной концентрации от 10 до 20 об.% диаметр капель дисперсной фазы в наноэмульсиях составил 25-30 нм. Таким образом, методом инверсии фаз при изменении состава можно получить наноэмульсии, стабилизированные Tween 80 и Span 80, с каплями дисперсной фазы диаметром 25 нм.

3.1.2.3. Наноэмульсии, полученные методом температурной инверсии фаз

При получении наноэмульсий методом температурной инверсии фаз при более высокой температуре образуется обратная эмульсия, поэтому в состав эмульсий включают ПАВ с низким значением ГЛБ - Span 80. При снижении температуры происходит инверсия фаз и образование прямой наноэмульсии, поэтому система должна содержать ПАВ с высоким значением ГЛБ - Tween 80.

В данной работе было изучено влияние мольного соотношения Tween 80 и Span 80, суммарной концентрации ПАВ на диаметр капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, полученных методом температурной инверсии фаз.

3.1.2.3.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80

В данной работе температуру, при которой происходит обращение фаз, определяли кондуктометрическим методом. Исследовалась система, состоящая из 25 об.% углеводородного масла, 12,5 об.% смеси Tween 80 + Span 80 и 62,5 об.% водного раствора NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Tween 80 / Span 80 было равно 0,76. Смесь компонентов нагревали до температуры 98 °С, умеренно перемешивали и выдерживали при данной температуре в течение

5 мин. После этого с шагом 2 °С снижали температуру и измеряли электропроводность.

При температуре 98 °С значение электропроводности было равно 0,55 мкСм/см, т.к. эмульсия была обратная (рис. 3.12). Уменьшение температуры приводило к росту электропроводности до 15 мкСм/см. При снижении температуры ниже 70 °С значения электропроводности незначительно уменьшались.

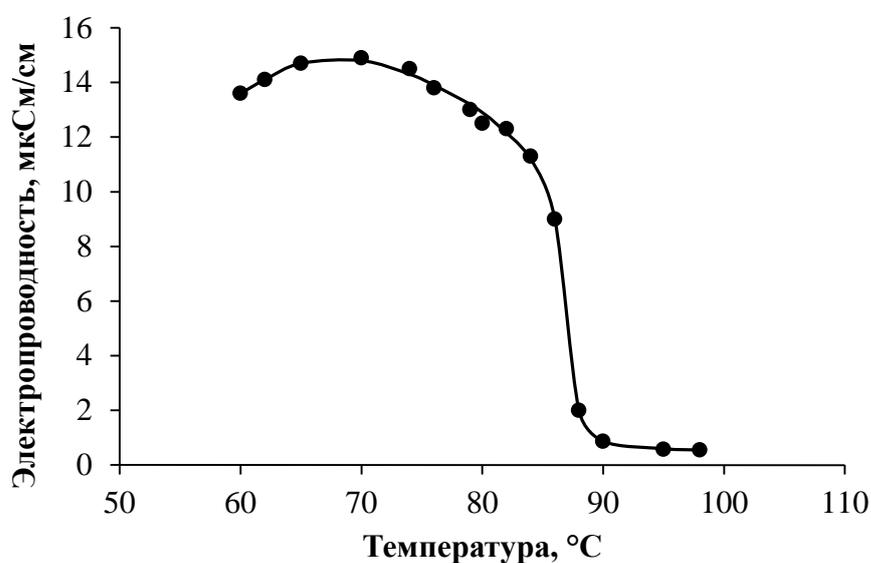


Рис. 3.12. Зависимость электропроводности системы от температуры для наноэмульсии, стабилизированной Tween 80 и Span 80

Таким образом, для получения наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80, методом температурной инверсии фаз была выбрана температура 95 °С, т.е. до этой температуры нагревали смесь компонентов и получали обратную эмульсию.

3.1.2.3.2. Влияние мольного соотношения Tween 80 / Span 80 на размер капель дисперсной фазы

В работе было исследовано влияние мольного соотношения Tween 80 / Span 80 на размер капель дисперсной фазы. Изучалась система, содержащая 25 об.% углеводородного масла, 5,0 и 12,5 об.% смеси Tween 80 + Span 80, водный раствор NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Tween 80 / Span 80 находилось в интервале от 0,33 до 2,93. Компоненты эмульсий нагревались при температуре 95 °С в течение 5 мин, затем интенсивно перемешивались со скоростью 1000 об/мин на ледяной бане.

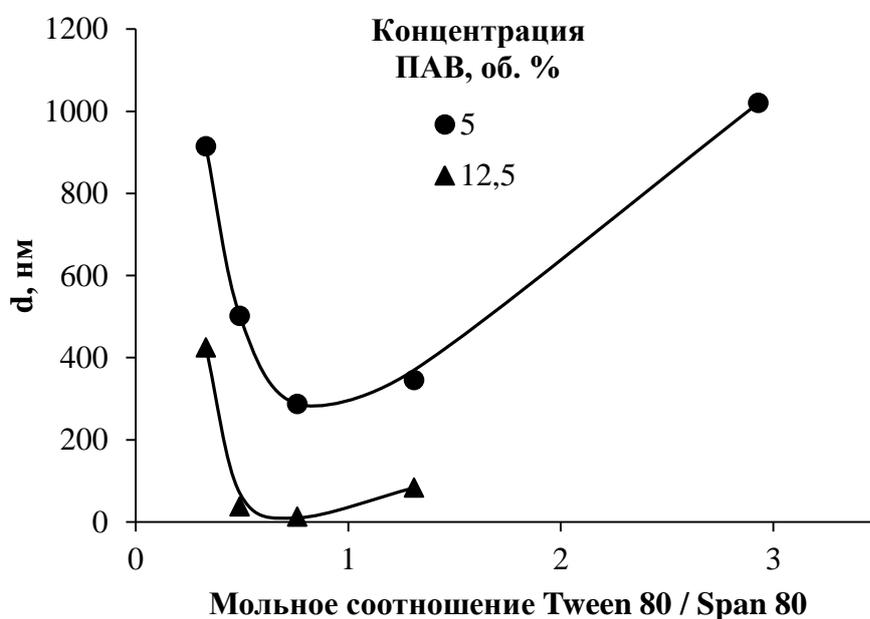


Рис. 3.13. Зависимости размера капель дисперсной фазы от мольного соотношения Tween 80 / Span 80

С ростом суммарной концентрации Tween 80 + Span 80 от 5,0 до 12,5 об.%, диаметр капель дисперсной фазы снижался от 280 до 20 нм (рис. 3.13). При увеличении мольного соотношения Tween 80 / Span 80 от 0,33 до 0,76 диаметр капель дисперсной фазы уменьшался. При мольном соотношении Tween 80 / Span 80 - 0,76 наблюдалась максимальная дисперсность. Это свидетельствует о том, что при небольшом мольном соотношении для

стабилизации обратной эмульсии количество Tween 80 было недостаточно, следовательно, образовывались более крупные капли дисперсной фазы. При мольных соотношениях более 0,76 диаметр каплей возрастал из-за недостаточного количества в системе Span 80, необходимого для стабилизации обратной эмульсии.

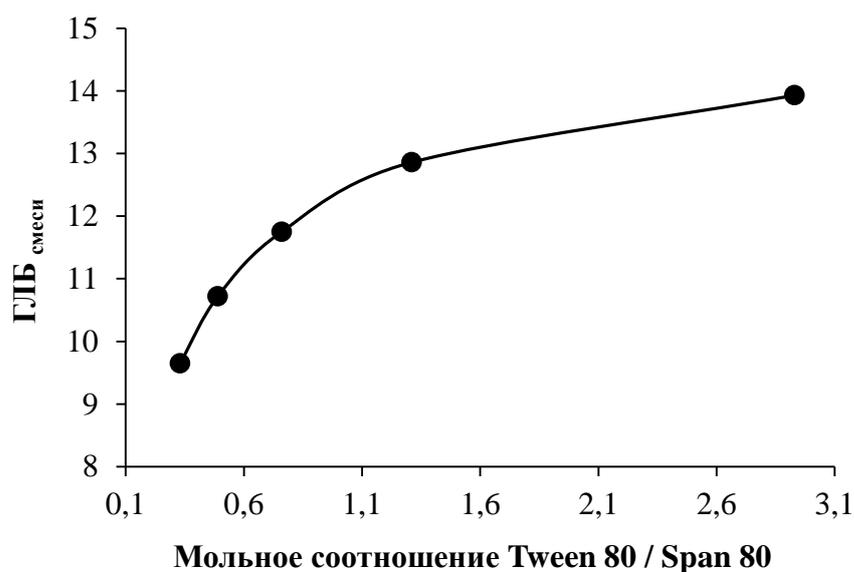


Рис. 3.14. Зависимость ГЛБ смеси Tween 80 и Span 80 от мольного соотношения

Для мольного соотношения Tween 80 / Span 80 – 0,76 значение ГЛБ смеси ПАВ составило 11,75 (рис. 3.14). Следовательно, наноэмульсии с размером каплей дисперсной фазы 20 нм были получены методом температурной инверсии фаз при мольном соотношении Tween 80 / Span 80 – 0,76 (ГЛБ 11,75).

3.1.2.3.3. Влияние суммарной концентрации Tween 80 и Span 80 на размер каплей дисперсной фазы

Для определения общего количества Tween 80 и Span 80 в наноэмульсиях была исследована зависимость диаметра каплей дисперсной фазы от суммарной концентрации ПАВ. Изучалась система, содержащая 25 об.% углеводородного масла, 5,0-12,5 об.% Tween 80 + Span 80, водный раствор NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Tween 80 / Span 80 было равно 0,76. Зависимость

диаметра капель дисперсной фазы от суммарной концентрации ПАВ приведена на рис. 3.15. При возрастании концентрации ПАВ от 5 до 7 об.% диаметр капель резко снижался от 287 до 55 нм. При дальнейшем увеличении суммарной концентрации Tween 80 и Span 80 от 7,0 до 12,5 об.% размер капель дисперсной фазы уменьшался от 55 до 20 нм.

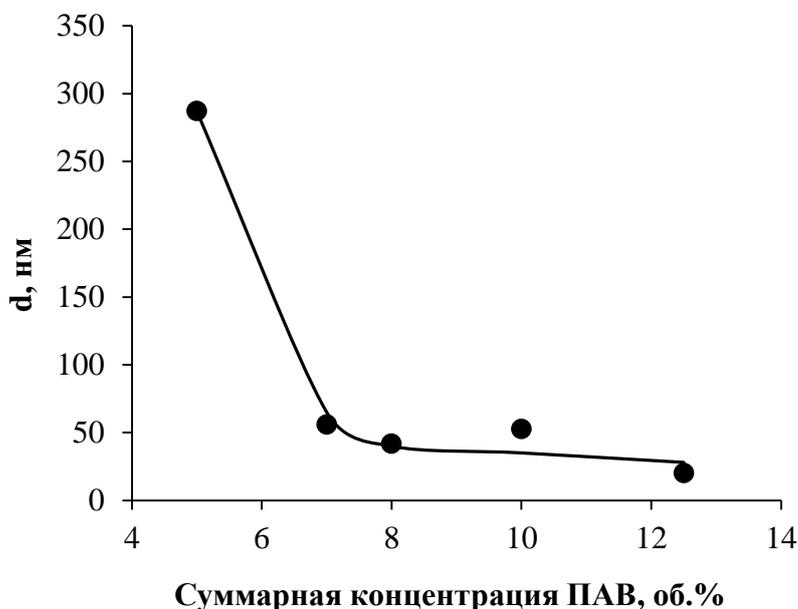


Рис. 3.15. Зависимость размера капель дисперсной фазы от суммарной концентрации Tween 80 + Span 80

Таким образом, при использовании метода температурной инверсии фаз образуются наноэмульсии с размером капель дисперсной фазы 20 ± 5 нм.

3.1.3. Сравнение высокоэнергетического и низкоэнергетических методов получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80

В работе были получены наноэмульсии, стабилизированные Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80, с использованием разных методов. Наноэмульсии, стабилизированные Brij 30, получали только методом температурной инверсии фаз, т. к. гидратация молекул данного ПАВ сильно зависит от температуры системы.

Наноэмульсии, стабилизированные смесью Tween 80 + Span 80, были получены высокоэнергетическим диспергированием и низкоэнергетическими методами – при изменении температуры и состава.

Для сравнения характеристик наноэмульсий полученные результаты представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Концентрационные диапазоны, в которых образуются наноэмульсии

Метод получения	ПАВ	Концентрация ПАВ в наноэмульсиях с $d < 100$ нм, об. %	Доля дисперсной фазы в наноэмульсиях с $d < 100$ нм, об. %	d_{\min} , нм
Высокоэнергетическое диспергирование	Tween 80 + Span 80	-	-	250 ± 20
Метод температурной инверсии фаз	Brij 30	1,0 – 7,5	5-45	15 ± 5
	Tween 80 + Span 80	7,0 – 12,5	25-45	20 ± 5
Метод инверсии фаз при изменении состава	Tween 80 + Span 80	5-20	25-45	25 ± 5

Высокоэнергетическим диспергированием средний размер капель дисперсной фазы в эмульсии, стабилизированной Tween 80 + Span 80, составил 250 нм, следовательно, этот метод не подходит для получения наноэмульсий данного состава. По внешнему виду такие эмульсии отличались от наноэмульсий, полученных методами инверсии фаз (рис. 3.16). Эмульсии, полученные высокоэнергетическим диспергированием, были белыми,

непрозрачными. Наноэмульсии, полученные методом инверсии фаз при изменении состава, с такой же долей дисперсной фазы и диаметром капель 25 нм были полупрозрачными, слегка опалесцирующими.



Рис. 3.16. Фотографии эмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80: наноэмульсия ($d = 25$ нм), полученная методом инверсии фаз при изменении состава (слева), эмульсия ($d = 287$ нм), полученная высокоэнергетическим диспергированием (справа). Доля дисперсной фазы – 25 об.%

Методом температурной инверсии фаз были получены наноэмульсии, стабилизированные Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80. Средний диаметр капель в наиболее высокодисперсных эмульсиях составил 15 ± 5 нм и 20 ± 5 нм, соответственно.

Наноэмульсии, стабилизированные Tween 80 и Span 80, были также получены методом инверсии фаз при изменении состава. Средний размер капель дисперсной фазы в наиболее высокодисперсных эмульсиях был равен 25 ± 5 нм.

Таким образом, методы инверсии фаз при изменении температуры или состава могут быть использованы для получения наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 и Span 80. Концентрационные диапазоны образования прямых наноэмульсий следующие:

- в системе углеводородное масло / Brij 30 / 0,17 М водный раствор NaCl - концентрация Brij 30 - 1,0-7,5 об.%, доля дисперсной фазы 10-40 об.%;
- в системе углеводородное масло / Tween 80 + Span 80 / 0,17 М водный раствор NaCl: суммарная концентрация Tween 80 и Span 80 - 5-10 об.%, доля дисперсной фазы 25-45 об.%.

3.2. Процессы, приводящие к уменьшению дисперсности наноэмульсий

3.2.1. Теоретическое описание процессов, приводящих к уменьшению дисперсности и расслаиванию наноэмульсий

Наноэмульсии являются термодинамически нестабильными дисперсными системами. Укрупнение капель дисперсной фазы со временем происходит из-за протекания оствальдова созревания, коагуляции и коалесценции. Данные процессы протекают одновременно [130], однако их скорости различаются в разные моменты времени.

Скорость оствальдова созревания может быть описана с использованием уравнения Лифшица-Слезова-Вагнера [45]:

$$w = \frac{dr^3}{dt} = \frac{8Dc_{\infty}\sigma M}{9\rho^2 RT} \quad (3.2)$$

где w – скорость оствальдова созревания, r – радиус капли во время t , c_{∞} – растворимость дисперсной фазы в дисперсионной среде, D – молекулярный коэффициент диффузии, σ – межфазное натяжение, M – молярная масса, ρ – плотность, R - универсальная газовая постоянная, T – температура, t - время.

При использовании данного уравнения предполагается, что скорость оствальдова созревания не зависит от доли дисперсной фазы. Это справедливо только для разбавленных эмульсий. По имеющимся в литературе данным, скорость оствальдова созревания можно считать независимой от доли

дисперсной фазы в эмульсиях с $\varphi \leq 0,05$, при более высоких долях w возрастает с увеличением доли дисперсной фазы [131]:

$$w(\varphi) = k(\varphi) \cdot w(0) \quad (3.3)$$

где $k(\varphi)$ – простой множитель, $w(\varphi)$ – скорость оствальдова созревания при объемной доле φ .

Увеличение размеров из-за образования флоккул капель дисперсной фазы, также как и скорость оствальдова созревания, описывается линейной зависимостью куба радиуса от времени, но также зависит и от доли дисперсной фазы [45]:

$$r^3 = r_0^3 + \frac{kT}{\pi\eta} \varphi t \quad (3.4)$$

где r_0 – радиус капель дисперсной фазы в начальный момент времени, k – константа Больцмана, η – вязкость среды.

Изменение размеров капель в эмульсии в результате коалесценции описывается следующей зависимостью [132]:

$$dr \sim \omega r^3 dt \quad (3.5)$$

где ω – вероятность разрыва межфазной пленки на единицу площади.

Интегрирование данного уравнения в пределах от r_0 до r и от 0 до t и с учетом численного коэффициента приводит к уравнению [20, 43]:

$$\frac{1}{r^2} = \frac{1}{r_0^2} - \frac{8\pi\omega}{3} t \quad (3.6)$$

Исследуя вышеприведенные зависимости, можно определить какой процесс является преобладающим в наноэмульсиях в определенный интервал времени. Если зависимости куба радиуса от времени является линейной и не зависит от доли дисперсной фазы, то преобладающим является оствальдово

созревание. Если зависимость куба радиуса от времени линейно возрастает с ростом доли дисперсной фазы, то преобладающим процессом является коагуляция. Линейная зависимость обратного квадрата радиуса от времени свидетельствует о том, основной вклад в увеличение размеров капель вносит коалесценция.

3.2.2. Характеристика наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 + Span 80, после их получения

Для того чтобы определить какой процесс является преобладающим и приводит к укрупнению капель дисперсной фазы, были исследованы наноэмульсии, в которых объемное соотношение Brij 30 / углеводородное масло составляло 1:7, и наноэмульсии с объемным соотношением Tween 80 + Span 80 / углеводородное масло равным 1:2. Доля дисперсной фазы достигала 35 об.% в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, и 45 об.% в наноэмульсиях с Tween 80 и Span 80.

Полученные наноэмульсии сразу же после получения разбавляли 0,17 М водным раствором NaCl, чтобы получить наноэмульсии с долей дисперсной фазы от 1 до 5 об.%. На рис. 3.17 представлена микрофотография наноэмульсии, стабилизированной Tween 80 и Span 80, с первоначальной долей дисперсной фазы 40 об.%, после разбавления - 4 об.%. Капли располагались на расстоянии друг от друга, т. е. в только что полученных наноэмульсиях флоккулы отсутствовали.

Как будет показано в следующем разделе, на гистограммах разбавленных наноэмульсий присутствовал только один максимум, что также свидетельствует об отсутствии флоккул в наноэмульсиях сразу же после получения.

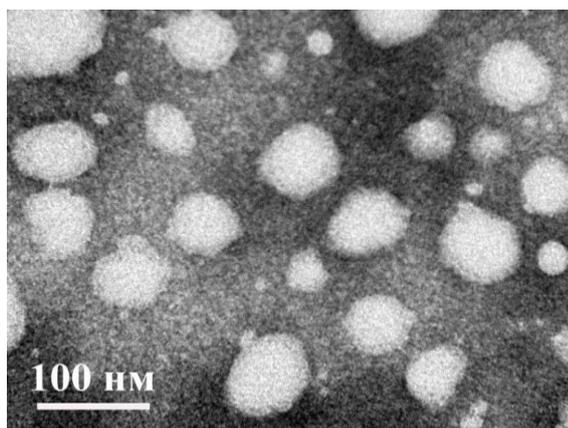


Рис. 3.17. Микрофотография наноэмульсии, стабилизированной смесью Tween 80 и Span 80. Исходная доля дисперсной фазы 40 об.%, после разбавления – 4 об.%.

Исследованные наноэмульсии были стабилизированы неионогенными ПАВ, значения ζ -потенциала капель дисперсной фазы были очень низкими (таблица 3.2).

Таблица 3.2

Значения ζ -потенциала капель дисперсной фазы в наноэмульсиях

ПАВ	Brij 30	Tween 80 / Span 80
ζ -потенциал, мВ	-4 ± 1	-2 ± 1

Так как ζ -потенциал капель дисперсной фазы не превышал нескольких единиц милливольт, то в таких наноэмульсиях может протекать коагуляция.

Дисперсная фаза наноэмульсий состояла из углеводородного масла. Растворимость углеводородного масла в водной дисперсионной среде наноэмульсий низкая, но отличается от нулевой. Поэтому в таких дисперсных системах может протекать остwaldово созревание.

Коалесценция капель дисперсной фазы также должна быть учтена при рассмотрении процессов, приводящих к расслаиванию данных наноэмульсий.

3.2.3. Определение скорости оствальдова созревания в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 или Tween 80 и Span 80

По литературным данным [45], если доля дисперсной фазы находится в диапазоне до 5 об.%, то скорость оствальдова созревания практически не зависит от концентрации дисперсной фазы.

Для того чтобы определить значения скоростей оствальдова созревания в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 + Span 80, наноэмульсии с долей дисперсной фазы 25 об.% разбавляли 0,17 М водным раствором NaCl до концентраций дисперсной фазы от 1 до 5 об.%. Затем проводили изучение изменения размеров капель дисперсной фазы от времени.

Как показано на рис. 3.18, на распределениях капель по размерам в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80, имелся только один максимум, что косвенно свидетельствует об отсутствии коагуляции. С течением времени положение максимума сдвигалось в область больших значений. Аналогичные гистограммы были получены и для наноэмульсий, стабилизированных Brij 30.

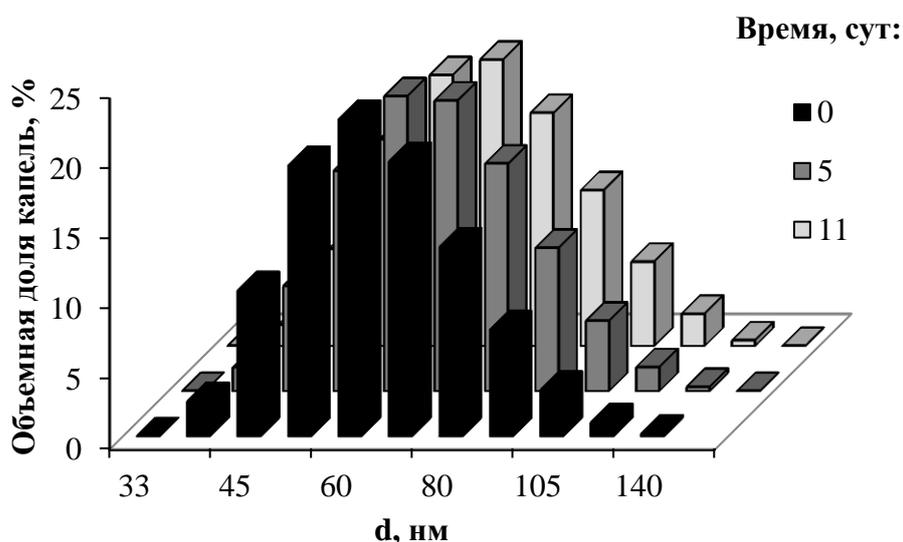


Рис. 3.18. Распределения капель дисперсной фазы по размерам в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80 через 0, 5 и 11 сут после получения. Концентрация дисперсной фазы – 4 об.%

Зависимости куба среднего радиуса каплей от времени имели линейный характер в интервале от 0 до 5-7 сут для наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, и от 0 до 7-11 сут для наноэмульсий, стабилизированных смесью Tween 80 и Span 80. На рис. 3.19 представлены зависимости радиуса в кубе от времени.

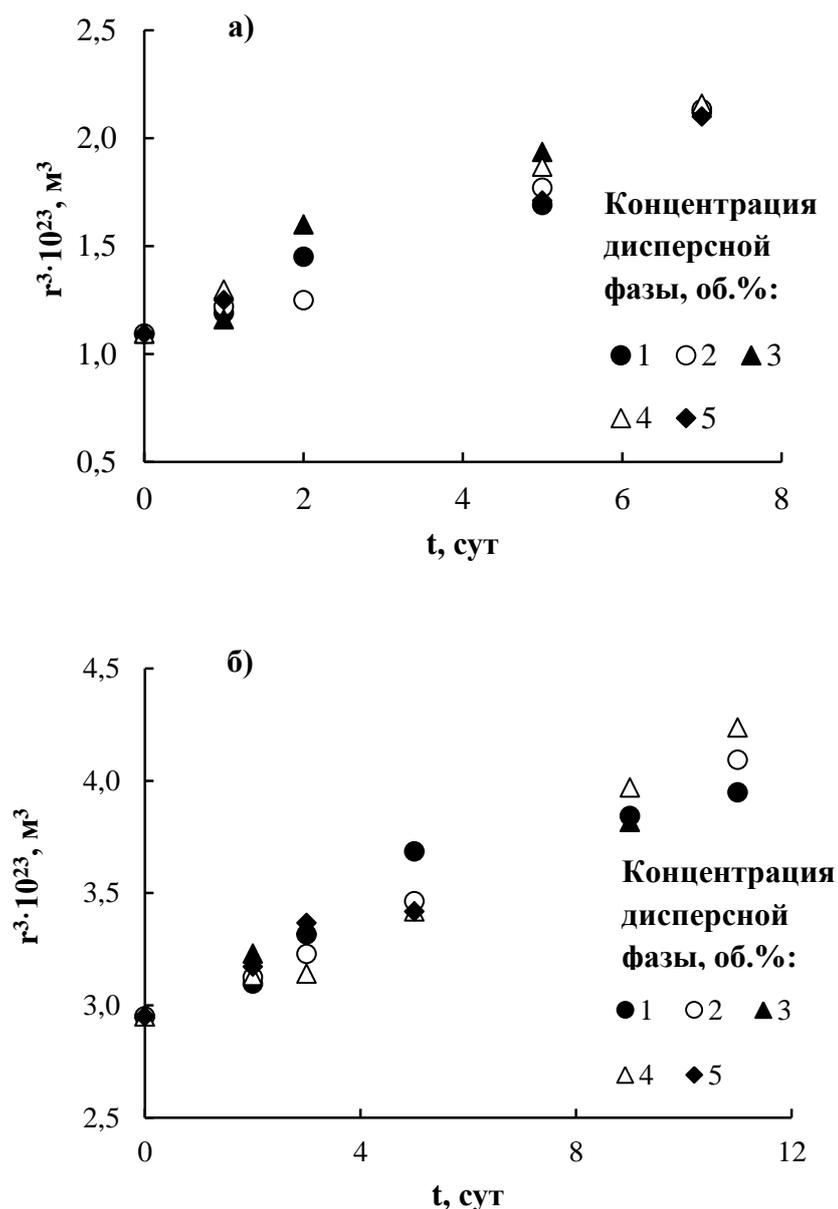


Рис. 3.19. Зависимости радиуса в кубе каплей дисперсной фазы от времени в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 (а) и Tween 80 + Span 80 (б)

Зависимости радиуса в кубе от времени для наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, были линейными от 0 до 5-7 сут. Для наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 + Span 80, зависимости были линейные в течение 7-11 сут. По зависимостям радиуса в кубе от времени были рассчитаны значения скоростей на стационарной стадии оствальдова созревания (рис. 3.20).

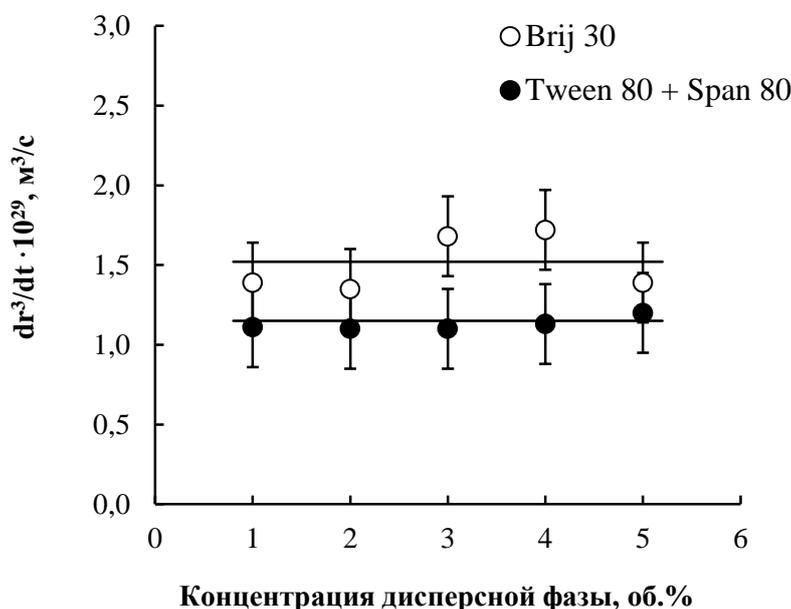


Рис. 3.20. Зависимости скорости на стационарной стадии оствальдова созревания от концентрации дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 и Tween 80 + Span 80

Скорость оствальдова созревания была практически постоянной при увеличении доли дисперсной фазы от 1 до 5 об.%, изменения не превышали погрешности определения. Значения dr^3/dt не зависели от доли дисперсной фазы, поэтому коагуляция не вносила вклад в укрупнение капель. Зависимости $1/r^2$ от времени не были линейными, следовательно, коалесценция капель не преобладала.

Таким образом, основным процессом, приводящим к укрупнению капель в наноэмульсиях с концентрацией дисперсной фазы от 1 до 5 об.% являлось остальдово созревание. Значения скорости остальдова созревания в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 и Tween 80 + Span 80, были равны $(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-29} \text{ м}^3/\text{с}$ и $(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-29} \text{ м}^3/\text{с}$, соответственно.

3.2.4. Определение роли процессов коагуляции, коалесценции и остальдова созревания в расслаивании наноэмульсий, стабилизированных Brij 30

При высоких концентрациях дисперсной фазы капли находятся на более близком расстоянии друг от друга, чем в менее концентрированных наноэмульсиях. Возрастает сила притяжения капель, повышается вероятность их соударений при броуновском движении.

Было проведено исследование наноэмульсий, стабилизированных Brij 30, с долей дисперсной фазы 17-35 об.%.

Зависимости куба радиуса от времени являлись линейными только в первые 1-2 сут. По этим значениям были рассчитаны величины dr^3/dt при разных концентрациях дисперсной фазы (рис. 3.21).

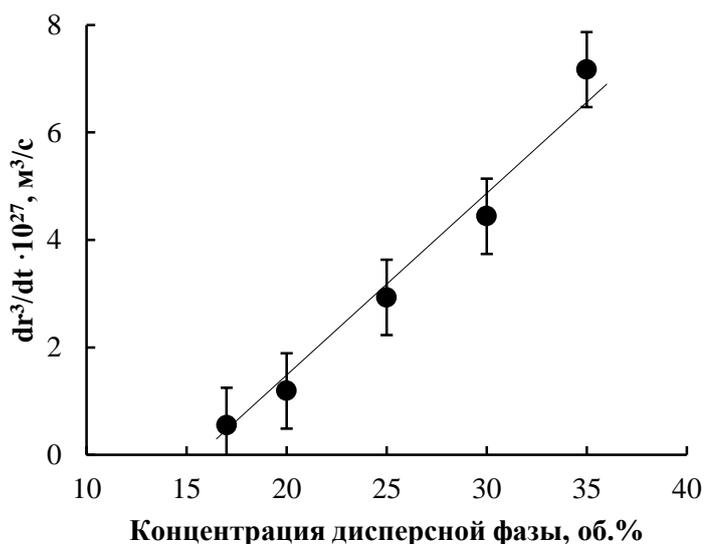


Рис. 3.21. Зависимости dr^3/dt концентрации дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30

Полученные величины dr^3/dt находились в диапазоне $(0,5 \div 7,2) \cdot 10^{-27}$ м³/с, что согласуется с литературными данными [24, 26, 27]. Однако эти значения не могут характеризовать скорость остwaldова созревания, т. к. они на два порядка превышены по сравнению со значениями dr^3/dt в наноэмульсиях с концентрацией дисперсной фазы 1-5 об.%. В течение 1-2 сут зависимость dr^3/dt от концентрации дисперсной фазы линейно возрастала (рис. 3.21). По-видимому, преобладающим процессом, приводящим к укрупнению капель, являлась коагуляция.

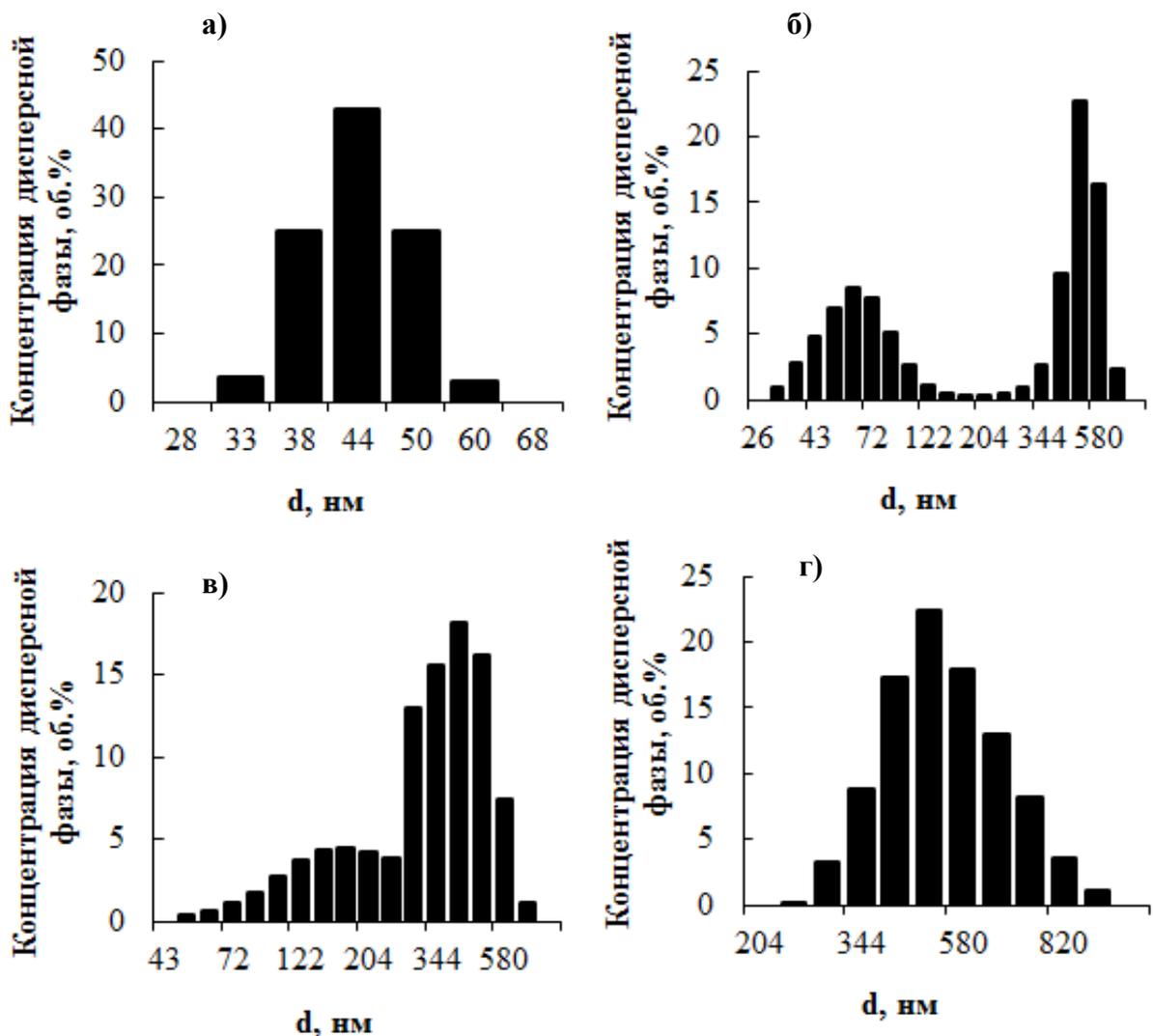


Рис. 3.22. Распределения капель по размерам в наноэмульсиях, стабилизированных Vrij 30, через 0 ч (а), 2 ч (б), 1 сут (в) и 3 сут (г) после получения. Концентрация дисперсной фазы 35 об.%

На распределениях капель по размерам в наноэмульсиях сразу после получения присутствовал только один максимум при 44 нм (рис. 3.22а), соответствовавший одиночным каплям.

Через 1 час на гистограмме появился второй пик, который соответствовал образованию флокул. Спустя 3 ч положение второго пика приходилось на 450 нм (рис. 3.22б). Через 1 сут максимумы на гистограмме сближались, размер капель, который соответствовал первому максимуму возрастал (рис. 3.22в). После 3 сут на распределении капель по размерам присутствовал только один пик (рис. 3.22г).

Изучение зависимостей $1/r^2$ от времени (рис. 3.23) показали, что в первые 1-7 сут изменения значений $1/r^2$ от времени были линейными. Для наноэмульсий с концентрациями дисперсной фазы 17, 20 и 23 об.%, значения практически совпадали. Это свидетельствовало о том, что в данном интервале преимущественный вклад в рост капель вносила коалесценция. Скорость разрыва прослойки между каплями в этих наноэмульсиях была одинаковой, т. к. наблюдался одинаковый наклон прямых участков.

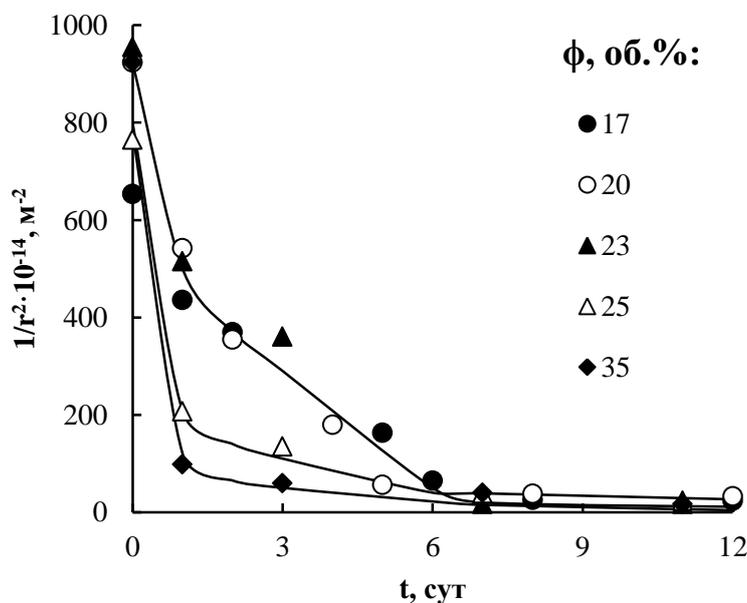


Рис. 3.23. Зависимости $1/r^2$ от времени в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, с разной концентрацией дисперсной фазы

При концентрациях дисперсной фазы от 25 об.% линейные участки становились менее выраженными, и угол наклона уменьшался. Возможно, это связано с тем, что в течение первых суток произошло образование более крупных флокул.

Таким образом, в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, с концентрацией дисперсной фазы от 17 до 35 об.% преобладающими процессами, приводящими к укрупнению капель дисперсной фазы, в течение 1-2 сут являлась коагуляция, от 2 до 7 сут – коалесценция.

3.2.5. Определение вклада процессов коагуляции, коалесценции и оствальдова созревания в уменьшении дисперсности наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80

Наноэмульсии, стабилизированные Tween 80 + Span 80, являлись более устойчивыми по сравнению с наноэмульсиями с Brij 30.

В наноэмульсиях с концентрацией дисперсной фазы 25-45 об.% зависимости куба радиуса от времени были линейны в течение 15-17 сут. По этим зависимостям рассчитывались величины dr^3/dt при разных концентрациях дисперсной фазы (рис. 3.24).

Полученные значения dr^3/dt были в несколько раз больше, чем величины, полученные для наноэмульсий с концентрацией дисперсной фазы 1-5 об.%. Эти значения не так велики, как для наноэмульсий с Brij 30. Значения dr^3/dt находились в интервале $(7,6 \div 24,0) \cdot 10^{-27}$ м³/с, следовательно, преобладающим процессом в течение 1-7 сут являлось оствальдово созревание. Увеличение скорости оствальдова созревания с ростом концентрации дисперсной фазы было обусловлено влиянием локального окружения капель на процесс диффузии вещества дисперсной фазы в дисперсионной среде.

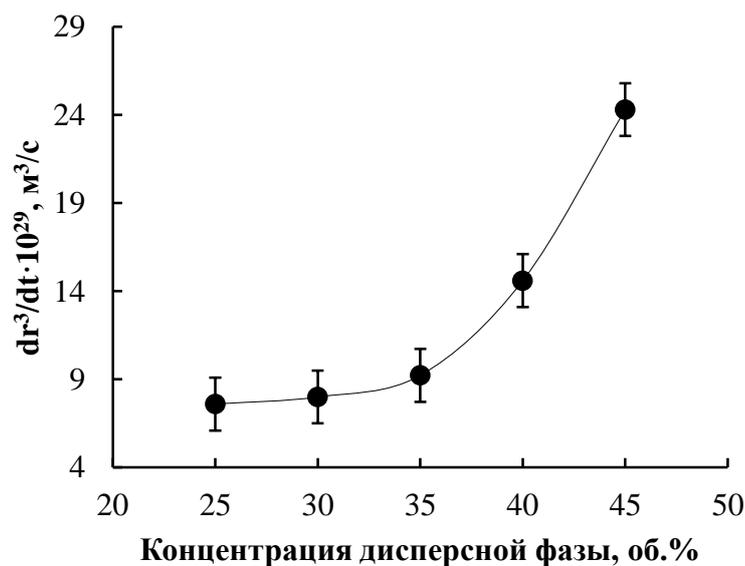


Рис. 3.24. Зависимость изменения dr^3/dt от концентрации дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80

Зависимости $1/r^2$ от времени не являлись линейными на всем протяжении (рис. 3.25), что свидетельствовало о незначительном вкладе коалесценции в процесс укрупнения капель дисперсной фазы.

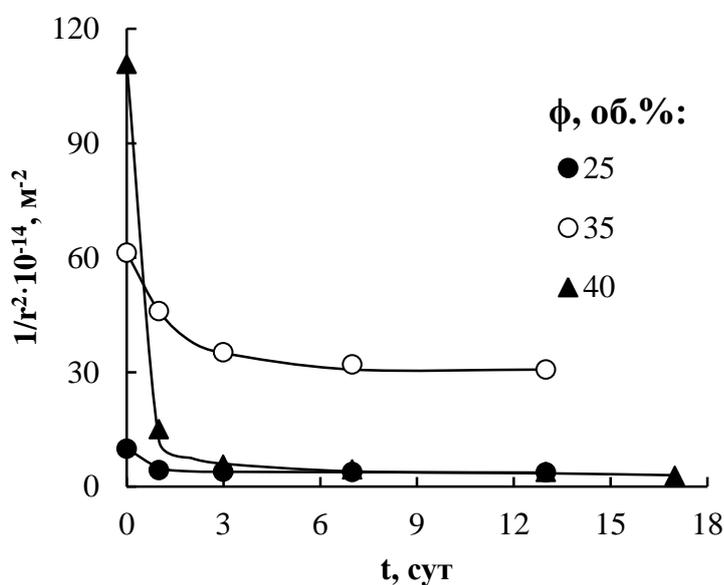


Рис. 3.25. Зависимости $1/r^2$ от времени в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80, с разной концентрацией дисперсной фазы

На распределениях капель по размерам в начальный момент времени присутствовал только один максимум, соответствующий одиночным каплям с диаметром 18 нм (рис. 3.26а). В течение 17 сут этот пик оставался на гистограммах, но его положение сдвигалось в область более высоких размеров - до ~100 нм за 17 сут. Через 2 ч на гистограммах появлялся второй пик, небольшой по высоте, который был обусловлен образованием флокул диаметром 165 нм (рис. 3.26б). С течением времени высота второго максимума увеличивалась, и наблюдалось сближение максимумов (рис. 3.26г).

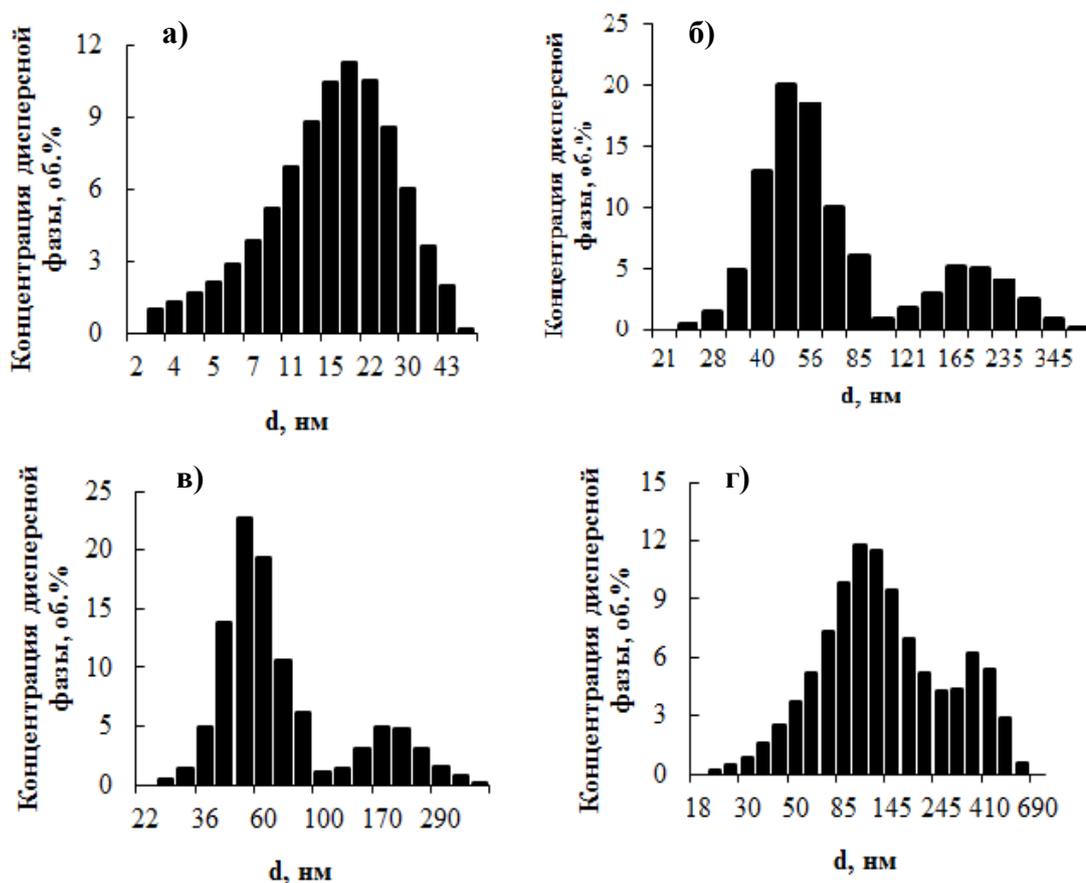


Рис. 3.26. Распределения капель по размерам в наноэмульсиях с концентрацией дисперсной фазы 40 об.%, стабилизированных Tween 80 + Span 80, через 0 ч (а), 2 ч (б), 7 сут (в) и 17 сут (г) после получения

Таким образом, в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80, рост капель в течение 17 сут был обусловлен остwaldовым созреванием и коагуляцией.

3.2.6. Анализ данных о процессах, протекающих в наноэмульсиях с низкой и высокой концентрацией дисперсной фазы

В наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 и смесью Tween 80 + Span 80, с низкой концентрацией дисперсной фазы от 1 до 5 об.% основным процессом, приводящим к укрупнению капель, являлось остwaldово созревание. Скорость остwaldова созревания в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 + Span 80 была равна $(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-29}$ м³/с. В наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, скорость остwaldова созревания была немного выше, чем в наноэмульсиях с Tween 80 + Span 80, и составляла $(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-29}$ м³/с.

При высокой концентрации дисперсной фазы от 17 до 35 об.% в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, в первые 1-2 сут преобладала коагуляция, в последующие 2-7 сут - коалесценция.

В наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 + Span 80, с концентрацией дисперсной фазы от 20 до 45 об.%, основной вклад в уменьшение дисперсности вносило остwaldово созревание, а на более поздних стадиях существования - коагуляция.

В таблице 3.3 приведены процессы, приводящие к дестабилизации исследованных наноэмульсий, в зависимости от вклада процессов в расслаивание таких дисперсных систем. Процессы сравнивались именно по их роли, а не по скоростям их протекания.

Таким образом, наноэмульсии, стабилизированные Brij 30, являются крайне неустойчивыми, в них протекает коалесценция капель.

Вклад процессов в расслаивание наноэмульсий, стабилизированных Brij 30 или смесью Tween 80 и Span 80

Процесс \ ПАВ	Brij 30	Tween 80 и Span 80
Коагуляция	+	+
Коалесценция	++	-
Оствальдово созревание	-	++

Основным процессом, приводящим к укрупнению капель в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 и Span 80, является оствальдово созревание. Для снижения скорости оствальдова созревания можно в состав дисперсной фазы добавлять второй компонент, который менее растворим в дисперсионной среде, чем основной компонент. Также можно модифицировать межфазный слой на границе масло-вода, например, создать твердую оболочку на поверхности капель.

3.3. Наноэмульсии «масло-в-воде» с твердообразным адсорбционным слоем на поверхности капель дисперсной фазы

Повысить устойчивость наноэмульсий к оствальдову созреванию, коагуляции и коалесценции можно за счет создания твердообразной оболочки на поверхности капель дисперсной фазы. В работе для увеличения устойчивости была предпринята попытка создания твердообразного адсорбционного слоя с использованием ПАВ, которые при температуре 20 °С находятся в твердом агрегатном состоянии.

В данном разделе исследовались наноэмульсии, стабилизированные различными смесями: Solutol HS 15 + Span 60, Tween 60 + Span 80, Tween 80 + Span 60, Tween 60 + Span 60, Tween 80 + Tween 60 + Span 80, Tween 80 +

Tween 60 + Span 60. Наноэмульсии были получены низкоэнергетическим методом – методом температурной инверсии фаз.

3.3.1. Определение температуры плавления ПАВ и их смесей, использованных для стабилизации наноэмульсий

Температуры плавления отдельных ПАВ – Solutol HS 15, Tween 60, Span 60 и смесей ПАВ определяли методом ДСК-ТГА. В качестве примера на рис. 3.27, 3.28 представлены зависимости тепловых потоков от температуры для индивидуального ПАВ – Span 60 и для смеси ПАВ – Tween 60 + Span 60.

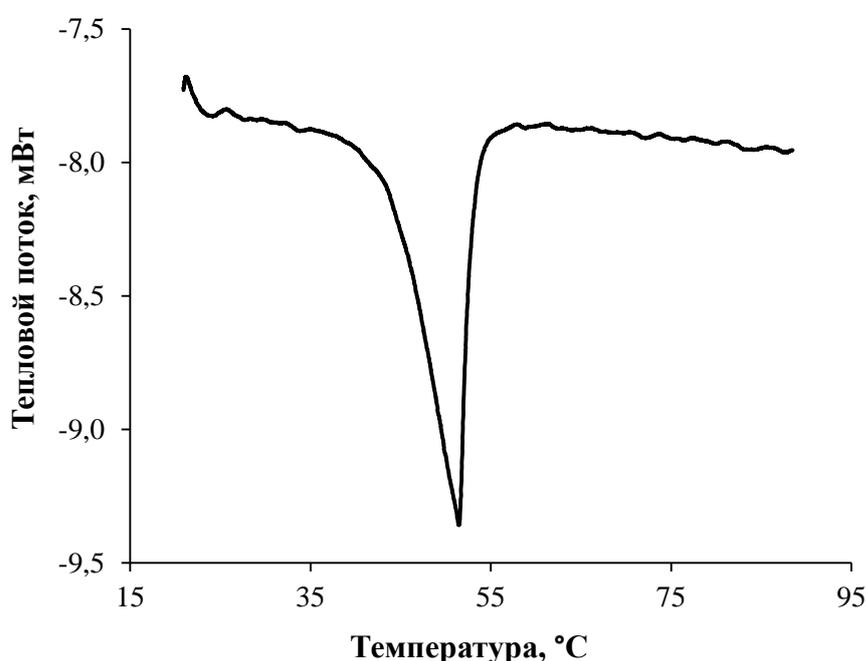


Рис. 3.27. Зависимость теплового потока от температуры для Span 60

На зависимости теплового потока от температуры для Span 60 (рис. 3.27) присутствовал один пик при температуре 52 °C, соответствовавший температуре плавления индивидуального ПАВ. Определенные аналогичным образом температуры плавления Tween 60 и Solutol HS 15 составили 24 и 36 °C, соответственно (таблица 3.4).

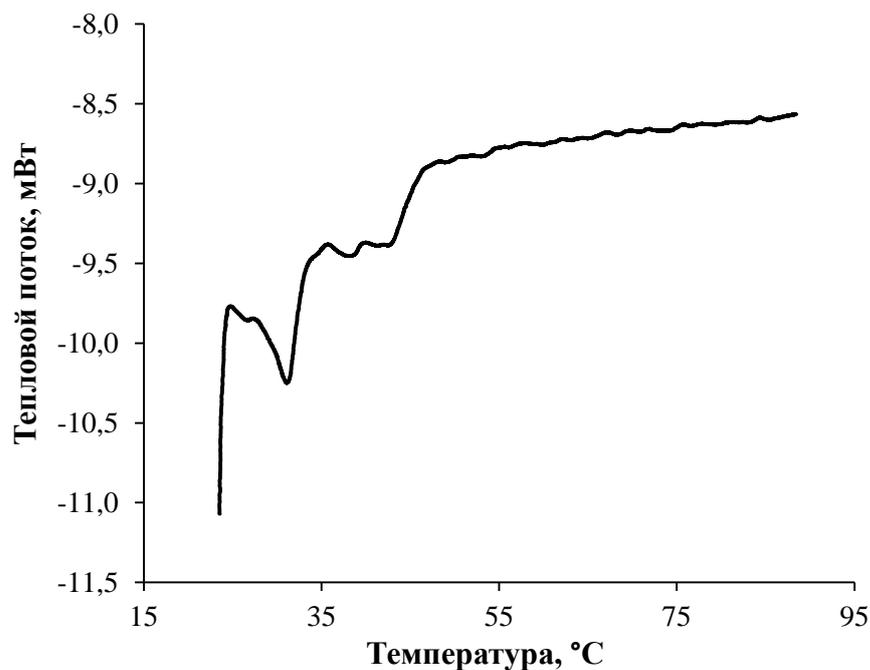


Рис. 3.28. Зависимость теплового потока от температуры смеси Tween 60 и Span 60. Мольное соотношение Tween 60 / Span 60 – 0,76

На рис. 3.28 показана зависимость теплового потока от температуры смеси Tween 60 + Span 60 в соотношении Tween 60 / Span 60 – 0,76. На этой зависимости отсутствовали минимумы при 24 и 52 °C, характерные для индивидуальных ПАВ. На кривой имелось несколько пиков. Наиболее глубокий минимум при температуре 31 °C, соответствовавший смеси ПАВ Tween 60 и Span 60, по-видимому свидетельствовал об образовании слабо связанных агрегатов молекул ПАВ.

Появление более мелких пиков при температурах вблизи 40 °C скорее всего обусловлено недостаточно равномерным перемешиванием смеси.

Температуры плавления ПАВ, использованных для стабилизации
наноэмульсий

ПАВ	Температура плавления, °С
Solutol HS 15	36
Tween 60	24
Span 60	52

Таким образом, температура плавления ПАВ - Solutol HS 15, Tween 60 и Span 60 больше 20 °С. Следовательно, такие ПАВ могут быть использованы для создания твердообразного адсорбционного слоя на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях.

3.3.2. Наноэмульсии, стабилизированные смесью Solutol HS 15 и Span 60

Для использования наноэмульсий в качестве систем адресной доставки лекарственных веществ необходимо, чтобы компоненты эмульсий были биологически совместимыми [130]. В фармацевтической промышленности при производстве препаратов, содержащих биологически-активные вещества, используют неионогенное ПАВ - Solutol HS 15. Span 60 разрешен для применения в пищевой промышленности и медицине. Solutol HS 15 и Span 60 при 20 °С являются твердыми ПАВ, поэтому такие ПАВ могут быть использованы для создания твердообразной оболочки на поверхности капель дисперсной фазы.

В работе для стабилизации прямых наноэмульсий использовалась смесь ПАВ - Solutol HS 15 + Span 60. Solutol HS 15 стабилизирует прямые эмульсии (ГЛБ ~ 14-16). Span 60 необходимо использовать для стабилизации обратной эмульсии, из которой при охлаждении образуется прямая наноэмульсия.

3.3.2.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных смесью Solutol HS 15 и Span 60

С целью определения температуры, при которой обратная эмульсия переходит в прямую, были изучены электропроводности системы от температуры. Исследовались эмульсии, состоящие из 3 и 9 об.% углеводородного масла, 7 и 21 об. % Solutol HS 15 + Span 60, водного раствора NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60 было равно 0,45. Методика эксперимента заключалась в следующем: смесь из углеводородного масла и ПАВ помещали в термостат и нагревали до температуры 65 °С. В нагретую смесь добавляли 0,17 М водный раствор NaCl с помощью перистальтического насоса ($v = 2,5$ мл/мин) и одновременно перемешивали при 1000 об/мин. После добавления водной фазы эмульсию охлаждали и измеряли ее электропроводность с шагом 2 °С.

При температуре 66 °С значение электропроводности для системы с 21 об.% ПАВ и 9 об.% дисперсной фазы составило 1 мкСм/см. Значение электропроводности было низким, т. к. эмульсия была обратной (рис. 3.29). Снижение температуры ниже 45 °С приводило к резкому росту значений электропроводности системы, что свидетельствовало об образовании прямой эмульсии. При уменьшении температуры ниже 39 °С электропроводность снижалась.

Также было проведено исследование инверсии фаз в системе, содержащей 9 об.% углеводородного масла, 21 об.% Solutol HS 15 + Span 60 и 70 об.% водного раствора NaCl (0,17 М) при нагревании (рис. 3.30).

При увеличении температуры от 30 до 33 °С электропроводность системы практически не изменялась и была равна 880 мкСм/см (рис. 3.30). Рост температуры от 33 до 49 °С приводил к уменьшению электропроводности до 0,3 мкСм/см и образованию обратной эмульсии.

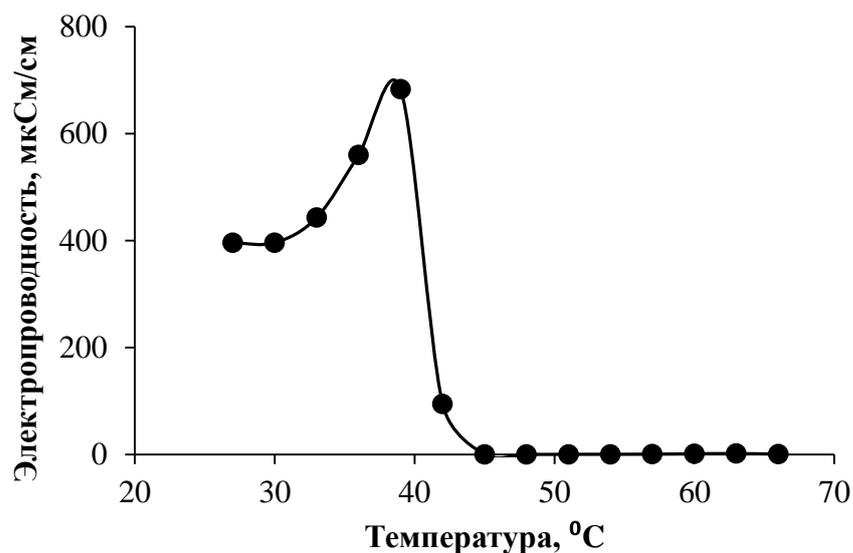


Рис. 3.29. Зависимость электропроводности эмульсии, стабилизированной Solutol HS 15 + Span 60, от температуры (при охлаждении). Концентрация углеводородного масла – 9 об.%, суммарная концентрация ПАВ – 21 об.%

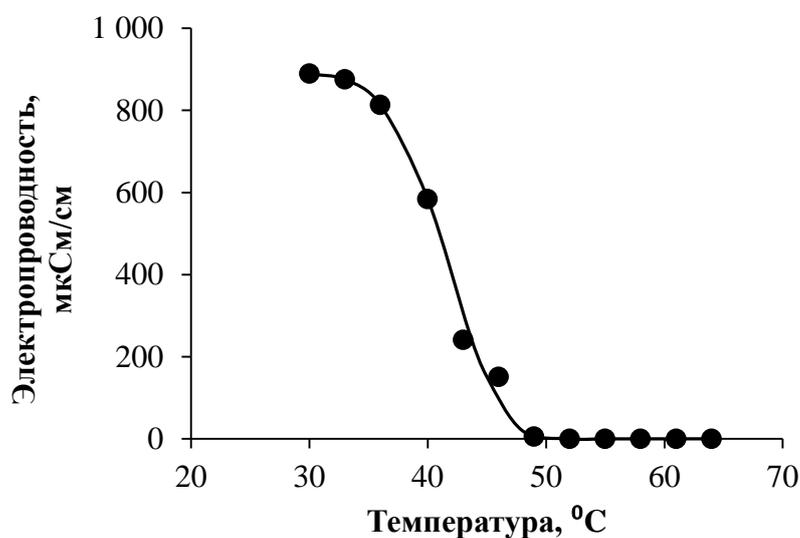


Рис. 3.30. Зависимость электропроводности эмульсии, стабилизированной Solutol HS 15 + Span 60, от температуры (при нагревании). Концентрация углеводородного масла – 9 об.%, суммарная концентрация ПАВ – 21 об.%

Таким образом, инверсия фаз в эмульсиях с Solutol HS 15 и Span 60 происходила в интервале температур от 33 до 49 °С, поэтому в дальнейшей

работе для получения таких наноэмульсий смесь компонентов нагревали до температуры, которая на ~ 25 °С выше температуры начала инверсии фаз, т. е. до 70 °С.

3.3.2.2. Влияние интенсивности охлаждения и перемешивания на дисперсность наноэмульсий

В литературе можно встретить данные о сверхнизких межфазных натяжениях на границе вода-масло при температурах, которые близки к температуре инверсии фаз, что приводит к образованию малых капель, однако увеличивает интенсивность их коалесценции. Следовательно, необходимо быстрое охлаждение системы для получения наноэмульсий с узким распределением капель дисперсной фазы по размерам.

В работе было изучено влияние быстрого и медленного охлаждения на дисперсность наноэмульсий. Все компоненты эмульсии нагревались при 70 °С - происходило образование обратной эмульсии. Полученную обратную эмульсию при быстром охлаждении помещали в ледяную баню, при медленном охлаждении оставляли на воздухе при комнатной температуре.

Полученные результаты показали, что при концентрации дисперсной фазы более 10 об.% резко возрастала доля крупных капель размером более 1 мкм. Это обусловлено тем, что для получения таких наноэмульсий требуются большие концентрации ПАВ. Увеличение концентрации Solutol HS 15 и Span 60 в эмульсиях приводило к значительному возрастанию вязкости, что затрудняло эмульгирование при инверсии фаз и приводило к резкому уменьшению дисперсности. Поэтому в дальнейшем исследовались наноэмульсии, стабилизированные Solutol HS 15 и Span 60, с долей дисперсной фазы до 10 об.%.

Распределения капель дисперсной фазы по размерам в наноэмульсиях, содержащих 3 об.% углеводородного масла, 7 об.% Solutol HS 15 + Span 60 и

90 об.% водного раствора NaCl (0,17 M) при медленном и быстром охлаждении приведены на гистограммах (рис. 3.31).

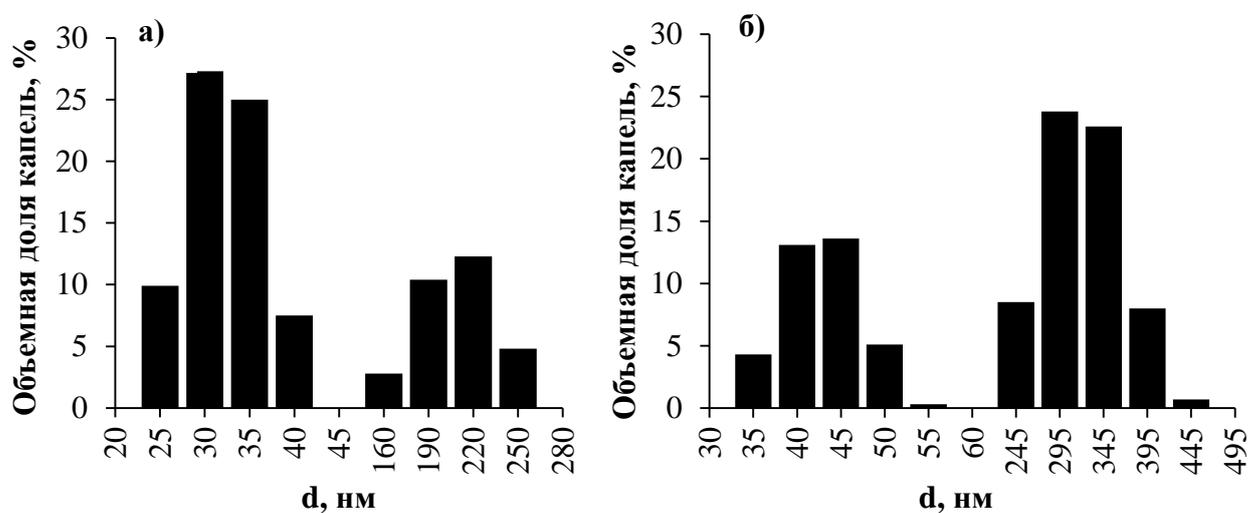


Рис. 3.31. Распределение капель дисперсной фазы по размерам в наноэмульсиях, образующихся:

а) при медленном охлаждении, б) при быстром охлаждении

Как видно из рис. 3.31 на гистограммах присутствовало два максимума. Первый максимум соответствовал диаметру капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, полученных медленным и быстрым охлаждением. Диаметры капель дисперсной фазы составляли 30 ± 3 нм (рис. 3.31а) и 45 ± 3 нм (рис. 3.31б), соответственно. Второй максимум свидетельствовал о флокулах нанокapе́ль. От медленного к быстрому охлаждению объемная доля флокул возрастала от 13 до 24 об.%. Можно предположить, что при высоких температурах растворимость Solutol HS 15 в дисперсионной среде снижалась, и ПАВ частично растворялось в углеводородном масле. Уменьшение температуры до температуры инверсии фаз приводило к диффузии молекул Solutol HS 15 в водную фазу, поэтому происходило спонтанное эмульгирование. Однако диффузия ПАВ протекала не полностью при быстром охлаждении эмульсий, т. к. твердообразный адсорбционный слой на

поверхности капле дисперсной фазы образовывался быстро. Вследствие этого возрастала объемная доля флокул. Следовательно, для получения наноэмульсий, стабилизированных смесью Solutol HS 15 + Span 60 методом температурной инверсии фаз необходимо медленно охлаждать систему на втором этапе.

3.3.2.3. Влияние суммарной концентрации ПАВ на дисперсность наноэмульсий

В работе было изучено влияние суммарной концентрации Solutol HS 15 + Span 60 на размер капле дисперсной фазы для определения необходимого количества ПАВ в наноэмульсии.

Исследованные наноэмульсии содержали 3 об.% углеводородного масла, 3, 5, 7 об.% Solutol HS 15 + Span 60, остальное - водный раствор NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60 - 0,45. Компоненты эмульсий нагревались при 70 °С, интенсивность перемешивания при добавлении 0,17 М водного раствора NaCl составляла 1000 об/мин. При охлаждении наноэмульсии не перемешивались. Распределения капле по размерам при разных суммарных концентрациях ПАВ приведены на гистограммах (рис. 3.32).

На всех гистограммах присутствуют два пика. Первый максимум соответствовал диаметру капле дисперсной фазы, второй - флокулам нанокapель. При увеличении концентрации ПАВ положение второго пика смещалось в область меньших значений, следовательно, размер крупных флокул капле дисперсной фазы уменьшался. Величина второго пика также уменьшалась, что свидетельствует о снижении доли флокул в эмульсии.

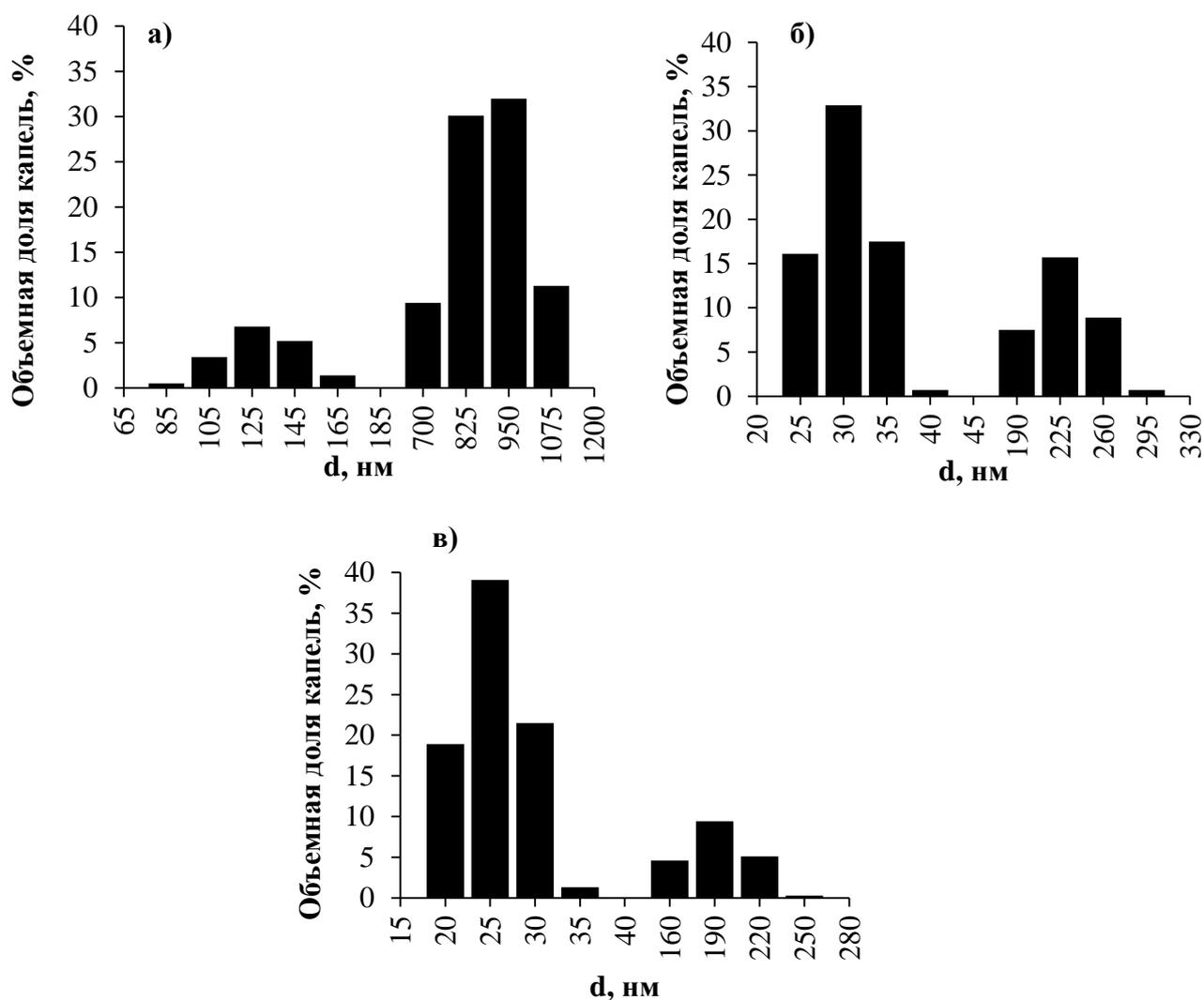


Рис. 3.32. Распределения капель дисперсной фазы по размерам в наноземульсиях, содержащих Solutol HS 15 + Span 60: а) 3 об.%, б) 5 об.%, в) 7 об.%

Зависимость диаметра капель дисперсной фазы от суммарной концентрации Solutol HS 15 + Span 60 представлена на рис. 3.33.

При 3-4 об.% суммарной концентрации Solutol HS 15 + Span 60 ПАВ в системе было недостаточно и наблюдалось укрупнение капель дисперсной фазы до 125 нм. С увеличением суммарной концентрации ПАВ выше 4 об.% размер нанокapель практически не изменялся и был равен 25-30 нм.

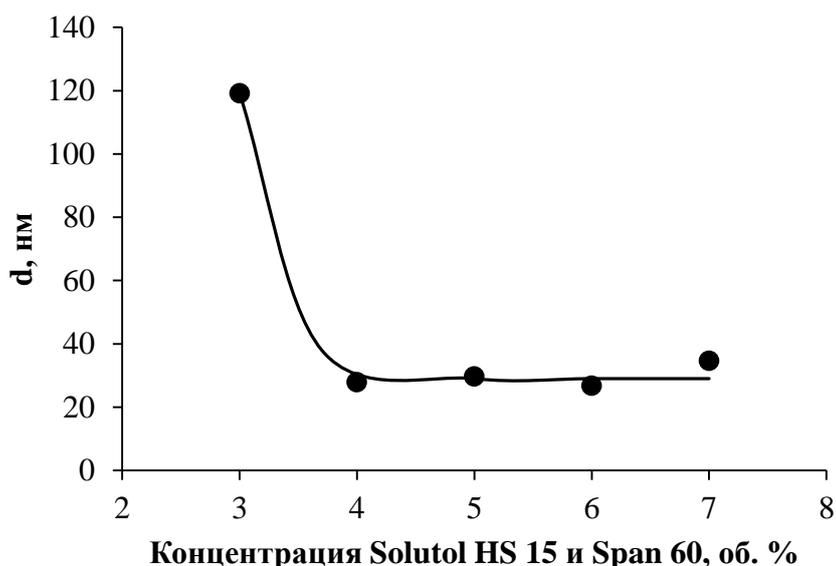


Рис. 3.33. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы от суммарной концентрации Solutol HS 15 + Span 60. Концентрация дисперсной фазы 3 об.%

Для определения наличия жидкокристаллических структур в дисперсионной среде таких наноэмульсий было проведено исследование данных дисперсных систем методом поляризационной оптической микроскопии. Исследовались системы, содержащие 3 об.% углеводородного масла, 3, 5, 7 об.% Solutol HS 15 + Span 60 и водный раствор NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60 - 0,45.

При концентрации Solutol HS 15 + Span 60 7 об.% дисперсионная среда представляла жидкокристаллическую фазу (рис. 3.34а). При 5 об.% ПАВ, жидкокристаллическая структура была выражена в меньшей степени (рис. 3.34б). При суммарной концентрации ПАВ 3 об.% жидкокристаллической фазы в дисперсионной среде наноэмульсий не было.

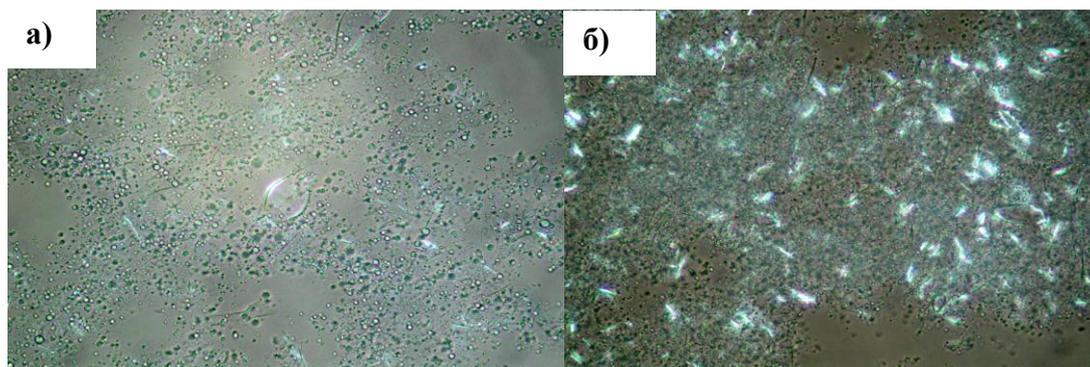


Рис. 3.34. Микрофотографии жидкокристаллических структур в наноэмульсиях, полученные с помощью поляризационного оптического микроскопа и содержащие Solutol HS 15 + Span 60: а) 5 об.% и б) 7 об.% (x1600)

Таким образом, в наноэмульсиях, стабилизированных Solutol HS 15 + Span 60, с суммарной концентрацией данных ПАВ 7 об.% происходило образование жидкокристаллической фазы в дисперсионной среде, следовательно, скорость движения капель дисперсной фазы снижалась, поэтому уменьшалась скорость их агрегации и объемная доля флокул в таких наноэмульсиях была ниже.

3.3.2.4. Влияние мольного соотношения ПАВ на дисперсность наноэмульсий

Для определения соотношения между Solutol HS 15 и Span 60, при котором осуществляется стабилизация как обратной, так и прямой эмульсий, в работе было исследовано влияние мольного соотношения Solutol HS 15 / Span 60 на диаметр капель дисперсной фазы. Изучались эмульсии, состоящие из 3 об.% углеводородного масла, 5 об.% Solutol HS 15 + Span 60 и 92 об.% водного раствора NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60 находилось в интервале от 0,18 до 2,69.

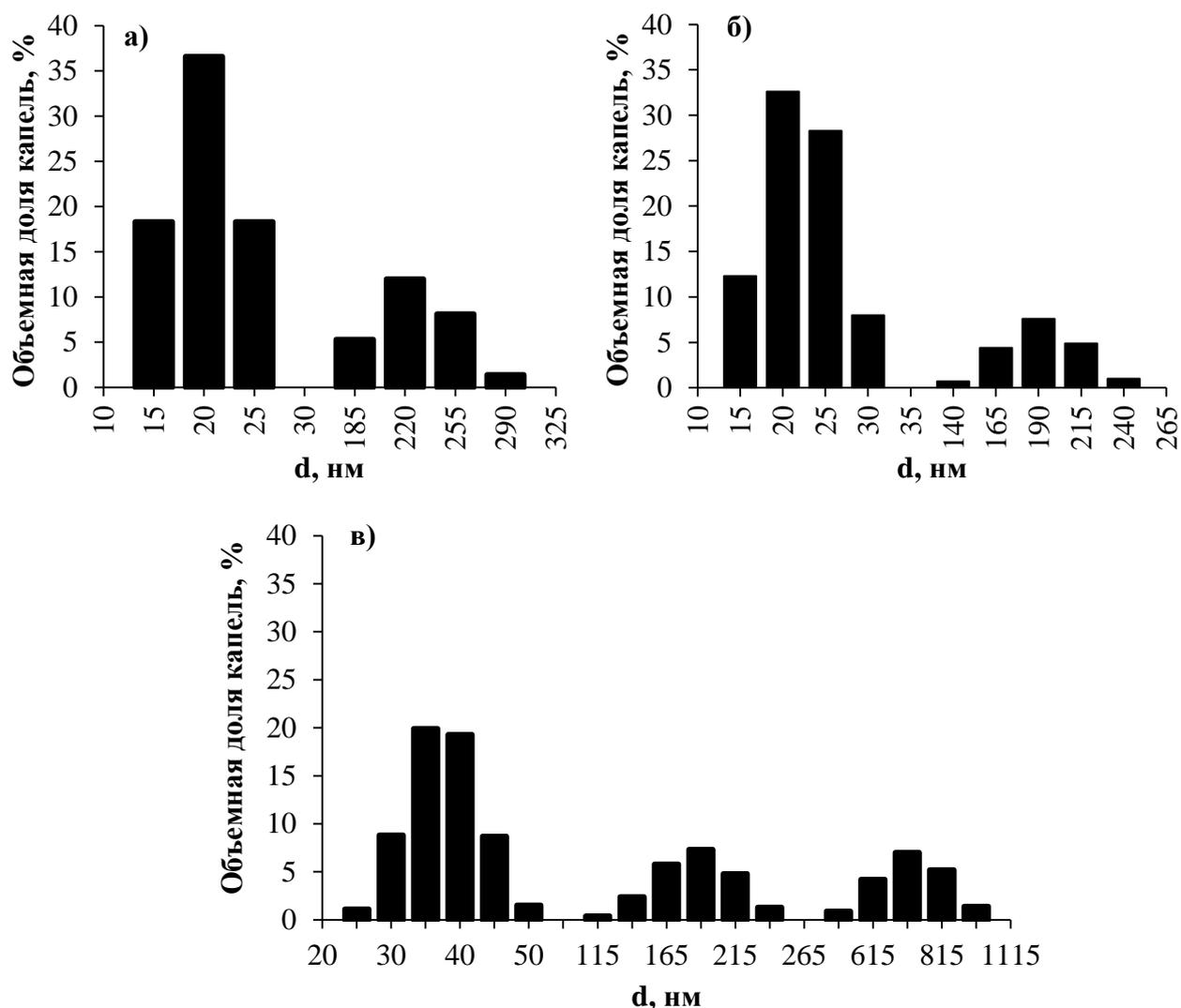


Рис. 3.35. Распределения капель дисперсной фазы по размерам в наноэмульсиях, стабилизированных Solutol HS 15 + Span 60.

Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60: а) 0,25, б) 0,45, в) 1,12

С увеличением мольного соотношения Solutol HS 15 / Span 60 от 0,25 до 1,12 возрастал диаметр капель дисперсной фазы от 20 ± 5 нм до 35 ± 5 нм и уменьшалась объемная доля капель от 37 до 20 об.% (рис. 3.35). Можно предположить, что количество Span 60 в смеси недостаточно для стабилизации обратной эмульсии, поэтому происходило формирование капель дисперсной фазы прямых эмульсий крупного размера. С ростом мольного соотношения ПАВ до 1,12 на распределении капель дисперсной фазы по размерам

(рис. 3.35в) наблюдался третий максимум, наличие которого обусловлено формированием более крупных флокул.

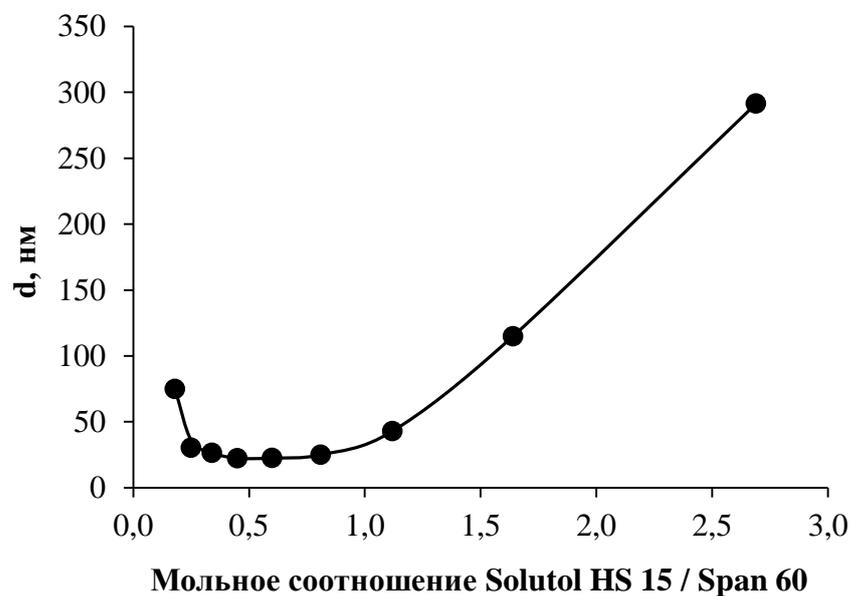


Рис. 3.36. Зависимость диаметра капель дисперсной фазы от мольного соотношения Solutol HS 15 / Span 60

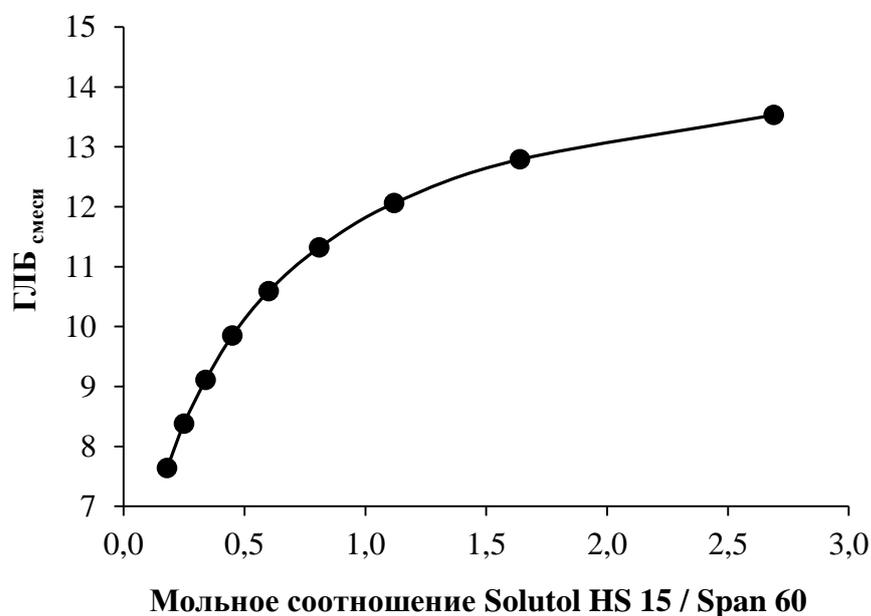


Рис. 3.37. Зависимость ГЛБ смеси Solutol HS 15 и Span 60 от мольного соотношения ПАВ

На рис. 3.36 представлена зависимость среднего диаметра одиночных капель от мольного соотношения Solutol HS 15 / Span 60. С увеличением мольного соотношения ПАВ от 0,18 до 0,81 размер капель уменьшался с 75 до 23 нм. Рост соотношения Solutol HS 15 / Span 60 до 2,69 приводил к увеличению размера капель дисперсной фазы.

Диапазон мольных соотношений ПАВ, при котором происходило образование прямых наноэмульсий, представлен на рис. 3.37. ГЛБ смеси ПАВ находился в интервале от 7,6 до 13,5. При мольном соотношении Solutol HS 15 / Span 60 - 0,45, величина ГЛБ смеси составила 9,85.

3.3.2.5. Устойчивость наноэмульсий, стабилизированных смесью Solutol HS 15 и Span 60

Для определения устойчивости прямых наноэмульсий, стабилизированных Solutol HS 15 + Span 60 исследовались системы, состоящие из 3 об.% углеводородного масла, 3, 7 об.% Solutol HS 15 + Span 60 и водного раствора NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Solutol HS 15 / Span 60 - 0,76.

Полученные данные показали линейные зависимости диаметра капель дисперсной фазы в течение 28-35 суток (рис. 3.38). В этот интервал времени размер капель дисперсной фазы для наноэмульсий, стабилизированных 3 и 7 об.% Solutol HS 15 + Span 60 не изменялся и составлял 93 и 25 нм, соответственно.

При суммарной концентрации Solutol HS 15 + Span 60 - 3 об.% диаметр капель дисперсной фазы составлял 92 нм. С увеличением концентрации ПАВ до 7 об.% диаметр капель уменьшался. Рост диаметра капель в наноэмульсиях не наблюдался, т. к. количество ПАВ в наноэмульсиях было достаточно для образования твердообразного адсорбционного слоя на поверхности капель, и для формирования в объеме дисперсионной среды жидкокристаллических структур. Следовательно, формировался прочный адсорбционный слой на

поверхности капле дисперсной фазы, несмотря на меньшую концентрацию ПАВ.

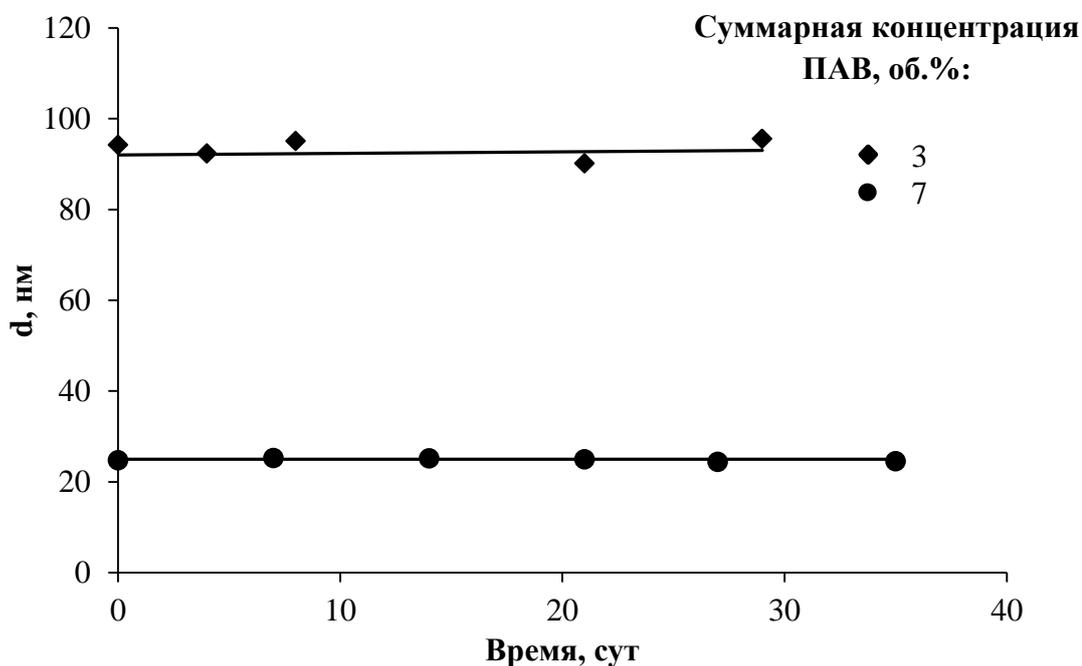


Рис. 3.38. Зависимости диаметра капле дисперсной фазы от времени существования наноэмульсий, стабилизированных Solutol HS 15 / Span 60.

Концентрация углеводородного масла – 3 об. %

Таким образом, были получены наноэмульсии с твердообразной оболочкой ПАВ - Solutol HS 15 + Span 60. Средний диаметр капле дисперсной фазы, равный 25 нм, не изменялся в течение 35 сут, однако доля дисперсной фазы не превышала 10 об.%, поэтому их использование для инкапсулирования лекарственных веществ нецелесообразно.

3.3.3. Наноэмульсии, стабилизированные смесями Tween 80, Tween 60, Span 80, Span 60 в различных комбинациях

Для стабилизации прямых наноэмульсий в работе использовались смеси из жидких и твердых при температуре 20 °С ПАВ. Tween 60 и Span 60 при 20 °С являются твердыми ПАВ, Tween 80 и Span 80 – жидкими. Наноэмульсии были получены методом температурной инверсии фаз.

3.3.3.1. Определение температуры инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных смесями Tween и Span

Температурные диапазоны инверсии фаз определялись кондуктометрическим методом. Исследовались системы, содержащие 25 об.% углеводородного масла, 62,5 об.% водного раствора NaCl (0,17 М) и 12,5 об.% смеси ПАВ - Tween 80 + Span 60, Tween 60 + Span 60, Tween 60 + Span 80, Tween 80 + Tween 60 + Span 80; Tween 80 + Tween 60 + Span 60.

Мольные соотношения Tween / Span, Tween 80 / Tween 60 были равны 0,76 и 1,0, соответственно.

Компоненты эмульсий нагревали до 95 °С при умеренном перемешивании. Измерения электропроводности проводились с шагом 2 °С. В качестве примера на рис. 3.39 представлена зависимость электропроводности от температуры в эмульсии, стабилизированной смесью Tween 60 и Span 60.

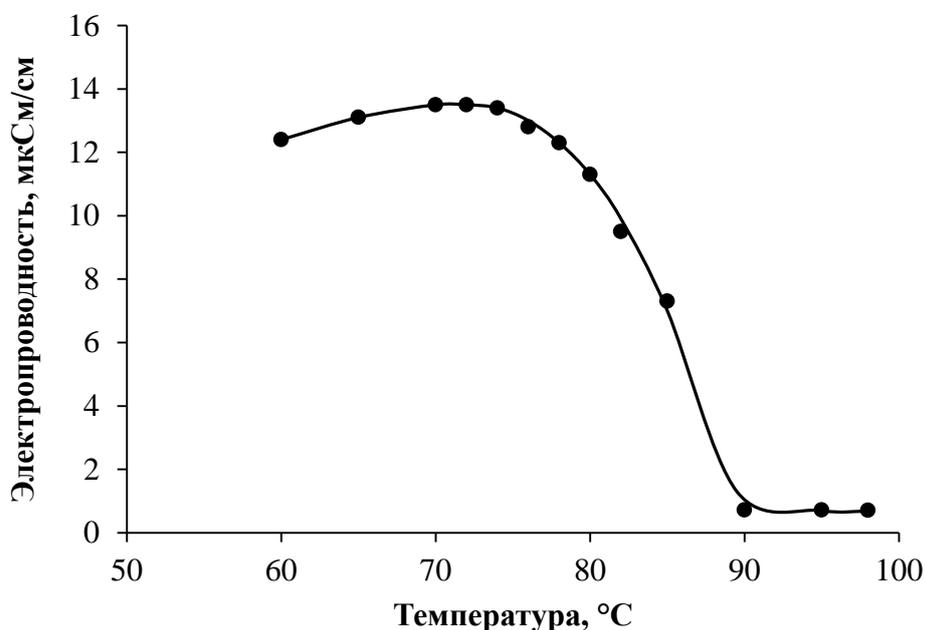


Рис. 3.39. Зависимость электропроводности системы, содержащей смесь Tween 60 + Span 60, от температуры

Электропроводность системы при температуре 98 °С составляла 0,7 мкСм/см, что свидетельствовало о том, что эмульсия была обратная. Уменьшение температуры до 70 °С приводило к росту электропроводности. Увеличение электропроводности соответствовало обращению фаз и образованию прямой эмульсии. При дальнейшем снижении температуры до 60 °С значения электропроводности незначительно уменьшались.

Температурные диапазоны инверсии фаз в наноэмульсиях, стабилизированных разными смесями ПАВ, представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5

Температурные диапазоны инверсии фаз в наноэмульсиях

Смесь ПАВ	Интервал инверсии фаз, °С
Tween 80 + Span 60	70 ÷ (95-100)
Tween 60 + Span 60	72 ÷ (95-100)
Tween 60 + Span 80	82 ÷ (95-100)
Tween 80 + Tween 60 + Span 80	74 ÷ (95-100)
Tween 80 + Tween 60 + Span 60	74 ÷ (95-100)

В дальнейшей работе для получения обратной эмульсии нагрев компонентов осуществлялся при температуре 95 °С.

3.3.3.2. Влияние мольного соотношения Tween / Span на дисперсность наноэмульсий

Для определения влияния мольного соотношения Tween / Span на дисперсность эмульсионных систем исследовались наноэмульсии, состоящие из 25 об.% углеводородного масла, 12,5 об.% смеси Tween 80, Tween 60, Span 80, Span 60 и 62,5 об.% водного раствора NaCl (0,17 М). Зависимости

диаметра капель дисперсной фазы от мольных соотношений Tween / Span представлены на рис. 3.40.

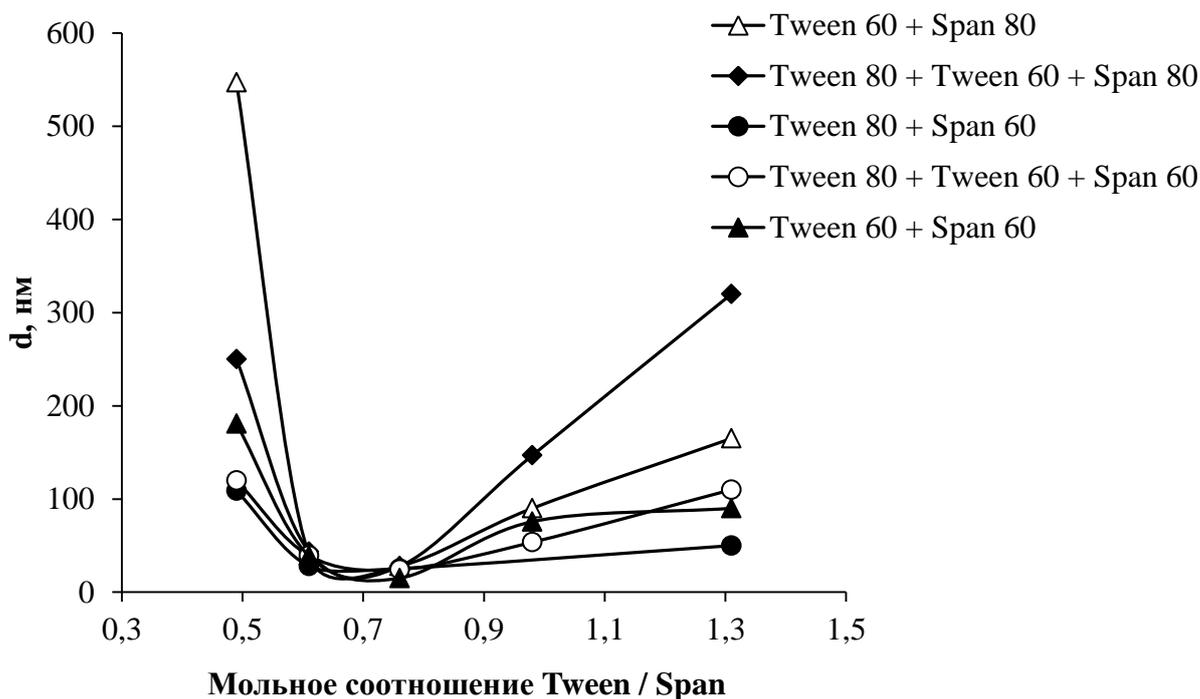


Рис. 3.40. Зависимости диаметра капель дисперсной фазы от мольных соотношений Tween / Span

В диапазоне мольных соотношений Tween / Span от 0,61 до 0,76 размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях был минимальным и составлял 20-30 нм (рис. 3.40). Количество Span и Tween в этом интервале соотношений было достаточным для стабилизации обратной эмульсии и прямой наноэмульсии.

В качестве примера на рис. 3.41 представлены распределения капель дисперсной фазы в эмульсиях, стабилизированных смесью Tween 60 + Span 60. При мольном соотношении Tween / Span - 0,49 в системе интенсивно протекала коагуляция капель, происходило образование крупных флокул размером 715 нм. При увеличении мольного соотношения Tween от 0,49 до 0,76 объемная доля одиночных капель увеличивалась, доля флокул уменьшалась. Также происходило снижение размеров одиночных капель дисперсной фазы и флокул.

Таким образом, диаметр одиночных капель уменьшался со 120 до 25 нм, флоккул – с 715 до 90 нм.

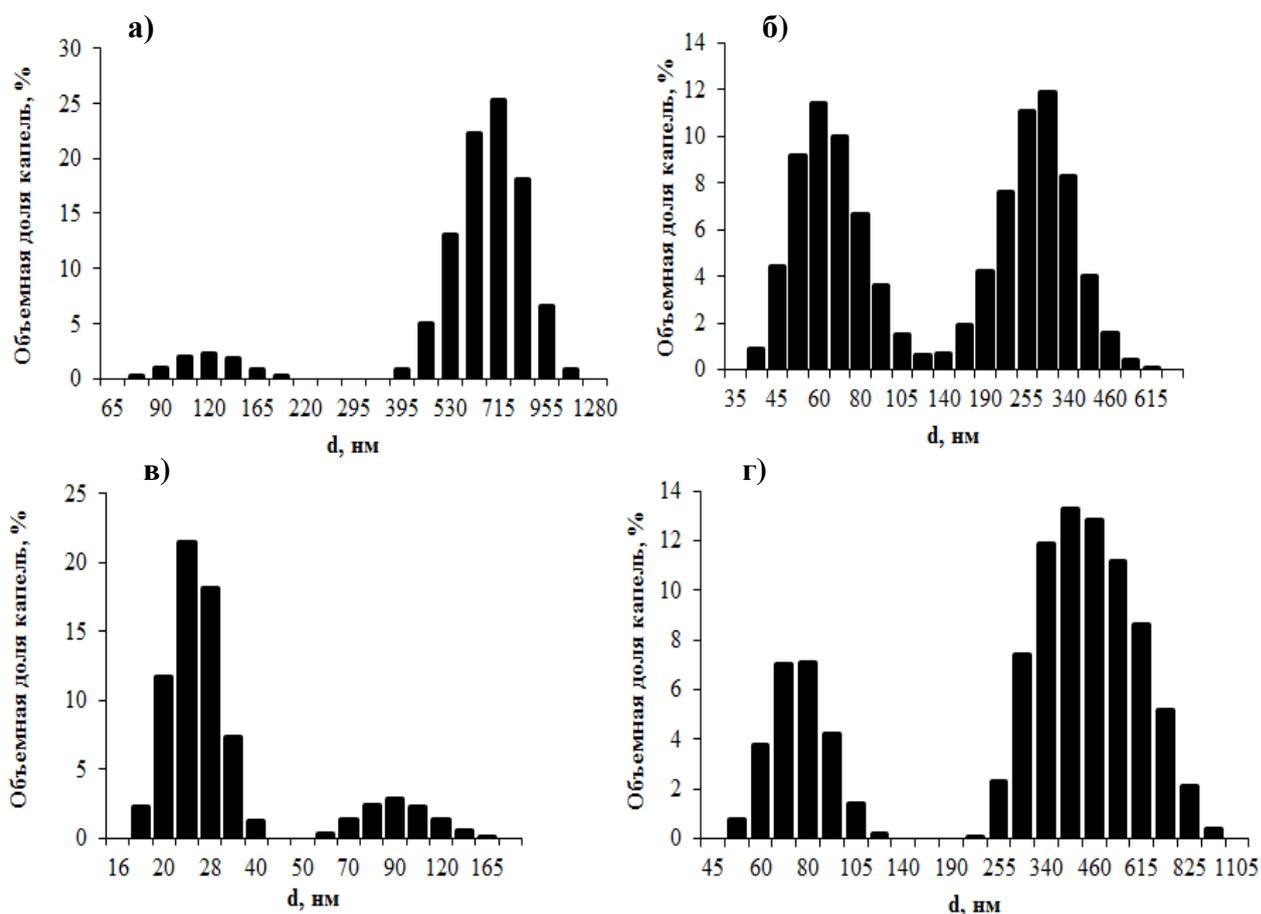


Рис. 3.41. Распределения капель дисперсной фазы по размерам в наноэмульсиях, стабилизированных смесью Tween 60 + Span 60. Мольное соотношение Tween / Span: а) 0,49, б) 0,61, в) 0,76, г) 1,31

С ростом мольного соотношения Tween / Span до 1,31 размер одиночных капель дисперсной фазы увеличивался, при этом их объемная доля снижалась. Диаметр и объемная доля флоккул возрастали.

По-видимому, при мольном соотношении Tween / Span - 0,76 образуется наиболее прочный твердый адсорбционный слой на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсии. При столкновениях таких капель друг с

другом они ведут себя как "жесткие шары" и не слипаются друг с другом, что и приводит к уменьшению степени их коагуляции.

3.3.3.3. Устойчивость наноэмульсий, стабилизированных смесями Tween и Span

В работе была изучена устойчивость наноэмульсий, стабилизированных смесями Tween и Span в различных комбинациях. На рис. 3.42 представлена зависимость среднего диаметра капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween и Span, от времени их существования.

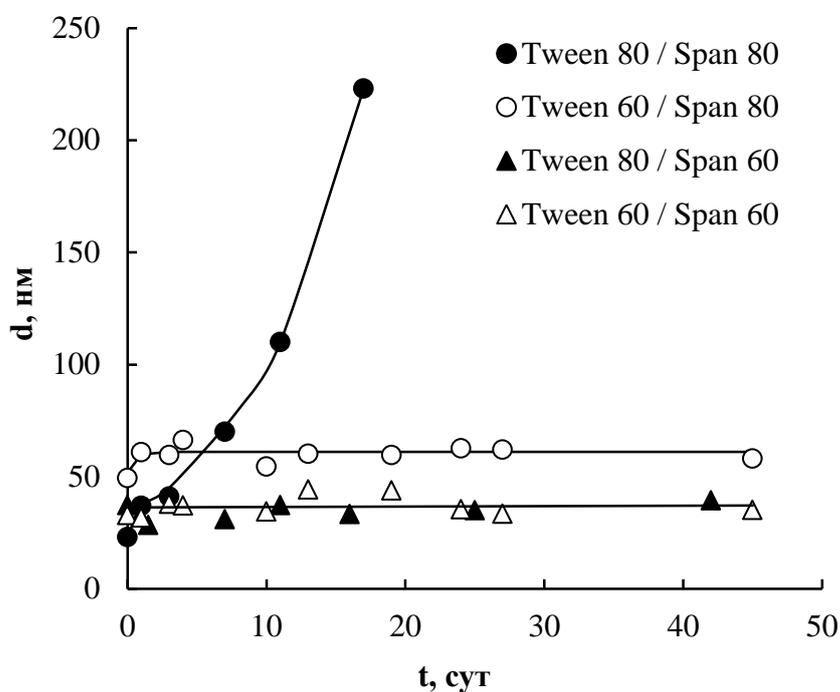


Рис. 3.42. Зависимости диаметра капель дисперсной фазы от времени существования наноэмульсий, стабилизированных Tween + Span в различных комбинациях. Доля дисперсной фазы – 25 об.%

Неустойчивыми были наноэмульсии, стабилизированные смесью Tween 80 и Span 80. Диаметр капель дисперсной фазы возрос в течение 17 суток от 23 до 223 нм. Размер капель в наноэмульсиях, стабилизированных смесями Tween 80 и Span 60, Tween 60 и Span 60, практически не изменялся в течение 45 сут.

Наноэмульсии, стабилизированные Tween 60 и Span 80, были менее устойчивы в первые трое суток после получения, диаметр капель дисперсной фазы увеличился от 50 до 60 нм. В дальнейшем уменьшение дисперсности капель не происходило, размер капель практически не изменялся в течение 45 сут.

Таким образом, самыми устойчивыми были наноэмульсии, в состав которых входил Span 60 в сочетании с Tween 80 и Tween 60. Твердообразный слой со Span 60 или со смесью Tween 60 и Span 60 образовывался на поверхности капель дисперсной фазы после инверсии фаз, тем самым замедлялся процесс укрупнения капель. В наноэмульсиях с Tween 60 и Span 80 твердообразная оболочка формировалась при более низких температурах, таким образом, начальный диаметр капель дисперсной фазы был выше.

3.3.3.4. Изучение структуры твердой оболочки на поверхности капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 60 и Span 60

Для исследования структуры и свойств твердого адсорбционного слоя на поверхности капель в наноэмульсиях с Tween 60 и Span 60 был использован ДСК-ТГА. На рис. 3.43 представлена зависимость теплового потока от температуры для наноэмульсии.

На зависимости не было резких пиков, соответствовавших температурам плавления индивидуальных ПАВ - Tween 60 и Span 60 (рис. 3.43). Также на зависимости отсутствовал четкий минимум при 31 °С, характерный для смеси этих ПАВ в неэмульгированном виде (рис. 3.28). В диапазоне от 23 до 52 °С имелось несколько не сильно различающихся по глубине минимумов, которые по-видимому, характеризовали температуры плавления доменов с разным соотношением Tween 60 и Span 60 на поверхности капель в наноэмульсиях.

Глубокий минимум в диапазоне температур 62-71 °С был обусловлен инверсией фаз и трансформацией прямой эмульсии в обратную. Это более низкий температурный диапазон, чем интервал температур, определенный

методом кондуктометрии (таблица 3.5). Такое различие, скорее всего, обусловлено тем, что в данном случае был переход из прямой эмульсии в обратную при нагревании, а при кондуктометрических измерениях обратная эмульсия переходила в прямую при охлаждении.

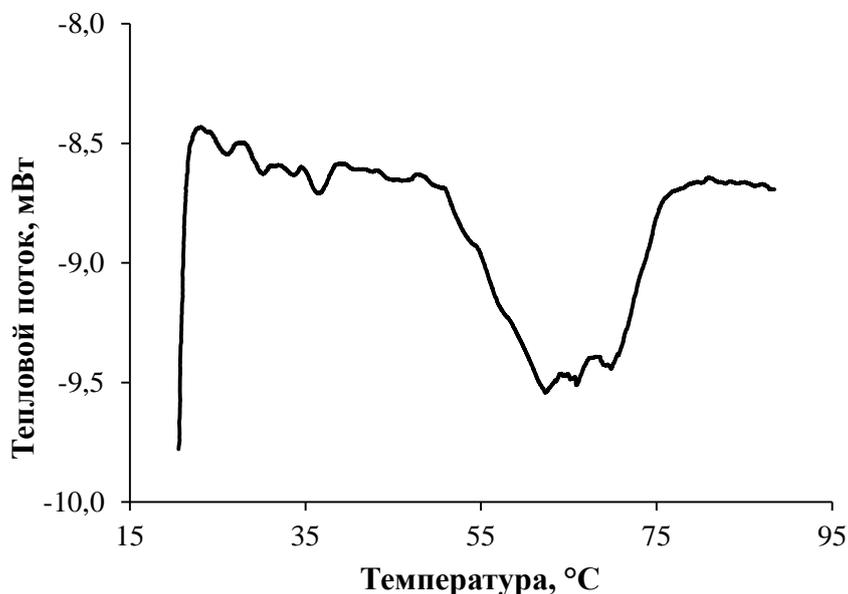


Рис. 3.43. Зависимость теплового потока от температуры для наноэмульсии, стабилизированной смесью Tween 60 и Span 60

На рис. 3.44 представлена микрофотография наноэмульсии, стабилизированной Tween 60 + Span 60.

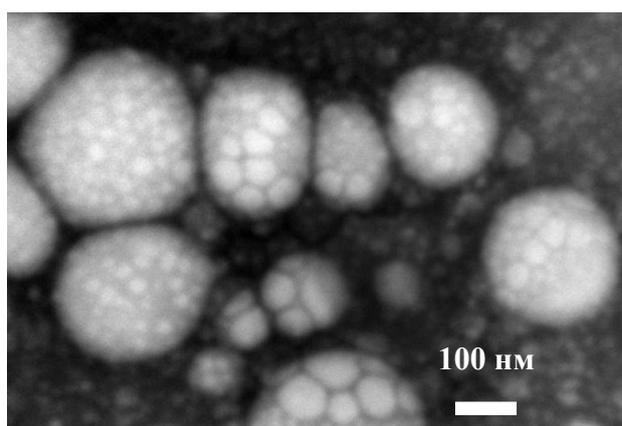


Рис. 3.44. Микрофотография наноэмульсии, стабилизированной смесью Tween 60 + Span 60

Концентрация ПАВ – 12,5 об.%, концентрация дисперсной фазы – 25 об.%

Как видно, поверхность капель неоднородная и состояла из включений различного размера и формы, что может служить косвенным подтверждением образования на поверхности капель доменов с разным соотношением ПАВ и, соответственно, с разной температурой плавления.

Формирование такого неоднородного слоя может быть полезным при получении на основе таких наноэмульсий нанокапсул с лекарственными веществами. Различная температура плавления доменов может способствовать постепенному выходу лекарственных веществ в зависимости от температуры кожного покрова и скорости трансэпидермального проникновения. При этом не будет нарушаться целостность оболочки, что обеспечит пролонгированное действие этих лекарственных веществ.

3.4. Влияние инкапсулирования лекарственных веществ с низкой полярностью на дисперсность и устойчивость наноэмульсий, стабилизированных Tween 60 и Span 60

Капли дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 60 и Span 60, представляют собой нанокапсулы, внутри которых могут быть инкапсулированы различные лекарственные вещества с низкой полярностью. В качестве лекарственных веществ в данной работе были использованы: (+) α -токоферол, гидрокортизон, нимесулид и куркумин. Структурные формулы этих веществ представлены на рис. 3.45-3.48.

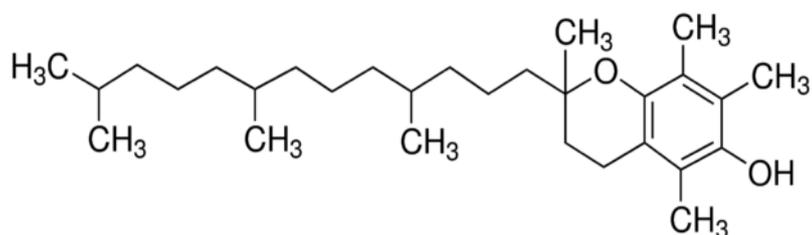


Рис. 3.45. Структурная формула (+) α -токоферола

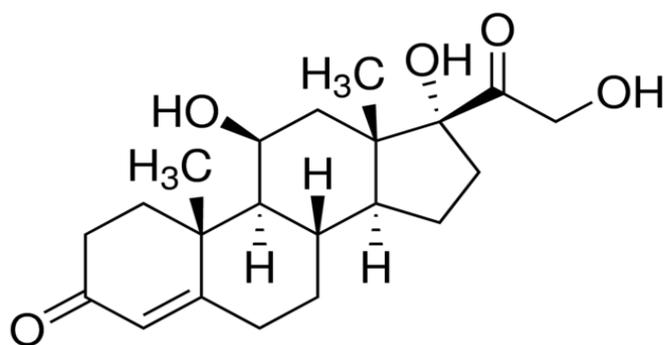


Рис. 3.46. Структурная формула гидрокортизона

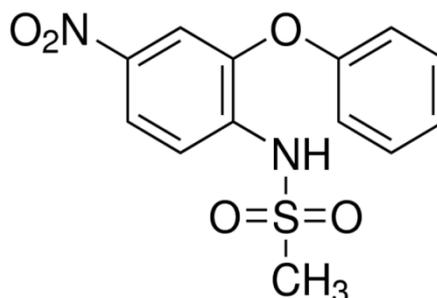


Рис. 3.47. Структурная формула нимесулида

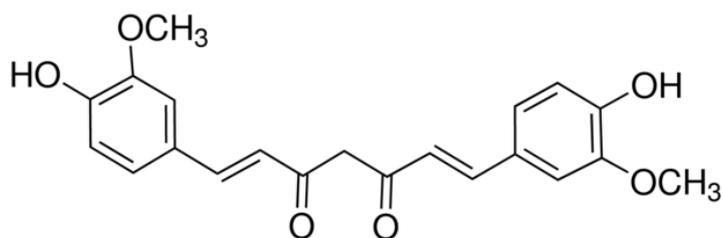


Рис. 3.48. Структурная формула куркумина

Изучалось влияние данных лекарственных соединений на диаметр капель дисперсной фазы в наноэмульсиях и их устойчивость.

Исследовались наноэмульсии, содержащие 25 об.% углеводородного масла, 12,5 об.% смеси ПАВ - Tween 60 и Span 60 и 62,5 об.% водного раствора NaCl (0,17 М). Мольное соотношение Tween 60 / Span 60 было равно 0,76. Концентрация лекарственного вещества составляла 1 мас.% от концентрации углеводородного масла. Наноэмульсии были получены методом температурной инверсии фаз. Данные о начальных диаметрах капель дисперсной фазы в наноэмульсиях представлены в таблице 3.6.

Средний начальный размер капель дисперсной фазы в наноэмульсиях с инкапсулированными лекарственными веществами

Лекарственное вещество	Средний диаметр капель дисперсной фазы в наноэмульсии, нм
-	30 ± 3
(+) α -Токоферол	29 ± 3
Гидрокортизон	29 ± 3
Нимесулид	31 ± 3
Куркумин	33 ± 3

Средний диаметр капель дисперсной фазы без лекарственных веществ и с лекарственными веществами был практически одинаковым и составил 30 ± 3 нм. Инкапсулирование данных лекарственных веществ не оказывало существенного влияния на средний размер капель.

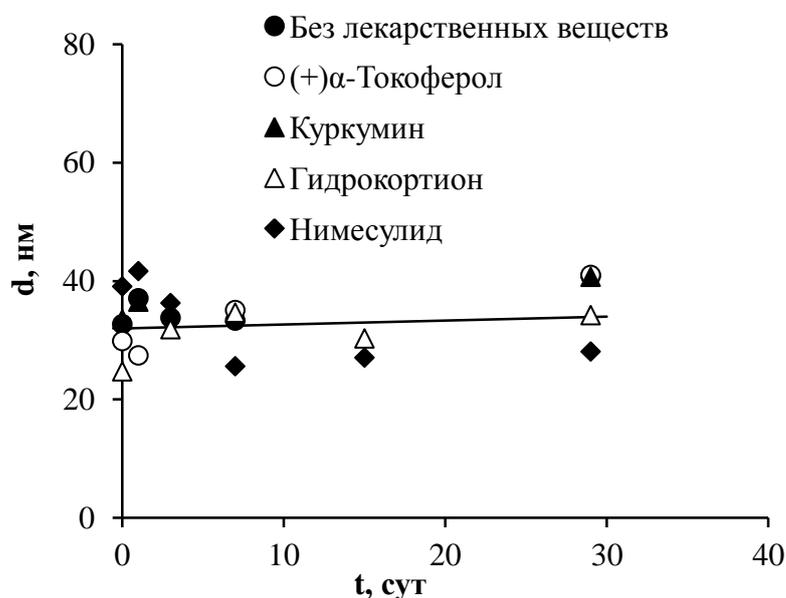


Рис. 3.49. Зависимости средних диаметров капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Tween 60 и Span 60, без лекарственных веществ и с инкапсулированными лекарственными веществами от времени

Полученные наноэмульсии были исследованы на устойчивость. Зависимости средних диаметров капель дисперсной фазы представлены на рис. 3.49.

Из представленных зависимостей средних размеров капель от времени (рис. 3.49) видно, что в течение 30 сут диаметры капель изменялись незначительно и находились в пределах ошибки измерения. Таким образом, инкапсулирование лекарственных веществ: (+) α -токоферола, гидрокортизона, нимесулида и куркумина не оказывало значительного влияния на средний диаметр капель дисперсной фазы и на их устойчивость в течение 30 сут. Поэтому, разработанные наноэмульсии с твердым адсорбционным слоем на поверхности могут быть использованы в качестве нанокапсул для доставки лекарственных веществ, например, трансдермальным способом.

Выводы

1. Показано, что при использовании метода температурной инверсии фаз и метода инверсии фаз при изменении состава образуются наноэмульсии с размером капель дисперсной фазы < 100 нм при концентрации Brij 30 1,0-7,5 об.% и концентрации дисперсной фазы 10-40 об.% ; при концентрации Tween 80 + Span 80 от 5 до 10 об.% и концентрации дисперсной фазы 25-45 об. %
2. Установлено, что основным процессом, приводящим к укрупнению капель дисперсной фазы в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30 или Tween 80 + Span 80 с концентрацией дисперсной фазы 1-5 об.% являлось оствальдово созревание. Скорость стационарной стадии оствальдова созревания в наноэмульсиях с углеводородным маслом в качестве дисперсной фазы, стабилизированных Brij 30, составляла $(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-29}$ м³/с. Для наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 + Span 80 – $(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-29}$ м³/с.
3. Показано, что в наноэмульсиях, стабилизированных Brij 30, с долей дисперсной фазы 17-35 об.% первые сутки после получения преобладала коагуляция, в последующее время - коалесценция. В наноэмульсиях, стабилизированных Tween 80 + Span 80, уменьшение дисперсности было обусловлено оствальдовым созреванием и коагуляцией.
4. Получены наноэмульсии с твердообразной оболочкой ПАВ - Solutol HS 15 + Span 60. Средний диаметр капель дисперсной фазы, равный 25 нм, не изменялся в течение 35 сут, однако доля дисперсной фазы не превышала 10 об.%, поэтому их использование для инкапсулирования лекарственных веществ нецелесообразно.
5. Получены наноэмульсии с твердообразной оболочкой ПАВ - Tween 60 + Span 60, Tween 80 + Span 60 на поверхности капель дисперсной фазы диаметром 30 ± 3 нм. Доля дисперсной фазы в таких наноэмульсиях достигала 40 об.%. Средний диаметр капель в таких наноэмульсиях не изменялся в течение 45 сут.

6. Определено, что в наноэмульсиях с твердообразной оболочкой ПАВ основной вклад в увеличение стабильности к оствальдову созреванию вносило ПАВ с более низким значением ГЛБ – Span 60.. Показано, что твердообразная оболочка на поверхности капель дисперсной фазы состояла из доменов с разной температурой плавления.
7. Получены нанокапсулы, содержащие неполярные лекарственные вещества: (+)α-токоферол, гидрокортизон, куркумин, нимесулид. Показано, что инкапсулирование данных лекарственных веществ не оказывало существенного влияния на дисперсность и устойчивость нанокапсул на основе наноэмульсий.

Список литературы

1. Fornaguera C., Dols-Perez A., Calderó G., García-Celma M.J., Camarasa J., Solans C. PLGA nanoparticles prepared by nano-emulsion templating using low-energy methods as efficient nanocarriers for drug delivery across the blood-brain barrier // *J. Controlled Release*. 2015. Vol. 211. P. 134-143.
2. Martin G.P., Jones S.A., Akomeah F.K. Dermal and Transdermal Drug Delivery Systems: Current and Future Prospects // *Drug Delivery*. 2006. Vol. 13. P. 175-187.
3. Loureiro A., Gonçalo J., Bernardes L., Shimanovich U., Sárria M.P., Nogueira E., Preto A., Gomes A.C., Cavaco-Paulo A. Folic acid-tagged protein nanoemulsions loaded with CORM-2 enhance the survival of mice bearing subcutaneous A20 lymphoma tumors // *Nanomedicine: Nanotech., Biol. Med.* 2015. Vol. 11. P. 1077-1083.
4. Salama I.E., Jenkins C.L., Davies A., Clark J.N., Wilkes A.R., Hall J.E., Paul A. Volatile fluorinated nanoemulsions: A chemical route to controlled delivery of inhalation Anesthesia // *J. Colloid Interface Sci.* 2015. Vol. 440. P. 78-83.
5. Đorđević S.M., Cekić N.D., Savić M.M., Isailović T.M., Ranđelović D.V., Marković B. D., Savić S.R., Stamenić T.T., Daniels R., Savić S.D. Parenteral nanoemulsions as promising carriers for brain delivery of risperidone: Design, characterization and in vivo pharmacokinetic evaluation // *Int. J. Pharm.* 2015. Vol. 493. P. 40-54.
6. Fattal E., Tsapis N., Phan G. Novel drug delivery systems for actinides (uranium and plutonium) decontamination agents // *Adv. Drug Delivery Reviews*. 2015. Vol. 90. P. 40-54.
7. McClements D.J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance // *Soft Matter*. 2011. Vol. 7. P. 2297-2316.
8. Walker R.M., Decker E.A., McClements D.J. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size // *J. Food Eng.* 2015. Vol. 164. P. 10-20.

9. Shin G.H., Kim J.T., Park H.J. Recent developments in nanoformulations of lipophilic functional foods // *Trends in Food Sci. Technol.* 2015. Vol. 46. P. 144-157.
10. Cevc G., Vierl U. Nanotechnology and the transdermal route. A state of the art review and critical appraisal // *J. Controlled Release.* 2010. Vol. 141. P. 277-299.
11. Müller R.H., Petersen R.D., Hommos A., Pandeines R.J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products // *Adv. Drug Delivery Reviews.* 2007. Vol. 59. P. 22-30.
12. Nam Y.S., Kim J.W., Park J., Shim J., Lee J.S., Han S.H. Tocopherylacetate nanoemulsions stabilized with lipid-polymer hybrid emulsifiers for effective skin delivery // *Colloids Surf., B: Biointerfaces.* 2012. Vol. 94. P. 51-57.
13. Mason T.J., Wilking J.N., Meleson K., Chang C.B., Graves S.M. Nanoemulsions: formation, structure and physical properties // *J. Phys.: Condens. Matter.* 2006. Vol. 18. P. 635-666.
14. Королёва М.Ю., Юртов Е.В. Наноэмульсии: свойства, методы получения и перспективные области применения // *Успехи химии.* 2012. Т. 1. № 81. С. 21-43.
15. Scholz P., Keck C.M. Nanoemulsions produced by rotor-stator high speed stirring // *Int. J. Pharm.* 2015. Vol. 482. P. 110-117.
16. Sari T.P., Mann B., Kumar R., Singh R.R.B., Sharma R., Bhardwaj M., Athira S. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin // *Food Hydrocolloids.* 2015. Vol. 43. P. 540-546.
17. Başpınar Y., Gündoğdu E., Köksal Ç., Karasulu E. Pitavastatin-containing nanoemulsions: Preparation, characterization and in vitro cytotoxicity // *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2015. Vol. 29. P. 117-124.
18. Daiane de O.D., Colombo M., Kelmann R.G., Kaiser S., Lucca L.G., Teixeira H.F., Limberger R.P., Valdir F. Veiga Jr., Koester L.S. Optimization of Copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods // *Ind. Crops and Products.* 2014. Vol. 59. P. 154-162.

19. Solans C., Izquierdo P., Nolla J., Azemar N., Garcia-Celma M.J. Nano-emulsions // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2005. Vol. 10. P. 102-110.
20. Porras M., Solans C., González C., Gutiérrez J.M. Properties of water-in-oil (W/O) nano-emulsions prepared by a low-energy emulsification method // *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2008. Vol. 324. P. 181–188.
21. Tadros Th., Izquierdo P., Esquena J., Solans C. Formation and stability of nano-emulsions // *Adv. In Colloid Interface Sci.* 2004. Vol. 108-109. P. 303-318.
22. Solans C., Sole I. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2012. Vol. 17. P. 246-254.
23. Fernandez P., André V., Rieger J., Kühnle A. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion // *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2004. Vol. 251. P. 53-58.
24. Izquierdo P., Feng J., Esquena J., Tadros Th. F., Joseph C. Dederen J.C., Garcia M.J., Azemar N., Solans C. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method // *J. Colloid Interface Sci.* 2005. Vol. 285. P. 388–394.
25. Capek I. Degradation of kinetically-stable O/W emulsions // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2004. Vol. 107. P. 102–110.
26. Izquierdo P., Esquena J., Tadros Th. F., Dederen J.C., Feng J., Garcia-Celma M. J., Azemar N., Solans C. Phase Behavior and Nano-emulsion Formation by the Phase Inversion Temperature Method // *Langmuir.* 2004. Vol. 20. P. 6594-6598.
27. Ee S.L., Duan X., Liew J., Nguyen Q.D. Droplet size and stability of nano-emulsions produced by the temperature phase inversion method // *Chem. Eng. J.* 2008. Vol. 140. P. 626–631.
28. Wooster T.J., Golding M., Sanguansri P. Impact of Oil Type on Nanoemulsion Formation and Ostwald Ripening Stability // *Langmuir.* 2008. Vol. 24. P. 12758-12765.

29. Liu W., Sun D., Li C., Liu Q., Xu J. Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method // *J. Colloid Interface Sci.* 2006. Vol. 303. P. 557–563.
30. Zhen M., Xu J., Sun D. O/W nano-emulsions with tunable PIT induced by inorganic salts // *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2011. Vol. 375. P. 102-108.
31. Usón N., Garcia M.J., Solans C. Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method // *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2004. Vol. 250. P. 415-421.
32. Шукин Е.Д., Перцов А.В., Амелина Е.А. Коллоидная химия. 4-е изд., испр., М.: Высш. шк., 2006. 444 с.
33. Ostertag F., Weiss J., McClements D.J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion // *J. Colloid Interface Sci.* 2012. Vol. 388. P. 95-102.
34. Шерман Ф. Эмульсии. Перевод с англ. изд. под ред. Абрамсона А.А. Л.: Химия, 1972. 448 с.
35. Sonneville-Aubrun, O., Simonnet, J.T., L'Alloret, F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2004. Vol. 108–109. P. 145–149.
36. Hiromitsu K., Kume T., Matsunaga T., Iwai H., Sano T., Shibayama M. Structure and Rheology of a Self-Standing Nanoemulsion // *Langmuir.* 2010. Vol. 26. P. 2430–2437.
37. Anton N., Vandamme T.F. Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences // *Pharm. Res.* 2011. Vol. 28. P. 978-985.
38. Izquierdo P., Esquena J., Tadros Th. F., Dederen C., Garcia M.J., Azemar N., Solans C. Formation and Stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method // *Langmuir.* 2002. Vol. 18. P. 26-30.

39. El-Aasser M.S., Sudol E.D. Minemulsions: overview of research and applications // JCT. Res. 2004. Vol. 1. P. 21-31.
40. Gutierrez J.M., Gonzalez C., Maestro A., Sole I., Pey C.M., Nolla J. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2008. Vol. 13. P. 245-251.
41. Pan H., Yu L., Xu J., Sun D. Preparation of highly stable concentrated W/O nanoemulsions by PIC method at elevated temperature // Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects. 2014. Vol. 447. P. 97-102.
42. Lee G.W. J., Tadros Th. F. Formation and stability of emulsions produced by dilution of emulsifiable concentrates. Part I. An investigation of the dispersion on dilution of emulsifiable concentrates containing cationic and non-ionic surfactants // Colloids and Surfaces. 1982. Vol. 5. P. 105-115.
43. Porras M., Solans C., González C., Martínez A., Guinart A., Gutiérrez J.M. Studies of formation of W/O nano-emulsions // Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects. 2004. Vol. 249. P. 115-118.
44. Tadros Th.F. Applied Surfactants: Emulsion Science and Technology // Verlag GmbH&Co. KGaA. Weinheim, 2009.
45. Taylor P. Ostwald ripening in emulsions // Adv. Colloid Interface Sci. 1998. Vol. 75. P. 107-163.
46. Taylor P. Ostwald ripening in emulsions: estimation of solution thermodynamics of the disperse phase // Adv. Colloid Interface Sci. 2003. Vol. 106. P. 261–285.
47. Lifshitz I.M., Slyozov V.V. The Kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions // J. Phys. Chem. Solids. 1961. Vol. 19. P. 35-50.
48. Nazarzadeh E., Anthonypillai T., Sajjadi S. On the growth mechanisms of nanoemulsions // J. Colloid Interface Sci. 2013. Vol. 397. P. 154-162.
49. Kabalnov A.S., Shchukin E.D. Ostwald repining theory: applications to fluorocarbon emulsion stability // Adv. Colloid Interface Sci. 1992. Vol. 38. P. 69-97.

50. Kabalnov A.S. Can Micelles Mediate a Mass Transfer between Oil Droplets? // *Langmuir*. 1994. Vol. 10. P. 680-684.
51. Lin T.J., Kurihara H., Ohta H. Effects of phase inversion and surfactant location on the formation of O/W emulsions // *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1975. Vol. 26. P. 121-139.
52. Schultz S., Wagner G., Urban K., Ulrich J. High-Pressure Homogenization as a Process for Emulsion Formation // *Chem. Eng. Technol.* 2004. Vol. 27. P. 361-368.
53. Stone H.A., Bentley B.J., Leal L.G. An experimental study of transient effects in the breakup of viscous drops // *J. Fluid Mech.* 1986. Vol. 173. P. 131-158.
54. Mason T.J. Industrial sonochemistry: potential and practicality // *Ultrasonics*. 1992. Vol. 30. P. 192–196.
55. Abismaïl B., Canselier J.P., Wilhelm A.M., Delmas H., Gourdon C. Emulsification processes: on-line study by multiple light scattering measurements // *Ultrason. Sonochem.* 2000. Vol. 7. P. 187–192.
56. Abbas S., Bashari M., Akhtar W., Li W.W., Zhang X. Process optimization of ultrasound-assisted curcumin nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch // *Ultrason. Sonochem.* 2014. Vol. 21. P. 1265–1274.
57. Yang Y., Marshall-Breton C., Leser M.E., Sher A.A., McClements D.J. Fabrication of ultrafine edible emulsions: Comparison of high-energy and low-energy homogenization methods // *Food Hydrocolloids*. 2012. Vol. 29. P. 398-406.
58. Brösel S., Schubert H. Investigations on the role of surfactants in mechanical emulsification using a high-pressure homogenizer with an orifice valve // *Chem. Eng. Proc.* 1999. Vol. 38. P. 533-540.
59. Troncoso E., Aguilera J.M., McClements D.J. Fabrication, characterization and lipase digestibility of food-grade nanoemulsions // *Food Hydrocolloids*. 2012. Vol. 27. P. 355-363.

60. Zahi M.R., Wan P., Liang H., Yuan Q. Formation and Stability of D-Limonene Organogel-Based Nanoemulsion Prepared by a High-Pressure Homogenizer // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62. P. 12563–12569.
61. Taisne L., Walstra P., Cabane B. Transfer of Oil between Emulsion Droplets // *J. Colloid Interface Sci.* 1996. Vol. 184. P. 378–390.
62. Marie P., Perrier-Cornet J.M., Gervais P. Influence of major parameters in emulsification mechanisms using a high-pressure jet // *J. Food Eng.* 2002. Vol. 53. P. 43-51.
63. Hardt S., Schönfeld F. *Microfluidic Technologies for Miniaturized Analyses Systems.* Springer - Berlin, 2007.
64. Qian C., McClements D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size // *Food Hydrocolloids.* 2011. Vol. 25. P. 1000-1008.
65. Jafari S.M., He Y., Bhandari B. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization – a comparison // *Int. J. Food Properties.* 2006. Vol. 9. P. 475-485.
66. Jafari S.M., He Y., Bhandari B. Optimization of nano-emulsions production by microfluidization // *Eur. Food Res. and Technol.* 2007. Vol. 225. P. 733-741.
67. Rao J., McClements D.J. Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by surfactant displacement // *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 7059-7066.
68. Forgiarini A., Esquena J., González C., Solans C. Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature // *Langmuir.* 2001. Vol. 17. P. 2076-2083.
69. Solè I., Maestro A., González C., Solans C., Gutiérrez J.M. Optimization of nano-emulsion preparation by low-energy methods in an ionic surfactant system // *Langmuir.* 2006. Vol. 22. P. 8326-8332.

70. Parkinson C., Sherman P. Phase Inversion Temperature As An Accelerated Method For Evaluating Emulsion Stability // *J. Colloid Interface Sci.* 1972. Vol. 2. P. 328-330.
71. Anton N., Benoit J.-P., Saulnier P. Particular conductive behaviors of emulsion phase inverting // *J. Drug Del. Sci. Tech.* 2008. Vol. 18. P. 95-99.
72. Dickinson E. Thermodynamic Aspects of Emulsion Phase Inversion // *J. Colloid Interface Sci.* 1982. Vol. 87. P. 416-423.
73. Sadurni N., Solans C., Azemar N., Garcia-Celma M.J. Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2005. Vol. 26. P. 438-445.
74. López-Montilla J.C., Herrera-Morales P.E., Pandey S., Shah D.O. Spontaneous Emulsification: Mechanisms, Physicochemical Aspects, Modeling, and Applications // *J. Dispers. Sci. Technol.* 2002. Vol. 23. P. 219-268.
75. Miller C.A. Spontaneous Emulsification Produced by Diffusion - A Review // *Colloids and Surfaces.* 1988. Vol. 29. P. 89-102.
76. Anton N., Vandamme T.F. The universality of low-energy nano-emulsification // *Int. J. Pharm.* 2009. Vol. 377. P. 142-147.
77. Hoeller S., Sperger A., Valenta C. Lecithin based nanoemulsions: a comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphin-gosine on physicochemical behaviour and skin permeation // *Int. J. Pharm.* 2009. Vol. 370. P. 181-186.
78. Shakeel F.S., Ramadan W. Transdermal delivery of anticancer drug caffeine from water-in-oil nanoemulsions // *Colloids Surf., B Biointerfaces.* 2010. Vol. 75. P. 356-362.
79. Shakeel F., Baboota S., Ahuja A., Ali J., Shafiq S. Skin permeation mechanism and bioavailability enhancement of celecoxib from transdermally applied nanoemulsion // *J. Nanobiotechnol.* 2008. Vol. 6. P. 8-19.

80. Teixeira Z., Dreiss C.A., Lawrence M.J., Heenan R.K., Machado D., Justo G.Z., Guterres S.S., Durán N. Retinyl palmitate polymeric nanocapsules as carriers of bioactives // *J. Colloid Interface Sci.* 2012. Vol. 382. P. 36–47.
- 81 Primo F.L., Michieletto L., Rodrigues M., Macaroff P., Morais P.C., Lacava Z.G.M., Bentley M.V., Tedesco A.C. Magnetic nanoemulsions as drug delivery systems for Forsan[®]: skin permeation and retention in vitro assays for topical application in photodynamic therapy (PDT) of skin cancer // *J. Magn. Magn. Mater.* 2007. Vol. 311. P. 354-357.
82. Primo F.L., Rodrigues M.M.A., Simioni A.R., Bentley M.V.L.B., Morais P.C., Tedesco A.C. In vitro studies of cutaneous retention of magnetic nanoemulsion loaded with zinc phthalocyanine for synergic use in skin cancer treatment // *J. Magn. Magn. Mater.* 2008. Vol. 320. P. 211-214.
83. Primo F.L., Macaroff P.P., Lacava Z.G.M., Azevedo R.B., Morais P.C., Tedesco A.C. Binding and photophysical studies of biocompatible magnetic fluid in biological medium and development of magnetic nanoemulsion: A new candidate for cancer treatment // *J. Magn. Magn. Mater.* 2007. Vol. 310. P. 2838-2840.
84. Myc A., Kukowska-Latallo J.F., Bielinska A.U., Cao P., Myc P.P., Janczak K., Sturm T.R., Grabinski M.S., Landers J.J., Young K.S., Chang J., Hamouda T., Olszewski M.A., Baker J.R., Jr. Development of immune response that protects mice from viral pneumonitis after a single intranasal immunization with influenza A virus and nanoemulsion // *Vaccine.* 2003. Vol. 21. P. 3801-3814.
85. Huang M.-H., Huang C.-Y., Lin S.-C., Chen J.-H., Ku C.-C., Chou A.-H., Liu S. J., Chen H.-W., Chong P., Leng C.-H. Enhancement of potent antibody and T-cell responses by a single-dose, novel nanoemulsion-formulated pandemic influenza vaccine // *Microbes and Infection.* 2009. Vol. 11. P. 654-660.
86. Vyas T.K., Shahiwala A., Amiji M.M. Improved oral bioavailability and brain transport of Saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations // *Int. J. Pharm.* 2008. Vol. 347. P. 93-101.

87. Aditya N.P., Patankar S., Madhusudhan B., Murthy R.S.R., Souto E.B. Artemeter-loaded lipid nanoparticles produced by modified thin-film hydration: Pharmacokinetics, toxicological and in vivo anti-malarial activity // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2010. Vol. 40. P. 448–455.
88. Prete A.C.L., Dina C.H., Azevedo C.H., Puk C.G., Lopes N.H.M., Hueb W.A., Maranhao R.C. In Vitro Simultaneous Transfer of Lipids to HDL in Coronary Artery Disease and in Statin Treatment // *Lipids.* 2009. Vol. 44. P. 917–924.
89. Shen J., Deng Y., Jin X., Ping Q., Su Z., Li L. Thiolated nanostructured lipid carriers as a potential ocular drug delivery system for cyclosporine A: Improving in vivo ocular distribution // *Int. J. Pharm.* 2010. Vol. 402. P. 248–253.
90. Kaur I.P., Smitha R. Penetration enhancers and ocular bioadhesives: two new avenues for ophthalmic drug delivery // *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2002. Vol. 28. P. 353–369.
91. Maali A., Hamed Mosavian M.T. Preparation and Application of Nanoemulsions in the Last Decade (2000–2010) // *J. Dispersion Sci. Technol.* 2013. Vol. 34. P. 92–105.
92. Shakeel F., Baboota S., Ahuja A., Ali J., Shafiq S. Celecoxib Nanoemulsion for Transdermal Drug Delivery: Characterization and In Vitro Evaluation // *J. Dispersion Sci. Technol.* 2009. Vol. 30. P. 834–842.
93. Shakeel F., Baboota S., Ahuja A., Ali J., Shafiq S. Celecoxib nanoemulsion: Skin permeation mechanism and bioavailability assessment // *J. Drug Targeting.* 2008. Vol. 16. P. 733–740.
94. Pan G., Shower M., Øie S., Lu D.R. In Vitro Gene Transfection in Human Glioma Cells Using a Novel and Less Cytotoxic Artificial Lipoprotein Delivery System // *Pharm. Res.* 2003. Vol. 20. P. 738-744.
95. Divsalar A., Saboury A.A., Nabiuni M., Zare Z., Kefayati M.E., Seyedarabi A. Characterization and side effect analysis of a newly designed nanoemulsion targeting human serum albumin for drug delivery // *Colloids Surf., B: Biointerfaces.* 2012. Vol. 98. P. 80-84.

96. Ghosh V., Mukherjee A., Chandrasekaran N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity // *Ultrason. Sonochem.* 2013. Vol. 20. P. 338-344.
97. Ahmad N., Ramsch R., Llinàs M., Solans C., Hashim R., Tajuddin H.A. Influence of nonionic branched-chain alkyl glycosides on a model nano-emulsion for drug delivery systems // *Colloids Surf., B: Biointerfaces.* 2014. Vol. 115. P. 267-274.
98. Mostafa D.M., Abd El-Alim S.H., Asfour M.H., Al-Okbi S.Y., Mohamed D.A., Awad G. Transdermal nanoemulsions of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil: Preparation, characterization and evaluation of antidiabetic potential // *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2015. Vol. 29, P. 99-106
99. Wong P.T., Wang S.H., Ciotti S., Makidon P.E. Smith D.M., Fan Y., Schuler C.F., IV, Baker J.R., Jr. Formulation and Characterization of Nanoemulsion Intranasal Adjuvants: Effects of Surfactant Composition on Mucoadhesion and Immunogenicity // *Mol. Pharmaceutics.* 2014. Vol. 11. P. 531–544.
100. Loureiro A., Nogueira E., Azoia N.G., Sárria M.P., Ana S. Abreu A.S., Shimanovich U., Rollett A., Härmark J., Hebert H., Guebitz G., Bernardes G.J.L., Preto A., Gomes A.C., Cavaco-Paulo A. Size controlled protein nanoemulsions for active targeting of folate receptor positive cells // *Colloids Surf., B: Biointerfaces.* 2015. Vol. 135. P. 90-98.
101. Tagne J.-B., Kakumanu S., Nicolosi R.J. Nanoemulsion Preparations of the Anticancer Drug Dacarbazine Significantly Increase Its Efficacy in a Xenograft Mouse Melanoma Model // *Mol. Pharmaceutics.* 2008. Vol. 5. P. 1055–1063.
102. Задымова Н.М. Коллоидно–химические аспекты трансдермальной доставки лекарств (обзор) // *Коллоид. журн.* 2013. Т. 75. С. 543-556.
103. Kim J.H., Ko J.A., Kim J.T., Cha D.Su, Cho J.H., Park H.J., Shin G.H. Preparation of a Capsaicin-Loaded Nanoemulsion for Improving Skin Penetration // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62. P. 725–732.

104. Задымова Н.М., Аршакян Г.А. Ингибирование оствальдова созревания в миниэмульсиях гептан/вода // Коллоид. журн. 2014. Т. 76. С. 28-41.
105. Yu H., Huang Q. Improving the Oral Bioavailability of Curcumin Using Novel Organogel-Based Nanoemulsions // J. Agric. Food Chem. 2012. Vol. 60. P. 5373–5379.
106. Liu F., Lin S., Zhang Z., Hu J., Liu G., Tu Y., Yang Y., Zou H., Mo Y., Miao L. pH-Responsive Nanoemulsions for Controlled Drug Release // Biomacromolecule. 2014. Vol. 15. P. 968–977.
107. Patrick M.J., Janjic J.M., Teng H., O’Hear M.R., Brown C.W., Stokum J.A., Schmidt B.F., Ahrens E.T., Waggoner A.S. Intracellular pH Measurements Using Perfluorocarbon Nanoemulsions // J. Am. Chem. Soc. 2013. Vol. 135. P. 18445–18457.
108. Komaiko J., McClements D.J. Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: Factors influencing particle size // J. Food Eng. 2015. Vol. 146. P. 122-128.
109. Rao J., McClements D.J. Formation of Flavor Oil Microemulsions, Nanoemulsions and Emulsions: Influence of Composition and Preparation Method // J. Agric. Food Chem. 2011. Vol. 59. P. 5026–5035.
110. Bilbao-Sáinz C., Avena-Bustillos R.J., Wood D.F., Williams T.G., McHugh T.H. Nanoemulsions Prepared by a Low-Energy Emulsification Method Applied to Edible Films // J. Agric. Food Chem. 2010. Vol. 58. P. 11932–11938.
111. Lau Y.T., Chen N., Ko K.M., Ng K.M. Product Design: A Nanomized Nutraceutical with Enhanced Bioactivity and Bioavailability // Ind. Eng. Chem. Res. 2012. Vol. 51. P. 7320–7326.
112. Silva H.D., Cerqueira M.A., Vicente A.A. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization // Food Bioprocess Technol. 2012. Vol. 5. P. 854-867.
113. Weiss J., Takhistov P., McClements J. Functional materials in food nanotechnology // J. Food Sci. 2006. Vol. 71. P. R107–116.

114. Gulotta A., Saberi A.H., Nicoli M.C., McClements D.J. Nanoemulsion-Based Delivery Systems for Polyunsaturated Polyunsaturated (ω -3) Oils: Formation Using a Spontaneous Emulsification Method // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62. P. 1720–1725.
115. Piorkowski D.T., McClements D.J. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications // *Food Hydrocolloids.* 2014. Vol. 42. P. 5-41.
116. Majeed H., Liu F., Hategekimana J., Sharif H.R., Qi J., Ali B., Bian Y.-Y., Ma J., Yokoyama W., Zhong F. Bacteridal action mechanism of negatively charged food grade clove oil nanoemulsions // *Food Chem.* 2016. Vol. 197. P. 75-83.
117. Acevedo-Fani A., Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü M.A., Martín-Belloso O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties // *Food Hydrocolloids.* 2015. Vol. 47. P. 168-177.
118. Otoni C.G., R. de Moura M., Aouada F.A., Camilloto G.P., Cruz R.S., Lorevice M.V., Nilda de F.F. Soares, Luiz H.C. Mattoso L.H.C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films // *Food Hydrocolloids.* 2014. Vol. 41. P. 188-194.
119. Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü M.A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: Impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples // *Postharvest Biol. Technol.* 2015. Vol. 105. P. 8-16.
120. Quintão F.J.O., Tavares R.S.N., Vieira-Filho S.A., Souza G.H.B., Santos O.D.H. Hydroalcoholic extracts of *Vellozia squamata*: study of its nanoemulsions for pharmaceutical or cosmetic applications // *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2013. Vol. 23. P. 101-107.

121. Ngan C.L., Basri M., Lye F.F., Reza H., Masoumi F., Tripathy M., Karjiban R.A., Abdul-Malek E. Comparison of Box-Behnken and central composite designs in optimization of fullerene loaded palm-based nano-emulsions for cosmeceutical application // *Ind. Crops and Products*. 2014. Vol. 59. P. 309-317.
122. Barradas T.N., Bucco de Campos V.E., Senna J.P., Coutinho Cristal dos Santos C., Tebaldi B.S., Gyselle de Holanda e K.S., Mansur C.R.E. Development and characterization of promising o/w nanoemulsions containing sweet fennel essential oil and non-ionic surfactants // *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2015. Vol. 480. P. 214-221.
123. Wang L, Li X, Zhang G, Dong J, Eastoe J. Oil in water nano-emulsions for pesticide formulations // *J. Colloid Interface Sci*. 2007. Vol. 314. P. 230–235.
124. Yadav S., Gattacceca F., Panicucci R., Amiji M.M. Comparative Biodistribution and Pharmacokinetic Analysis of Cyclosporine-A in the Brain upon Intranasal or Intravenous Administration in an Oil-in-Water Nanoemulsion Formation // *Mol. Pharmaceutics*. 2015. Vol. 12. P. 1523–1533.
125. Sánchez-Paz V., Pastoriza-Gallego M.J., Losada-Barreiro S., Bravo-Díaz C., Gunaseelan K., Romsted L.S. Quantitative determination of α -tocopherol distribution in a tributyrin/Brij 30/water model food emulsion // *J. Colloid Interface Sci*. 2008. Vol. 320. P. 1–8.
126. Komaiko J., McClements D.J. Optimization of isothermal low-energy nanoemulsion formation: Hydrocarbon oil, non-ionic surfactant, and water systems // *J. Colloid Interface Sci*. 2014. Vol. 425. P. 59–66.
127. Solé I., Pey C.M., Maestro A., González C., Porrás M., Solans C., Gutiérrez J.M. Nano-emulsions prepared by the phase inversion composition method: Preparation variables and scale up // *J. Colloid Interface Sci*. 2010. Vol. 344. P. 417–423.
128. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т. 2. 11-е изд. стер. М.: Медицина, 1988. 576 с.

129. Krstonošić V., Dokić L., Dokić P., Dapčević T. Effects of xanthan gum on physicochemical properties and stability of corn oil-in-water emulsions stabilized by polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate // *Food Hydrocolloids*. 2009. Vol. 23. P. 2212-2218.
130. Buszello K., Harnisch S., Müller R.H., Müller B.W. The influence of alkali fatty acids on the properties and the stability of parenteral O/W emulsions modified with Solutol HS 15 // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000. Vol. 49. P. 143-149.
131. Enomoto Y., Tokoyama M., Kawasaki K. Finite volume fraction effects on Ostwald ripening // *Acta metal.* 1986. Vol. 34. P. 2119-2128.
132. Bibette J., Leal-Calderon F. Surfactant-stabilized emulsions // *Cur. Opinion in Colloid and Interface Sci.* 1996. Vol. 1. P. 746-751.