

Università della Calabria

DOTTORATO DI RICERCA

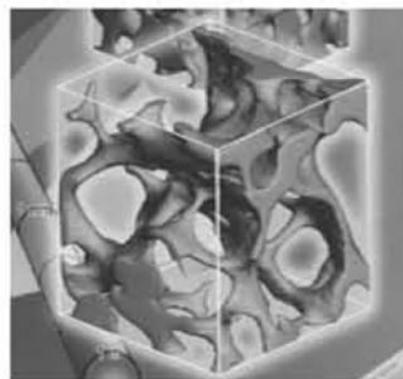
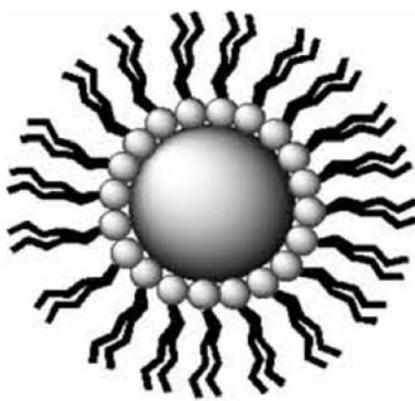
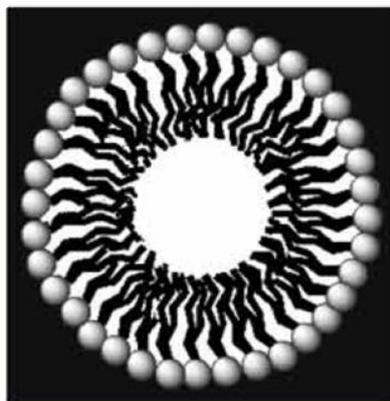
Ambiente, Salute e Processi Ecosostenibili

Ciclo XXII
2006 - 2009

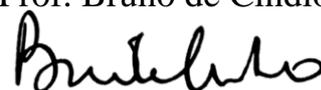
Settore scientifico disciplinare di afferenza: BIO/15

Titolo della Tesi

Microemulsioni per la veicolazione di principi attivi



Coordinatore del Dottorato
Prof. Bruno de Cindio



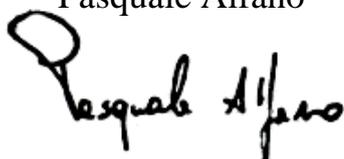
A handwritten signature in black ink, corresponding to Prof. Bruno de Cindio.

Supervisore
Prof. Bruno de Cindio



A second handwritten signature in black ink, corresponding to Prof. Bruno de Cindio.

Dottorando
Pasquale Alfano



A handwritten signature in black ink, corresponding to Pasquale Alfano.

Ringraziamenti

Un ringraziamento immenso v`a al Prof. de Cindio, che in soli 3 anni ha contribuito notevolmente a formare la persona che oggi sono. Una Docente che per le opportunit`a datomi (3 anni fa disse che non me ne sarei pentito; da buon profeta ha avuto ragione) e l'entusiasmo dimostratomi, sia per la sua professionalit`a che per la sua semplicit`a e disponibilit`a, mi ha introdotto in vasti ed enormemente interessanti ambiti scientifici e lavorativi.

Un ringraziamento v`a all'intero gruppo di ricerca di Reologia, per avermi sopportato tutto il giorno.

Per il presente lavoro di tesi occorre ringraziare la Dr.ssa Rita Muzzalupo e Lorena Tavano, per la parte sperimentale riguardante lo studio di permeazione in vitro ed un ringraziamento a Cesare Oliverio per essere stato da cardine con i precedenti.

Un doveroso ringraziamento v`a alla Dr.ssa Rossella Girimonte ed a Vincenzino Vivaqua per la loro piena disponibilit`a ad utilizzare la loro strumentazione per lo studio granulometrico, per altro occupando anche intere giornate.

Introduzione

Le microemulsioni sono un particolare esempio di sistemi dispersi, costituiti da due fasi liquide immiscibili tra loro, che si differenziano dalle emulsioni essendo caratterizzate da un valore molto basso delle dimensioni delle particelle disperse ($20 < \mu\text{Emu} < 200\text{nm}$). Ciò è realizzato grazie all'utilizzo di surfactanti e cosurfactanti che rendono quasi nulla la tensione interfacciale.

I surfactanti costituiti da una testa idrofila e una coda idrofoba, riescono a interporre tra la fase acquosa e quella oleosa, rendendo minima la tensione interfacciale e stabilizzando quindi il sistema. Generalmente però non è possibile ottenere l'area interfacciale richiesta con l'uso di un singolo surfactante.

Se, invece, viene addizionato al sistema un cosurfactante, anch'esso sostanza amfilica, gli effetti possono essere sommati. Gli alcoli a media catena, che sono comunemente addizionati come cosurfactanti, hanno l'effetto di ridurre la tensione interfacciale e nello stesso tempo, aumentando la fluidità dello strato interfacciale, incrementano l'entropia del sistema. Gli alcoli a media catena aumentano anche la mobilità della catena idrocarburica, portando ad una maggiore penetrazione dell'olio e facilitando, di conseguenza, la veicolazione del principio attivo utilizzato.

Le microemulsioni quindi rispetto alle emulsioni, presentano una maggiore stabilità termodinamica. Le microemulsioni sono stabili nel tempo e sono insensibili alle variazioni di temperatura. Le emulsioni sono opache mentre le microemulsioni sono trasparenti grazie al fatto che le goccioline della fase dispersa, di dimensioni colloidali da 2nm a $2\mu\text{m}$, non permettono la rifrazione della luce.

Altra differenza importante è costituita dal fatto che le emulsioni richiedono una grande quantità di energia al contrario delle microemulsioni che si formano spontaneamente.

Le microemulsioni hanno generato un considerevole interesse come "drug delivery systems"; ovvero, sistemi per la veicolazione dei principi attivi, in grado di controllarne la velocità di rilascio, prolungando la durata dell'attività terapeutica e/o indirizzando il rilascio del principio attivo ad un tessuto specifico.

Quindi questi sistemi sono in grado di liberare il principio attivo nell'organismo in quantità e a velocità controllata realizzando una terapia più efficace. I vantaggi associati con le microemulsioni includono la stabilità termodinamica, la trasparenza ottica e la facilità di preparazione. L'esistenza di microdomini di differente polarità all'interno della stessa fase permette la solubilizzazione di materiali lipofili, idrofili e amfilici.

I principi attivi incorporati nelle microemulsioni si distribuiscono tra le fasi, acquosa e idrofobica, in funzione del loro coefficiente di ripartizione. Sono stati riportati numerosi studi

nei quali l'aumento della solubilità del principio attivo nella fase dispersa ha permesso di produrre un sistema riserva che dà origine ad un rilascio prolungato e sostenuto del principio attivo stesso. Molti studi suggeriscono che la velocità di diffusione di un principio attivo all'interno del veicolo e, di conseguenza, la velocità di rilascio, sono limitate dalla struttura interna della microemulsione, che rallenta il passaggio del principio attivo da una fase all'altra. E' possibile quindi affermare che la capacità di rilascio di una microemulsione è legata alla mobilità del principio attivo nel veicolo.

La dispersione di un principio attivo in goccioline di dimensioni nanometriche aumenta la velocità di dissoluzione nella fase continua, e in vivo generalmente porta ad un aumento della biodisponibilità del principio attivo.

Recentemente si è posta molta attenzione sull'applicazione topica delle microemulsioni che sono assorbite rapidamente per semplice massaggio. Le microemulsioni grazie alla loro stabilità ma soprattutto per la loro piacevole trasparenza hanno assunto un ruolo sempre più importante nel campo cosmetico e farmacologico.

Rassegna letteraria

Il presente lavoro di Dottorato si concentra sulle proprietà e le applicazioni di sistemi di microemulsioni ed in particolare sulle proprietà di veicolazione di principi attivi.

Poiché da tempo che si ha la continua ricerca di sistemi in grado di:

- ✓ incorporare p.a. con diverso grado di lipofilia
- ✓ aver azione di “penetration enhancer” dei tensioattivi impiegati
- ✓ essere in grado di modificare la biodisponibilità dei p.a. veicolati

Di ritardo, microemulsioni sono diventati un popolare soggetto e stanno emergendo rapidamente le applicazioni, questo stimola ulteriormente gli studi. La storia delle microemulsioni è stata piena di alti e bassi ed è stata coinvolta in molte accese controversie. Il nome "microemulsioni" in sé, non ha contribuito fortemente alla confusione.

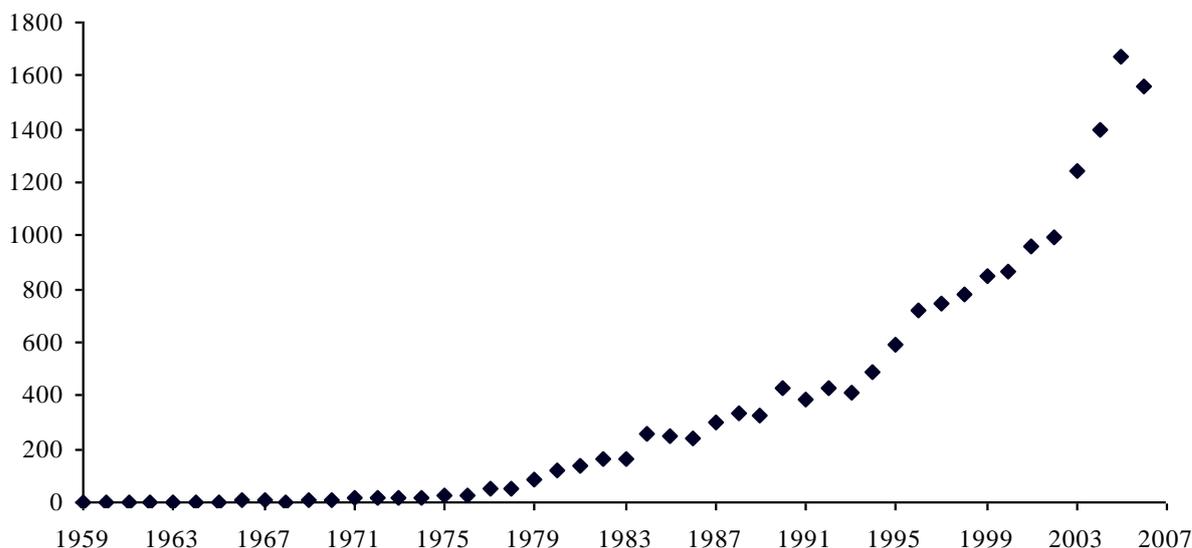


Figura 1 Numero di pubblicazioni dalla scoperta delle Microemulsioni ad oggi

Il primo documento sulla microemulsioni apparso nel 1943 da Hoar et al., ma era Schulman e collaboratori che hanno proposto per primi la parola "microemulsione" nel 1959. Da allora, il termine microemulsioni è stato usato per descrivere i sistemi multicomponente comprendenti composti apolari, componenti acquosi, miscela di tensioattivi, e cosurfactanti. Le aree di applicazione delle microemulsioni sono aumentate notevolmente nel corso degli ultimi decenni. Ad esempio, le principali aree industriali sono fabbricare nanoparticelle, il recupero del petrolio, il controllo dell'inquinamento e industrie alimentari e farmaceutiche, come descritto nel capitolo I.

RINGRAZIAMENTI

INTRODUZIONE

RASSEGNA LETTERARIA : NASCITA DEL PROBLEMA

CAPITOLO I _ EMULSIONI E MICROEMULSIONI

Emulsione: descrizioni	pag.1
Microemulsioni: definizione e concetti	pag.5
Applicazioni delle microemulsioni.....	pag.7
L'importanza della formulazione	pag.11
Qualità della formulazione	pag.14
Impiego del co-Surfactante.....	pag.15
Bibliografia capitolo	

CAPITOLO II _ PROPRIETÀ DELLE MICROEMULSIONI

Introduzione alle proprietà.....	pag.18
Microemulsioni come Drug delivery system.....	pag.19
Comportamento di fase nelle microemulsioni	pag.20
Proprietà di trasporto	pag.20
Alcoli semplici e il loro ruolo nella struttura e nella interazioni della microemulsione	pag.21
Organizzazione molecolare in alcool liquidi puri.....	pag.22
L'interfaccia.....	pag.23
Concetto di HLB nelle microemulsioni	pag.24
Surfattanti	pag.27
Il concetto percolazione e la Rigidità del film	pag.31
Conclusioni	pag.32
Bibliografia capitolo	

CAPITOLO III _ SISTEMA DI VEICOLAZIONE

Sistema di veicolazione	pag.36
-------------------------------	--------

Considerazione sulla formulazione per applicazioni farmaceutiche	pag.37
Fase oleosa	pag.37
Tensioattivo	pag.39
Co-surfactante.....	pag.40
Fase acquosa.....	pag.42
Agente da veicolare	pag.43
Applicazioni per assorbimento cutaneo.....	pag.44
Potenziati meccanismi per aumentare il trasporto derma/trans derma	pag.45
Meccanismo di assorbimento cutaneo	pag.45
Assorbimento: legge di Fick.....	pag.47
Principi di controllo del Drug Delivery	pag.48

CAPITOLO IV _ CAPSAICINA: PROPRIETÀ, IMPIEGHI, TOSSICITÀ

Cenni preliminari	pag.55
Classificazione del frutto	pag.55
Struttura e composizione	pag.56
Capsaicina e capsaicinoidi.....	pag.57
Tossicità della capsaicina	pag.59
Attività biologica e meccanismo d'azione.....	pag.60

Recettore TRPV 1: cenni farmacologici

Estrazione ed isolamento	pag.63
--------------------------------	--------

Metodi di estrazione utilizzati: Solventi

Solubilità della Capsaicina nel solvente d'interesse

Resa di estrazione su prodotto secco industriale

Metodi di estrazione ad alto rendimento: CO₂ Supercritica (SCF)
..... pag.65

Solubilità della Capsaicina in CO₂ Supercritica

Applicazioni attuali..... pag.67

Bibliografia capitolo

CAPITOLO V _ PROPRIETÀ REOLOGICHE: VISCOSITÀ DEI SISTEMI

Principi di reometria pag.71

Generalità sulla viscosità pag.76

Andamento della viscosità apparente (fluido pseudoplastico)

Dipendenza dalla temperatura

Dipendenza dalla pressione

Viscosità: definizione ed applicazione pag.85

CAPITOLO VI _ MATERIALI E METODI

Scelta della microemulsione e relativa preparazione..... pag.88

Costruzione del diagramma pseudoternario IPM/ Acqua + Eth / Tween80/ Span80
..... pag.88

Descrizione dei componenti della microemulsione pag.91

Preparazione e descrizione delle fasi pag.92

Descrizione studio granulometrico pag.98

Descrizione permeazione in vitro pag.99

Strumenti utilizzati per le misure reologiche pag.100

CAPITOLO VII _ DESCRIZIONE DELLA PARTE SPERIMENTALE

Introduzione alla parte sperimentale..... pag.103

Caratterizzazione dei sistemi pag.

Studio granulometrico

Viscosità delle Microemulsioni

Conducibilità elettrica

Permeazione cutanea	pag.124
Quadro riassuntivo.....	pag.131
CONCLUSIONI, APPLICAZIONI E SVILUPPI	pag.135

CAPITOLO I

Introduzione

Emulsioni: definizioni

Le emulsioni sono sistemi dispersi, cioè eterogenei, costituiti da due fasi liquide immiscibili tra loro. Possiamo distinguere emulsioni olio in acqua (O/W, Oil/Water) ed emulsioni acqua in olio (W/O, W/O). Nel primo tipo l'olio rappresenta la fase dispersa (o discontinua o interna) e l'acqua la fase disperdente (o continua o esterna); il contrario avviene per le emulsioni W/O. Di particolare importanza sono le emulsioni multiple (W/O/W e O/W/O), sistemi polidispersi, nei quali, nel caso di un sistema W/O/W, microgocce d'acqua sono intrappolate in gocce d'olio e quest'ultime sono disperse in mezzo acquoso, l'inverso accade per un sistema O/W/O. Da un punto di vista teorico, le emulsioni multiple possono essere considerate sistemi vescicolari, nei quali è possibile incapsulare ingredienti attivi nella fase più interna. I vantaggi di tale incapsulazione sono molteplici e rendono il sistema veicolare interessante da un punto di vista scientifico per la grande capacità di veicolare molecole di interesse. Nel settore cosmetico sono state riscontrate le seguenti proprietà: elevata capacità di incapsulazione, protezione delle sostanze fragili e possibilità di veicolare sostanze incompatibili tra loro in un unico sistema. Esistono anche emulsioni silconiche (W/S) in cui la fase lipidica è costituita prevalentemente da siliconi. Tali possibilità offrono il vantaggio di poter realizzare formulazioni nelle quali si raggiungono livelli di gradevolezza, tollerabilità cutanea e funzionalità molto elevati. Emulsioni gel, ottenibili con l'impiego di emulsionanti polimerici (Carbopol 1342); si rompono sulla pelle liberando l'olio contenuto il quale va a formare un film uniforme sull'epidermide cui imprime emollienza senza giungere all'untuosità. Emulsioni lamellari, in cui l'emulsionante, in genere di natura fosfolipidica, si dispone in doppio strato intorno alle particelle della fase dispersa. Infine esistono forme cosmetiche nanostrutturate come le microemulsioni, caratterizzate da un'ulteriore riduzione delle dimensioni delle particelle disperse (<100nm), che permettono di veicolare e rilasciare meglio alcune sostanze attive. Le microemulsioni (*par., microemulsioni*) sono otticamente trasparenti e termodinamicamente stabili, in quanto la tensione interfacciale tende a valori prossimi allo zero, grazie alla presenza di un alcool a corta media catena (cosurfactante) oltre all'agente tensioattivo. Le microemulsioni rispetto alle emulsioni, presentano una maggiore stabilità termodinamica.(Fig.1). Le emulsioni sono opache mentre le microemulsioni sono trasparenti grazie al fatto che le goccioline della fase dispersa, di dimensioni colloidali da 1nm a 1µm, non permettono la rifrazione della luce. Altra differenza importante è costituita dal

fatto che le emulsioni richiedono una grande quantità di energia al contrario delle microemulsioni che si formano spontaneamente.

CONFRONTO	Emulsione	Microemulsione
caratteristiche cromatiche	bianca	trasparente
dimensione particelle	> 1000 nm	<100 nm
formazione	omogenizzazione	spontanea
stabilità termodinamica	no	si

Figura 1 Confronto dei due sistemi

Per stabilire il tipo di emulsione in esame, si può ricorrere a vari metodi:

- ✓ diluizione: se una data emulsione è diluibile in acqua (ad es., latte, maionese) è di tipo O/W; nel caso contrario è di tipo W/O (ad es., burro, margarina);
- ✓ uso di coloranti: un'emulsione addizionata con un colorante idrosolubile (ad es., blu di metilene), risulterà uniformemente colorata se è di tipo O/W. Se il colorante aggiunto all'emulsione è iposolubile (ad es., sudan - non per uso alimentare), si avrà colorazione uniforme se l'emulsione è di tipo W/O;
- ✓ uso di indicatori : quelli che virano in acqua, vireranno in emulsioni O/W (ad es. il cloruro di cobalto, azzurro, in acqua vira al rosa) e non vireranno in emulsioni W/O
- ✓ uso di carta da filtro : le emulsioni che lasceranno l'alone untuoso saranno quelle W/O, viceversa se non è presente alone si tratterà di emulsioni O/W .
- ✓ conducibilità elettrica: poiché l'olio, al contrario dell'acqua conduce la corrente elettrica in misura estremamente ridotta, è ovvio che solo le emulsioni di tipo O/W permetteranno il passaggio di corrente fra due elettrodi;
- ✓ fluorescenza: la maggior parte degli oli, e quindi le emulsioni W/O, emettono fluorescenza se eccitati con radiazioni elettromagnetiche di opportuna lunghezza d'onda.

Un problema fondamentale consiste nel prevedere il tipo di emulsione che si formerà dalla agitazione di due fasi immiscibili, e ciò dipende da vari fattori:

1. **volume di fase:** è il rapporto tra la percentuale della fase acquosa e quello della fase oleosa. L'entità di questo fattore è legata alla tendenza delle goccioline, che costituiranno o dovranno costituire la fase dispersa, a coalescere, ovvero a riunirsi tra loro per ricostituire una fase continua. In particolare, poiché la coalescenza aumenta in misura proporzionale al numero di goccioline disperse, la fase presente in quantità maggiore avrà maggior tendenza a costituire la fase continua. D'altra parte, con opportuni tensioattivi e per determinati valori di viscosità, si può limitare fino al 10% la percentuale di fase continua nell'emulsione; tuttavia, queste emulsioni sono poco stabili in quanto la fase presente in quantità maggiore avrà sempre la tendenza a divenire la fase continua, con inversione dell'emulsione ad es. da O/W a W/O.
Ma non è comunque raro che si abbiano emulsioni in cui la fase continua sia percentualmente minore della fase discontinua, così, in pratica in alcuni cosmetici si arriva al massimo ad un 60% di fase continua.
2. **viscosità delle fasi:** la fase più viscosa si suddividerà meno facilmente producendo un minor numero di goccioline e quindi avrà maggior tendenza a costituire la fase continua.
3. **tensioattivi:** l'azione emulsionante di un tensioattivo si può spiegare facilmente pensando che costituisce una sorta di "ancoraggio" tra le goccioline che costituiscono la fase discontinua ed il liquido che costituisce la fase continua.

Per prevedere l'azione prodotta da un tensioattivo sulla dispersione di due liquidi immiscibili, si ricorre alla regola di Bancroft: *“la fase continua è quella in cui il tensioattivo è più solubile”*.

La regola di Bancroft, trova il suo fondamento teorico ove si consideri che l'abbassamento della tensione superficiale di un liquido ne favorisce la frammentazione in gocce; sicché, se mescoliamo due liquidi immiscibili tra loro addizionandovi un tensioattivo, questo ridurrà in misura minore la tensione superficiale del liquido in cui è più solubile (la riduzione della tensione avviene alla superficie di un liquido) e sarà quindi questo liquido che si comporterà da fase esterna.

Gli emulsionanti sono sostanze a “doppia affinità idrofila-lipofila” che hanno la proprietà di ridurre la tensione interfacciale e di produrre film interfacciali meccanicamente stabili. L'iniziale piccola quantità di emulsionante si pone all'interfaccia. Man mano che si unisce emulsionante al sistema, si forma un equilibrio tra “micelle di emulsionante” ed emulsionante solubilizzato. Quando il sistema è saturato con l'emulsionante, cioè alla c.m.c.

(concentrazione micellare critica), la formazione di micelle diventa predominante. Ulteriori aggiunte di emulsionante formano solo micelle, per cui l'efficacia pratica dei tensidi come agenti emulsionanti inizia solo alla c.m.c.

La c.m.c. decresce per :

1. aumento della linearità della molecola di tensioattivo;
2. diminuzione nel numero di gruppi ionici della molecola;
3. aumento degli atomi di carbonio nella catena idrocarburica;
4. posizione del gruppo ionico nella molecola di tensioattivo (la c.m.c. decresce a
5. posizione del gruppo ionico si sposti dal centro alla fine della molecola);
6. l'aggiunta di un anello benzenico alla frazione lipofila della molecola;
7. eliminazione dei gruppi polari del tensioattivo;
8. diminuzione del grado di saturazione della molecola.

Nella selezione di un emulsionante è importante considerare che il materiale produttore la più bassa c.m.c., tende a formare un'emulsione più stabile. Inoltre l'emulsionante che produce le micelle più piccole tende a produrre particelle emulsionate più piccole ed emulsioni più stabili.

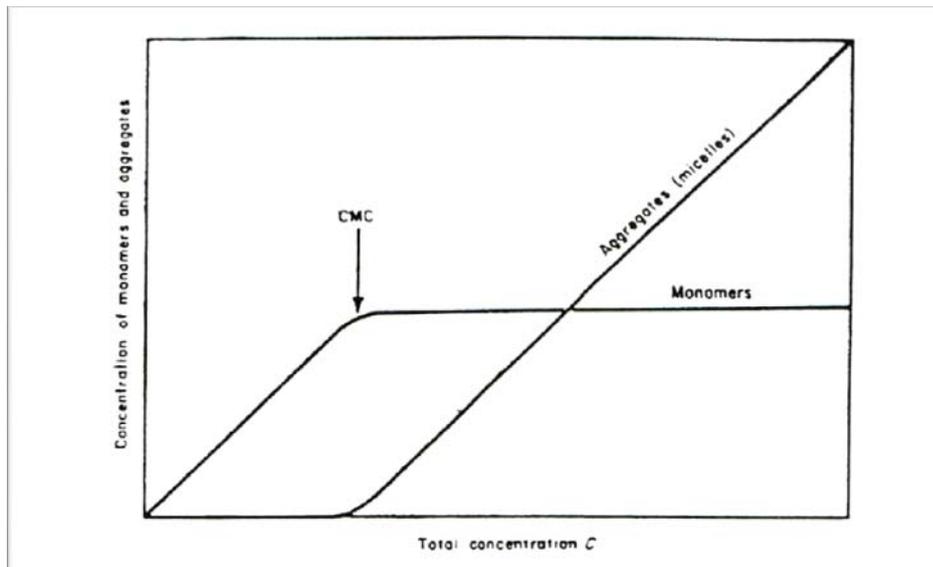


Figura 2 Concentrazione del monomero e degli aggregati in funzione della concentrazione di tensioattivo

I principali fattori che influenzano i valori della c.m.c. sono legati sia alla struttura chimica del tensioattivo che alla natura del solvente e ad altri parametri come pressione, temperatura, forza ionica della soluzione, pH.

La forma degli aggregati non è necessariamente di tipo sferico, si possono avere altre tipiche forme di aggregati micellari:

sferiche, discoidali, cilindriche, lamellari, vescicolari. Queste ultime addirittura vengono considerate degli aggregati sovramolecolari a sé stanti e sono dette, appunto, vescicole o liposomi se gli anfifili costituenti sono gli stessi delle membrane biologiche, cioè i fosfolipidi. Per spiegare la possibilità di avere diverse forme di aggregati è necessario fare alcune considerazioni di carattere geometrico. Infatti le principali forze che governano l'aggregazione spontanea di anfifili, cioè la formazione di micelle, bistrati, vescicole, ecc., derivano dalle interazioni idrofobiche fra le catene idrocarburiche che inducono le molecole ad associarsi e dall'opposta natura dei gruppi idrofili che impongono alle molecole di rimanere in contatto con l'acqua. Questi due tipi di interazione sono fra loro competitivi ed agiscono come forze opposte soprattutto nella regione interfacciale; l'una, infatti, tende a diminuire e l'altra ad aumentare l'area del gruppo polare esposto alla fase acquosa [1].

Microemulsioni. definizione e concetti

L'essenziale distinzione tra emulsione normale ed una microemulsione è la dimensione delle particelle e la stabilità; la prima è cineticamente stabile mentre la seconda è "Termodinamicamente stabile". La stabilità delle microemulsioni può essere influenzata da aggiunta di sale, da altri additivi, dalla temperatura o dalla pressione. L'età, delle normali emulsioni, dipende dalla coalescenza delle goccioline e dalla maturazione di Ostwald (trasferimento di materiale proveniente da piccole goccioline di quelle di maggiori dimensioni), processi spontanei che portano ad un calo di energia libera di dispersione (il sistema è intrinsecamente termodinamicamente instabile).

La stabilità termodinamica delle microemulsioni è stato proposto da Ruckenstein e Chi [2] ritenendo che l'energia libera di formazione comprende l'interfaccia libera energia, l'interazione di energia tra goccioline e l'entropia di dispersione. L'energia di interazione tra goccioline ha dimostrato di essere trascurabile e l'energia libera di formazione può essere zero o negativa, anche se la tensione è di ordine di $10^{-2}/10^{-3}$ mN / m.

Sono stati anche studiati il bilancio di temperatura idrofilo - lipofilo (HLBT) o la temperatura di inversione di fase (PIT) in cui si ha la massima solubilizzazione di olio in acqua e le ultra basse tensioni interfacciali raggiunte [3,4].

Microemulsioni possono essere preparate da controllate aggiunte di alcoli minori (butanolo, Pentanolo e esanolo) in emulsioni di latte per la produzione di soluzioni trasparenti comprendente sia le dispersioni di acqua in olio (W/O) che olio in acqua (O/W) in dispersioni nanometriche o colloidali (~ 100 nm).

Gli alcoli minori, chiamati co-surfactanti, riducono la tensione interfacciale tra olio e acqua ad un livello sufficientemente basso, favorendo quasi la formazione spontanea di microeterogenei sistemi. La miscibilità tra olio, acqua e molecole amfifiliche (tensioattivo più co-surfactante) dipende dalla composizione globale specifiche del sistema. Diagrammi di fase sia ternari che quaternari possono descrivere le manifestazioni di cambiamento di fase e sono essenziali per lo studio di microemulsioni.

Nell'ultimo decennio, nell'ambito della tecnologia farmaceutica e cosmetica è aumentato notevolmente l'interesse per i "drug delivery systems". In particolare hanno suscitato una notevole attenzione le microemulsioni. La bassa tensione interfacciale necessaria per la formazione spontanea delle microemulsioni si ottiene grazie all'aggiunta di cosurfactanti alla formulazione (Amorosa, 1995). Le microemulsioni sono superiori alle semplici soluzioni micellari, in termini di potenziale di solubilizzazione e, rispetto alle emulsioni, presentano una maggiore stabilità termodinamica (D'Cruz J.O. et al., 2001).

Le emulsioni infatti vanno incontro ad un processo di invecchiamento determinato da due fattori: coalescenza delle goccioline e maturazione di Ostwald (trasferimento di materiale dalle gocce più piccole a quelle più grandi - Attwood D., 1994). Inoltre le emulsioni sono opache mentre le microemulsioni sono trasparenti grazie al fatto che le goccioline della fase dispersa, di dimensioni colloidali (da 1 nm a 1 μm), non permettono la rifrazione della luce (Amorosa, 1995). L'altra differenza importante tra microemulsioni ed emulsioni è costituita dal fatto che le emulsioni richiedono una grande quantità di energia al contrario delle microemulsioni che si formano spontaneamente. Questo ovviamente è importante quando si considera il costo della produzione commerciale dei due tipi di sistemi (Lawrence M. J. et al., 2000).

Le microemulsioni possiedono una microstruttura ben definita che è determinata da diversi fattori di natura chimica e fisica. Per capire come tale struttura si forma, è utile innanzitutto considerare le proprietà in soluzione delle sostanze amfifiliche e in particolare dei surfactanti. Le molecole di un surfactante convenzionale comprendono una testa polare e una coda apolare. Disperso in acqua, il surfactante si assembla spontaneamente in una molteplicità di fasi, in equilibrio fra loro, la natura delle quali deriva direttamente dalle varie forze intra- ed intermolecolari ma anche da fattori entropici. I surfactanti si assemblano spontaneamente anche in solventi non acquosi e in questo caso l'orientazione delle molecole del surfactante è inversa rispetto a quella adottata nella soluzione acquosa. Questa ri-orientazione serve a ottimizzare la solvatazione delle molecole e quindi a minimizzare l'energia libera totale del sistema. Quando un surfactante è incorporato in una miscela olio/acqua, le sue molecole

possono localizzarsi all'interfaccia tra le due fasi e ciò risulta molto favorevole dal punto di vista termodinamico. Quello che risulta è una microemulsione otticamente isotropica.

Tra le diverse forme farmaceutiche gli idrogeli, le sospensioni acquose e le emulsioni O/A si comportano sulla pelle come mezzi acquosi, mentre gli unguenti, le paste anidre e le emulsioni A/O funzionano come sistemi lipidici. Possono essere indicate due situazioni estreme, il veicolo possiede un'alta tensione di vapore (alcoli, eteri...) e risulta volatile dopo breve tempo dall'applicazione lasciando sulla pelle un film sottile di farmaco, oppure il veicolo resta sulla superficie cutanea senza cambiare composizione (vaselina ed analoghi sistemi occlusivi). Fra questi due estremi si collocano vari tipi di veicoli. Se evapora la componente acquosa del veicolo variano sia la struttura del veicolo che la concentrazione del farmaco. Il fenomeno è tipico delle emulsioni O/A in cui si verifica la perdita dell'acqua ed un effetto raffreddante. Nel caso delle emulsioni A/O, invece, l'acqua evapora più lentamente e l'effetto raffreddante è minore mentre l'effetto occlusivo è più marcato per la maggiore affinità dell'emulsione A/O nei riguardi dei lipidi di superficie.

Applicazioni di microemulsioni

Vi è stata una rivoluzione negli ultimi due decenni nell'utilizzo di sistemi microemulsione in una varietà di processi chimici e industriali. Nel presente lavoro verrà studiato e sviluppato il comportamento di particolari sistemi di base di microemulsioni per applicazioni farmaceutiche e cosmetiche. Di seguito viene fornito un breve elenco delle possibili applicazioni, al fine di dimostrare la loro importanza e potenzialità:

1. Microemulsioni nel recupero degli idrocarburi

Circa il 20% del petrolio, altrimenti irrecuperabile nel sottosuolo, può essere ottenuto dal processo di EOR (enhanced oil recovery). Il petrolio rimane intrappolato nel serbatoio a causa di un'alta tensione superficiale (circa il 20-25 mN / m) fra il petrolio greggio e la fase acquosa presente nel serbatoio stesso. Se la tensione interfacciale può essere ridotta a circa 10^{-3} mN / m, una parte sostanziale del residuo del petrolio nei setti porosi in cui è intrappolato può essere mobilitato. A bassa viscosità di interfaccia del sistema questo sistema è anche vantaggioso. In un processo di allagamento tensioattivo-polimero, viene iniettata una formulazione di surfactanti nei setti porosi del serbatoio contenente petrolio. Al momento della miscelazione con l'olio serbatoio ed il liquido presente, il tensioattivo produce la microemulsione in situ tra l'olio in eccesso e l'eccesso del liquido che si propaga attraverso il serbatoio di petrolio.

2. Microemulsioni come carburanti

Uno dei vantaggi diretti di microemulsione a base di carburanti è la presenza di acqua in una microemulsione stabile e questi sono usati con successo per ridurre la formazione di fuliggine. Quando l'acqua è vaporizzata durante la combustione, questo abbasserà il calore prodotto e la temperatura di combustione. Come diretta conseguenza, il tasso di emissioni di gas come gli ossidi di azoto (NO_x) e monossido di carbonio (CO) diminuirà. Una varietà di microemulsioni sono progettati come sistemi di alimentazione, composti da 1-butanolo, diesel e water.

3. Microemulsioni come lubrificanti, oli da taglio e inibitori di corrosione

La presenza di tensioattivi in microemulsione causa inibizione della corrosione e l'incremento del contenuto d'acqua rispetto al petrolio puro porta ad una capacità termica superiore. Da un lato gli agenti corrosivi, a causa della solubilizzazione nella microemulsione non possono reagire con la superficie metallica e, dall'altro, la superficie metallica è protetta da un adsorbimento del film di tensioattivo idrofobico. Tuttavia, la solubilizzazione è selettiva, e in alcuni casi, altri meccanismi potrebbero svolgere un ruolo nella prevenzione corrosione. In microemulsioni, l'acqua con conducibilità termica molto più elevata, conferisce maggiore capacità termica al sistema stesso.

4. Microemulsioni come rivestimenti e finiture tessili

A causa della loro stabilità e della dimensione ridotta delle gocce, le microemulsioni sono l'ideale, dove la stabilità e l'omogeneità del prodotto finito sono le caratteristiche che ci si aspetta. La formulazione delle resine che utilizzano microemulsioni hanno mostrato maggiore resistenza nel meccanismo di raschiamento, miglioramento dell'intensità del colore e più resistenza alle macchie rispetto ai preparati di emulsioni.

5. Microemulsioni in detergenza

A causa delle loro caratteristiche proprietà, le microemulsioni sono sistemi promettenti per gli scopi di detergenza oltre ai solventi organici tradizionalmente utilizzati, in quanto possono solubilizzare composti polari (ad esempio, sale, pigmenti, proteine) e componenti non-polari del suolo (ad esempio, grasso, olio). Essi hanno una bassa tensione interfacciale (tra le fasi acquosa ed oleosa) e si possono formare spontaneamente quando i componenti vengono portati assieme.

6. *Microemulsioni nei cosmetici*

In molte applicazioni cosmetiche sono ampiamente utilizzati come prodotti per la cura della pelle, in cui l'acqua rappresenta la fase continua. Si crede che la formulazione della microemulsione si tradurrà in un assorbimento più veloce nella pelle. Costo, sicurezza e selezione degli ingredienti (tensioattivi ed oli) sono fattori chiave nella formulazione delle microemulsioni.

7. *Microemulsioni in prodotti agrochimici*

La maggior parte dei prodotti agrochimici, non sono solubili in acqua e diventano disattivati con l'acqua. La formulazione di microemulsione O/W è molto vantaggiosa. La goccia con dimensioni molto più ridotte della microemulsione porta ad una maggiore penetrabilità, ad un'area di contatto molto più ampia della sostanza attiva nella superficie trattata ed ad una distribuzione molto più uniforme nel corso applicazione. L'infinita stabilità della microemulsione e l'alta concentrazione di tensioattivi in generale sono necessari per una vantaggiosa formulazione.

8. *Microemulsioni negli alimenti*

Alcuni alimenti contengono microemulsioni naturali. Microemulsioni come uno stato funzionale di lipidi sono stati, pertanto, utilizzati nella preparazione dei cibi. Microemulsioni naturali si formano nell'intestino durante la digestione e l'assorbimento di grassi.

La possibilità di produrre microemulsione ed usarle come strumenti nei prodotti alimentari è, tuttavia, un settore trascurato in tecnologia alimentare. L'applicazione principale rimane, tuttavia, come sistema di rivestimento dei frutti e come sistemi di protezione di vitamine ed altri micro composti alimentari.

9. *Microemulsione nel settore farmaceutico*

Maggiore assorbimento dei farmaci, modulazione della cinetica di rilascio del farmaco e diminuita tossicità sono i principali vantaggi nel processo di rilascio dei farmaci. La facile formazione, la notevole stabilità indipendente dell'ambiente, l'ottima capacità di solubilizzazione, sono punti a favore delle microemulsioni e possono essere una proposta migliore rispetto ad altri sistemi emulsionati. La fase dispersa, lipofila od idrofila (O/W oppure W/O), può agire come un potenziale serbatoio di farmaci lipofili od idrofili, i quali possono essere partizionati tra le fasi disperse e le fasi di continue.

10. Microemulsioni nel risanamento ambientale e disintossicazione

Le ricerche hanno dimostrato che le microemulsioni sono molto efficaci nel risanamento ambientale. Nel lavaggio convenzionale del suolo, gli inquinanti organici sono staccati dal suolo come particella da un input di energia meccanica. Questo provoca un aumento dell'assorbimento di contaminanti a grana fine, che deve poi essere depositato o bruciato. Il lavaggio con l'acqua in presenza di tensioattivi può essere un'altra tecnica, in cui il processo di solubilizzazione è coinvolto nella il meccanismo di lavaggio. Una microemulsione intensifica i vantaggi della soluzione concentrata di tensioattivo, favorendo il calo di tensione interfacciale e di crescente bagnabilità del suolo ed agisce come un eccellente solvente per sostanze organiche polari e apolari.

11. Sintesi di setti Microporosi (tecnica gel di microemulsione)

Gel di microemulsione sono importanti come alternativa alla gelificazione di microemulsioni con collagene o lecitine. Questi mezzi possono essere utili nella filtrazione di strutture microporose polimeriche e per le applicazioni di assorbimento. Microemulsioni non acquose sono stati utilizzati anche per preparare gel, al fine di valutare l'influenza della polarità del mezzo sulle proprietà del gel finale.

12. Microemulsioni in applicazioni analitiche

Applicazioni di microemulsioni sono stati estesi al campo delle tecniche di analisi, vale a dire. cromatografia, spettroscopia laser fotoionizzazione eccitati, caratterizzazione di idrofobicità del soluto di microemulsione in cromatografia elettrocinetica (MEEKC). Le microemulsioni sono in grado di migliorare le tecniche spettroscopiche di analisi e di funzionamento dei mezzi di solubilizzazione, di spostamento spettrale dei reagenti e di amplificazione d'intensità agenti.

13. Microemulsioni come membrane liquide

Due liquidi immessi in un mezzo liquido od in un sistema a sostegno poroso formano una membrana liquida. Il trasporto di materiali attraverso la fase intermedia (membrana) dipende dalla strada (complessazione o intrappolamento con agenti) di trasferimento del soluto da una sede, chiamato il fase “sorgente” (S) all'altra chiamata “fase ricevente” (R).

Le microemulsioni di Winsor I (O/W) e Winsor II (W/O) possono essere utilizzate come membrane liquide, le quali possono facilitare il trasferimento di soluti attraverso la cattura in “microgocce” per un adeguato assorbimento e successivo rilascio.

14. Microemulsioni nel settore della biotecnologia

Microemulsioni sono vantaggiose rispetto agli altri sistemi di equilibrio multifase, a causa della simultanea solubilizzazione dei reagenti polari e apolari nella stessa soluzione, lo spostamento della posizione di equilibrio della reazione e della separazione dei prodotti.

Le applicazioni sono limitate e concentrate in:

- ✓ *Le reazioni enzimatiche in microemulsioni*
- ✓ *Immobilizzazione di proteine in microemulsione*
- ✓ *Microemulsioni per bio-separazione*

L'importanza della formulazione

La formulazione è importante perché le proprietà del sistema tensioattivo-olio-acqua in generale e la formazione di microemulsioni sono molto sensibili ad esso e leggere deviazioni della formulazione può dar luogo a drastici cambiamenti di proprietà. Di conseguenza, la formulazione deve essere controllata con precisione, questo è molto impegnativo a causa del numero elevato di gradi di libertà, in ogni caso pratico. La formulazione è importante nel determinare il comportamento di fase, ma spesso ci si limita ad una semplice descrizione di ciò che accade all' interfaccia olio / acqua.

La più semplice microemulsione deve contenere una fase organica (O), una fase acquosa generalmente acqua (W), e di un tensioattivo (S) ad una data temperatura (T) e pressione (p). Ciò significa che almeno cinque variabili sono necessarie per descrivere il sistema. In pratica, la situazione è molto più complicata. La fase acquosa contiene sempre elettroliti. Peraltro, oli e così come quasi tutti i tensioattivi sono miscele commerciali. Nella maggior parte dei casi, in particolare con sistemi tensioattivi ionici, un co-tensioattivo (ad esempio, un alcol (A)) è aggiunto, tra le altre funzioni, per ridurre la rigidità dello strato tensioattivo e quindi a prevenire la formazione delle mesofasi gel-like.

Quando le miscele sono trattate con alcune approssimazioni consentono di diminuire il numero di variabili. Tuttavia, questo è non il caso generale e in molti casi i cosiddetti fenomeni di frazionamento ed i diversi componenti si comporteranno in modo indipendente gli uni dagli altri. In questo caso, l'effettivo numero di componenti potrebbe essere (molto) più

grande di tre o quattro. Si noti che tutte le variabili che descrivono la natura dei componenti, nonché T e p sono intensivi, vale a dire che non dipendono quantitativamente, ragione per la quale sono stati chiamati formulazione variabili. Se n componenti sono inclusi, (n - 1) la composizione variabili indipendenti sono tenuti a quantitativamente descrivere il contenuto del sistema. Nel caso ternario più semplice (Fig 3), le variabili sono spesso scelte per essere tensioattivo e rapporto di concentrazione acqua-olio- (WOR) 3 [5], ma è possibile schematizzare anche sistemi quaternari, in cui vengono rappresentati sia il sistema surfactante-olio-acqua e sia il cosurfactante. Questo è il motivo per cui una trattazione numerica della formulazione è così importante per confrontare le formulazioni, per compensare gli effetti e per prevedere le nuove ricette. Questo è particolarmente degno di nota perché la varietà di formulazioni è molto più grande di quella delle proprietà, quindi, ci sono spesso diverse formulazioni, ma con analoghe conseguenze sulle sue proprietà, nel rispetto della specifica applicazione pratica. Una accurata formulazione è estremamente utile non solo per produrre le microemulsioni, ma per adeguare le loro proprietà, come, ad esempio, la loro capacità di solubilizzazione od il raggiungimento di una bassa proprietà interfaciale per diminuire la tensione emulsione o per migliorare il recupero degli idrocarburi.

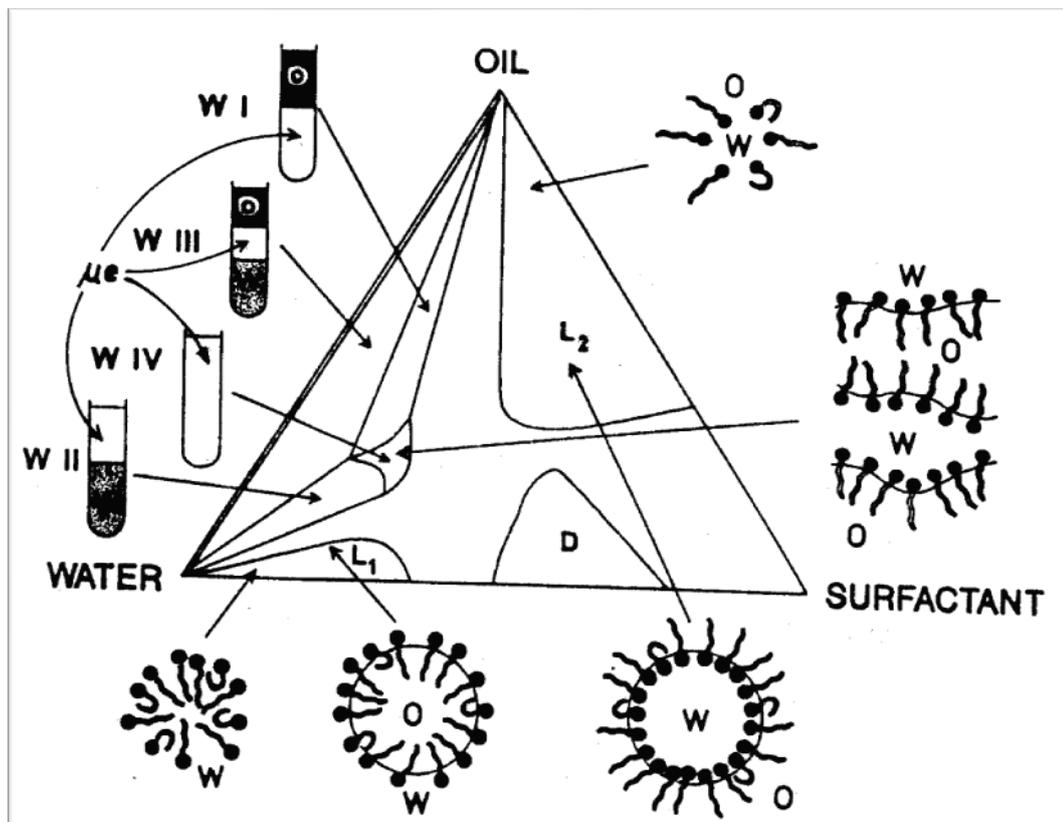


Figura 3 Schema di fase di un sistema ternario, acqua (A)–olio (B)–surfactante (C) a temperature and pressione costante, che rappresenta la classificazione di Winsor e le probabili strutture interne. L_1 singola fase (O/W), L_2 (W/O), D fase cristallina

La formulazione ha dimostrato di essere anche in collegamento diretto con le proprietà delle emulsioni, come il tipo, la stabilità, la viscosità, dimensioni delle gocce [6] e l'efficienza del protocollo dell' emulsione [7].

La superficie solida bagnante è anche collegata con la formulazione, nonché con molte applicazioni correlate. Questo è il motivo per cui una accurata trattazione numerica della formulazione è di primaria importanza nella ricerca industriale e di sviluppo.

Le miscele ternarie di acqua – tensioattivo – olio e le miscele quaternarie in cui è presente un co-tensioattivo possono manifestare fasi con caratteristiche sensibilmente diverse, a seconda di fattori quali composizione, temperatura, pressione. Winsor [8] ha descritto queste caratteristiche. Le miscele sopra citate possono essenzialmente ricadere in cinque categorie:

- 1) dispersioni di olio in acqua (O/W) in contatto essenzialmente con olio (Winsor I);
- 2) dispersioni di acqua in olio in contatto essenzialmente con acqua (Winsor II);
- 3) domini continui di acqua ed olio in contatto con acqua e olio (Winsor III);
- 4) singola fase omogenea di dispersioni O/W e W/O non in contatto con altre fasi (Winsor IV).
- 5) singola fase omogenea di domini continui di acqua ed olio non in contatto con altre fasi (Winsor V).

La quinta categoria è stata aggiunta in seguito alla catalogazione originale di Winsor riportata in Fig.4.

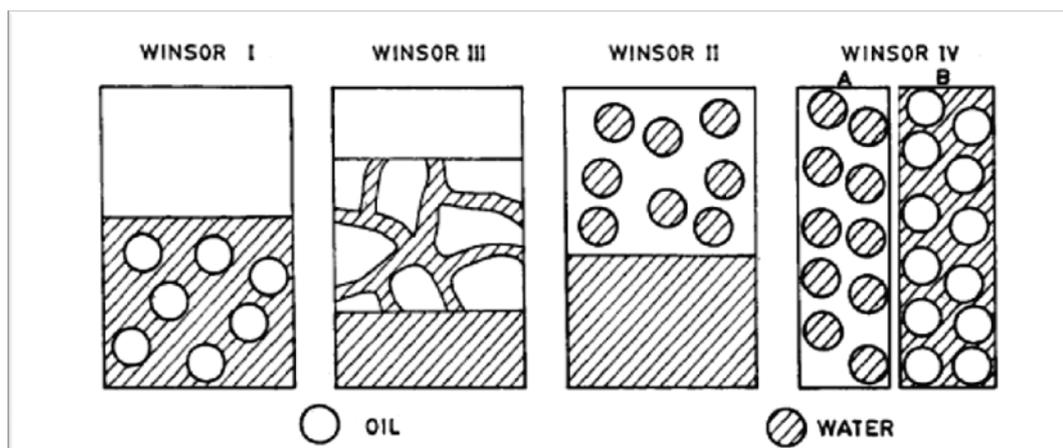


Figura 4 Classificazione di Winsor

Aggiustando le proporzioni dei costituenti si può ottenere la conversione di un tipo nell'altro. L'evoluzione della struttura della microemulsione può essere varia e complessa, possono

tuttavia essere individuati alcuni punti chiave. A bassi valori di concentrazione acquosa è necessaria una piccola quantità di tensioattivo per favorire la dispersione. In genere, in questi casi, si forma una dispersione sferica di nanogocce di acqua circondate di tensioattivo in un mezzo continuo d'olio (fasi tipo Winsor II). Al contrario, per composizioni a bassa percentuale d'olio ed alta percentuale d'acqua è plausibile la formazione di una dispersione sferica di nanogocce di olio in mezzo ad un continuo d'acqua (fasi tipo Winsor I). Aumentando la concentrazione del tensioattivo si ha un incremento della dimensione delle gocce, unita alla distorsione della forma sferica [9]; a quantità paragonabili di acqua ed olio può formarsi una coesistenza simultanea di dispersioni. Questo stato è chiamato “bicontinuo” e può essere considerato come un network casuale di domini di olio ed acqua intrecciati, separati dal tensioattivo; una struttura simile ad una spugna (fasi tipo Winsor III) [10], così come rappresentato in figura 4.

Un interessante metodo per l'analisi della microstruttura è la misura della conducibilità elettrica. Questa è vicina al valore di conducibilità dell'acqua in caso di microemulsione O/W e molto bassa in caso di microemulsione W/O. La misura di conducibilità elettrica è un mezzo potente per individuare lo stato bicontinuo [11]. Monitorando la conducibilità elettrica al variare della composizione del sistema si può verificare un andamento sigmoidale nel passaggio da dispersioni di olio in acqua a dispersioni di acqua in olio. In corrispondenza della brusca variazione di conducibilità si ha l'evidenza dell'inversione di fase. E' noto che il passaggio da dispersioni acqua in olio ad olio in acqua avviene attraverso la formazione di uno stato bicontinuo. Perciò le composizioni che si trovano sulla soglia di variazione della conducibilità danno origine a queste microstrutture. La viscosità è un indice del tipo di struttura che la microemulsione presenta. Microstrutture ad alto grado di aggregazione (cubiche, lamellari) presentano alte viscosità; dispersioni O/W e W/O hanno viscosità paragonabili a quelle dei mezzi continui che ospitano la dispersione [12].

Qualità della formulazione

L'espressione generalizzata di una formulazione, per esempio come il rapporto R (*rapporto di Winsor, energia di interazione tra la molecola di tensioattivo adsorbito nelle vicinanze della fase oleosa e di molecole d'acqua*), indica che esistono molte possibilità di raggiungere $R = 1$ o $HLD = 0$ (*hydrophilic-lipophilic deviation*), vale a dire molti modi per raggiungere un formulazione ottimale. Alla formulazione ottimale, la quantità di tensioattivi per raggiungere il punto X è essenzialmente la quantificazione della sua capacità di solubilizzare fluidi

immiscibili in uno unico e quindi una fase di misura della qualità del sistema. Un altro modo di guardare il rendimento è quello di misurare l' altezza della regione multifasica triangolare in un diagramma a determinati WOR, ad esempio, WOR = 1. Esso è stato dimostrato che l'altezza minima è raggiunta quando la regione è di multifasica è di tipo III. Dato che la minima tensione interfacciale ha dimostrato essere inversamente proporzionale alla solubilizzazione, una maggiore capacità di solubilizzazione coincide con una minore tensione interfacciale [13]. Il concetto di qualità è quindi importante, nella pratica, ed è per questo che ha attirato l'attenzione dei ricercatori negli ultimi decenni [14].

Impiego del co-Surfactante

Questo componente, in primo luogo, contribuisce alla formulazione generale, agendo come un co-tensioattivo e in secondo luogo, come un co-solvente. Vale la pena di notare che la lipofilia del co-tensioattivo aumenta con la lunghezza della catena di carbonio (n-butano <n-pentano <n-esano <n-eptano). Come la maggior parte degli alcoli, in partizioni di fase in acqua od olio, si comporta come un co-solvente o linker.

Il cotensioattivo, generalmente un alcol a catena lineare, agisce sulla struttura della micella diminuendo la rigidità della parete micellare in entità direttamente proporzionale alla sua concentrazione e inversamente proporzionale al numero di atomi di carbonio della catena. Per effetto dell'azione del cotensioattivo la parete micellare diventa più elastica (minore rigidità), e può inglobare maggiori quantità di acqua aumentando le sue dimensioni, favorendo così il processo di nucleazione. L'effetto dell'incremento del rapporto molare è quello di favorire il processo di nucleazione/idrolisi dell'acqua rispetto al meccanismo di crescita, provocando una diminuzione delle dimensioni proporzionale all'aumento del rapporto molare [15].

Il terzo ruolo dell'alcol è la sua qualità come co-solvente, ogni volta che la maggior parte delle percentuali in acqua (metano ed etano) o olio (n-esano alcool o più a seconda della fase di petrolio). L'alcol modifica la polarità della fase in cui è sciolto e, di conseguenza, tende a ridurre l'intrinseca incompatibilità tra l'olio e acqua, come indicato dall'abbassamento della tensione interfacciale. Alcuni alcoli sono suscettibili alla formazione di una singola fase, che non deve essere confusa con una microemulsione, a causa della mancanza di una struttura definita. Questo è probabilmente ciò che accade con etano o 2-butossietano per il quale oltre il 50% tende a raggiungere la regione monofase [16,17].

In conclusione la scelta di una migliore formulazione, svolge un ruolo significativo nella costituzione di sistemi stabili di microemulsioni.

Bibliografia

1. **E. Santacesaria; M. Visca;** “Chimica fisica dei colloidi e delle interfaci”; Ed. P.F.C.S.,1985
2. **Ruckenstein, E. and Chi, J. C.,** J. Chem. Soc., Faraday Trans.2, 1975, 71, 1690
3. **Shinoda, K. and Kunieda, H.,** J. Colloid Interface Sci., 1970, 33, 215;
4. **Shinoda, K. and Friberg, S.,** Adv. Colloid Interface Sci., 1975, 4, 281
5. **Salager, J.L.** Formulation concepts for the emulsion maker. In F. Nielloud and G. Marti- Mestres (eds), Pharmaceutical Emulsions and Suspensions. Marcel Dekker, New York, (2000)pp. 19–72
6. **Salager, J.L.** Emulsion properties and related know-how to attain them. In F.Nielloud and G. Marti-Mestres (eds), Pharmaceutical Emulsions and Suspensions. Marcel Dekker, New York, (2000) pp. 73–125
7. **Perez, M., Zambrano, N., Ramirez, M., Tyrode, E. and Salager, J.L.** Surfactant–oil–water systems near the affinity inversion. Part XII: Emulsion drop size versus formulation and composition. J. Dispersion Sci. Technol., (2002) 23, 55–63
8. **Winsor;** Trans. Faraday Soc., vol. 44 (1948), p.p. 376
9. **Eicke, Borkovec, Dasgupta;** J. Phys. Chem., vol. 93 (1989), p.p. 314
10. **Frontell, Hernqvist, Larsson et al.;** J. Colloid Interf. Sci., vol. 93 (1983), p.p. 453
11. **Kotlarchyk, Chen;** J. Chem. Phys., vol. 79 (1983), p.p 2461
12. **Chen, Evans, Ninham;** J. Phys. Chem. Vol.88 (1984) p.p. 1631-1634
13. **Huh, C.** Interfacial tension and solubilizing ability of a microemulsion phase that coexists with oil and brine. J. Colloid Interface Sci., (1979) 71, 408–426
14. **Salager, J.L., Anton, R.E., Sabatini, D.A., Harwell, J.H., Acosta, E. and Tolosa, L.;** Enhancing solubilization in microemulsions – state of the art and current trends. J. Surfactants Detergents, (2005) 8, 3–21
15. **F. J. Arriagada and K. Osseo-Asare.** Controlled hydrolysis of tetraethoxysilane in a nonionic water-in-oil microemulsion: a statistical model of silica.. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 154 (3):311-326, 1999
16. **Lim, K.-H. and Smith, D.H.;** Experimental test of catastrophe theory in polar coordinates: Emulsion inversion for the ethanol/benzene/water system. J. Colloid Interface Sci., (1991) 142, 278–290

17. **Lee, J.-M., Lim, K.-H. and Smith, D.H.**; Formation of two-phase multiple emulsions by inclusion of continuous phase into dispersed phase. *Langmuir*, (2002) 18, 7334–7340

Libri di testo utilizzati

Microemulsions: Background, New Concepts, Applications, Perspectives. Edited by Cosima Stubenrauch © 2009 Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 978-1-405-16782-6

Introduzione alle proprietà

Le microemulsioni si formano spontaneamente, sono termodinamicamente stabili ed omogenee a bassa viscosità, e le soluzioni sono otticamente isotrope. Queste macroscopiche miscele omogenee sono invece sistemi eterogenei su scala nanometrica e con caratteristiche proprietà.

A causa delle loro proprietà uniche, le microemulsioni sono state utilizzate in una varietà di applicazioni tecnologiche, tra cui la tutela dell'ambiente, la formazione di nanoparticelle, formulazioni di prodotto per la cura personale, sistemi di somministrazione di farmaci e mezzi chimici di reazione. Nella maggior parte delle applicazioni industriali, l'uso di sistemi con tensioattivi misti sistema è preferibile rispetto all'uso del tensioattivo puro. Le determinazioni del comportamento di fase tra acqua / miscela di tensioattivi / fase oleosa è particolarmente significativo per eventuali applicazioni. Lo studio del comportamento di fase mista di tensioattivi non ionici in acqua e olio, hanno dimostrato che la quantità di tensioattivi presenti tra l'interfaccia acqua - olio determina la portata d'acqua e la solubilizzazione reciproca dell'olio.

Questa quantità di tensioattivi dipende da diversi fattori, quali la struttura chimica di tensioattivo, l'eventuale idrofilia, dalla solubilità monomeriche dei tensioattivi in olio e acqua e dalla presenza di additivi. Si è constatato che l'acqua in olio (w / o), aumenta drammaticamente la solubilizzazione quando si mescolano i tensioattivi non ionici ed anche

che la concentrazione totale di tensioattivi necessaria per solubilizzare, a parità di quantità di acqua e olio, aumenta con l'aumento della lipofilia (peso molecolare) dell'olio. Diverse e complesse dinamiche che sono fortemente dipendenti dalla termodinamica del sistema (ad esempio, la composizione e la microstruttura risultante) e la dinamica delle molecole che lo costituiscono sono caratteristiche delle microemulsioni. La struttura delle microemulsioni possono essere idealizzate come un insieme di interfacce che divide i domini polari e apolari.

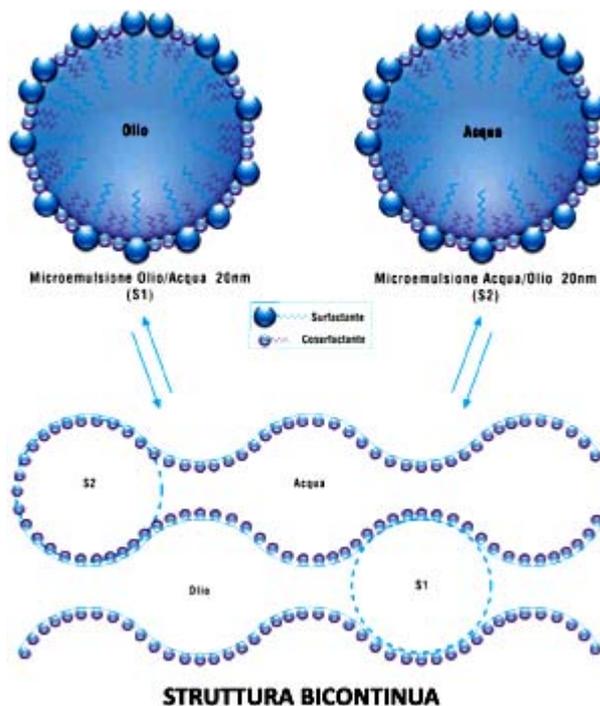


Figura 1 Struttura dinamica della microemulsione

Miscela di acqua, olio, e un tensioattivo

mostrano una ricca varietà di microstrutture, che vanno da micelle sferiche, micelle “rodlike”, e microemulsioni bicontinue ordinate a fasi liquide cristalline. A seconda della composizione del sistema di olio, acqua e agente tensioattivo (s), la microstruttura di una microemulsione può esistere come gocce w / o, gocce o / w, o una struttura bi continua. La comprensione delle proprietà della microemulsione è necessaria per qualsiasi applicazione scientifico/industriale, quindi molto lavoro è stato fatto negli ultimi dieci anni in questo particolare settore. Varie tecniche sono state impiegate per una sempre migliore caratterizzazione, tra cui conduttività elettrica, viscosità dinamica, velocità ultrasonica, dispersione della luce (dinamica e statica), gradiente di risonanza in spettroscopia magnetica nucleare (NMR), metodi di scattering piccolo angolo-(SAS) ed altri. A queste metodiche viene associata la ricerca delle proprietà reologiche dei sistemi di microemulsione.

Microemulsioni come “Drug Delivery System”

L'uso di microemulsioni è vantaggiosa non solo a causa del basso costo e per la facile preparazione, ma anche per il miglioramento della biodisponibilità. L'aumento di assorbimento di principi attivi o farmaci per applicazioni topiche è attribuita al rafforzamento della penetrazione attraverso la pelle da parte del vettore. Acidi grassi saturi e insaturi, utilizzati come fase oleosa, sono spesso utilizzati come stimolatori di penetrazione cutanea. Il più popolare enhancer è acido oleico. Altri enhancers di permeazione comunemente utilizzati in formulazioni trans dermici, sono l'isopropil Miristato (utilizzato nella nostra ricerca), palmitato di isopropile, triacetina, isostearylic isostearate, R (+)-limonene e trigliceridi a catena media. Il più popolare per il miglioramento della permeabilità tra i tensioattivi sono i fosfolipidi che hanno dimostrato un notevole miglioramento nella permeazione di farmaci secondo diverse modalità. I diversi tensioattivi comunemente usati sono il Tween 20, Tween 80 (utilizzato nella nostra ricerca), lo Span 20, lo Span 80 (utilizzato nella nostra ricerca), l'Azone, il Plurol Isostearique ed il Plurol Oleique. Come cosurfactanti comunemente vengono utilizzati alcoli a catena corta come l'etanolo ed il glicole propilenico. Alcoli a catena lunga, specialmente 1-butanol, sono noti per la loro attività e per il miglioramento delle caratteristiche del sistema. Molti stimolatori sono concentrazione-dipendente e, quindi, la concentrazione ottimale per una promozione efficace deve essere determinata. Il tasso di rilascio dipende dal tipo di principio attivo, dalla struttura e dagli ingredienti del vettore, e dal carattere della membrana in uso. Ogni formulazione dovrebbe essere esaminata con molta attenzione, perché ogni membrana altera il meccanismo di penetrazione e può trasformare un “enhancer” in un rallentatore. La combinazione di diverse tecniche di miglioramento come l'utilizzo di ionoforesi con acidi grassi porta alla penetrazione sinergica di principi attivi

capace di diminuire la tossicità a livello cutaneo. In conclusione, le microemulsioni sono state trovate come un efficace veicolo di solubilizzazione di alcuni farmaci e come mezzo per proteggere diverse sostanze dalla degradazione, dall'idrolisi e dalla ossidazione. Essa può anche fornire un rilascio prolungato del farmaco, nonostante l'irritazione ed evitare la tossicità del farmaco. Eppure, a dispetto di tutti i vantaggi presenta diverse caratteristiche chiave importanti nella propria formulazione, come la definizione dei tensioattivi cosmetici ammessi, la capacità di diluizione in acqua, la stabilità e la sufficiente capacità di solubilizzazione [1].

Comportamento di fase nelle microemulsioni

Un certo numero di fattori influenzano la solubilizzazione in acqua mista a tensioattivi non ionici, in particolare le miscele di oli che includono il tipo di tensioattivi, il rapporto di mescolamento tensioattivi, la presenza di additivi come alcoli o elettroliti e la temperatura. Una delle principali applicazioni dei tensioattivi è l'utilizzazione come additivi per migliorare le loro proprietà. Tra questi additivi, l'alcol occupa un posto speciale ed è il più frequentemente utilizzato. La presenza di alcol influenza l'entità delle regioni delle microemulsioni e della loro struttura interna. Il ruolo degli alcoli in microemulsioni è essenzialmente la capacità di ritardare la comparsa di fasi liquido cristalline, di aumentare la fluidità ed il livello di interfaccia di separazione olio e acqua e di diminuire la tensione interfacciale tra la fase di microemulsione e l'olio in eccesso e l'acqua, e per aumentare il loro carattere dinamico.

Proprietà di trasporto

La microstruttura di (w/o) microemulsioni viene ragionevolmente ben descritta in termini di goccioline sferiche [2],[3],[4]. Finora, con frazione crescente di volumi di acqua, le discrepanze rispetto al modello sferico sono state discusse in termini di forti interazioni interparticellare, di transizioni microstrutturali, di comportamenti di percolazione e temperatura-dipendente [5], [6]. Ammassi di goccioline che, a loro volta, generano reticoli d'acqua in tutta la fase w/o sono prodotte da interazioni a breve raggio. In conseguenza, si verificano importanti modifiche delle proprietà di trasporto, come la conducibilità elettrica e viscosità dinamica. I fenomeni sono stati descritti in termini di "percolazione" [7], [8]. Secondo il modello di percolazione, la conduttività rimane bassa fino a una certa frazione di volume (ϕ_c) di acqua a temperatura costante, fino a quando la temperatura non raggiunge un valore T_c a percentuale in volume di acqua costante ϕ , o quando aumenta il rapporto molare acqua-tensioattivo. Si deve sottolineare che a questa conduttività le goccioline, sotto valori ϕ_c , sono isolate le une dalle altre ed incorporate in una fase d'olio continua non conduttiva e

quindi contribuiscono molto poco alla conduttanza. Tuttavia, quando il volume di frazione d'acqua raggiunge la soglia di percolazione ϕ_c , alcune di queste goccioline conduttrici iniziano a formare cluster, poiché sono sufficientemente vicine le une alle altre. Il numero di tali aggregati aumenta molto rapidamente sopra la soglia di percolazione ϕ_c , dando luogo a dei cambiamenti di proprietà evidenziati, in particolare dell'aumento della conduttività elettrica.

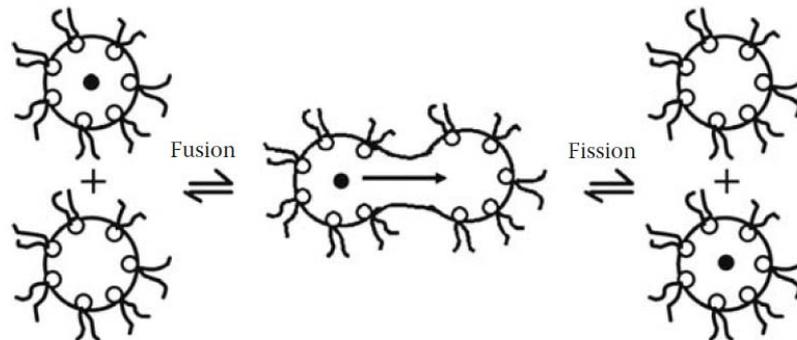


Figura 2 Dinamica degli aggregati

La conducibilità elettrica sopra valori di ϕ_c è stata attribuita al trasferimento di contro-ioni da una goccia ad un'altra attraverso i canali di apertura tra le gocce d'acqua durante le collisioni viscosse attraverso la fusione transitoria delle goccioline [2]. L'esistenza e la posizione di tale soglia dipende dalle interazioni tra goccioline che controllano la durata della collisione e il grado di sovrapposizione di interfaccia, e quindi la probabilità di fusione. La costruzione della conducibilità necessita di interazioni attrattive e la ϕ_c diminuisce quando la forza di queste interazioni tra le goccioline aumenta, come previsto da recenti calcoli teorici [7]. Un modello teorico è quello di Safran et al. [8], che si basa su sequenze dinamiche di percolazione.

Una transizione di percolazione era stata prevista in microemulsioni farmaceuticamente, utilizzabili come sistemi preparati a partire da acqua e IPM ed utilizzando tensioattivi misti come riportato da Podlogor et al. [11]. In uno studio [12] si è riportato che la viscosità delle microemulsioni è influenzata dal rapporto di mescolamento di tensioattivi misti. Essi hanno inoltre osservato che la presenza di additivi influenza la viscosità del microemulsioni.

Alcoli semplici e il loro ruolo nella struttura e nella interazioni della microemulsione

Sistemi di microemulsione con la loro struttura interna nel dominio colloidale sono stati oggetto di numerosi studi teorici e sperimentali per la loro stessa ampia applicabilità. Il nome "microemulsione" è stato introdotto da Hoar Schulman nel 1943, come nome di un sistema che si presenta chiaro e trasparente ed è ottenuto per titolazione di una emulsione bianco latte

con un alcol a media-lunghezza della catena (ad esempio, 1-pentanol o 1-esanolo). Una definizione più generale del termine "microemulsione" è stato dato da Danielsson e Lindman, che ha descritto come un sistema composto da acqua, olio e una componente amfifiliche, essendo una soluzione liquida otticamente isotropa e termodinamicamente stabile. Molecole amfifiliche di un tensioattivo in un sistema di microemulsione, provvede specificamente a formare una superficie di interfaccia tra la componente d'acqua e l'olio, che sono altrimenti immiscibili. Vari co-surfactanti possono essere aggiunti al sistema, al fine di migliorare la solubilizzazione dell'olio e l'efficienza del tensioattivo. Alcoli più semplici sono spesso utilizzati per questo scopo e, quindi, i fenomeni legati alla loro incorporazione nella microemulsione hanno attirato molta attenzione. Come pure alcoli semplici mostrano alcune interessanti livelli molecolari di struttura.

Organizzazione molecolare in alcool liquidi puri

Proprietà di sistemi binari acqua/alcool

Chiaramente i sistemi binari alcol/acqua, già con un comportamento piuttosto complesso, rappresentano il primo passo evolutivo verso un più complesso sistema ternario (microemulsione). Anche se per quest'ultime è l'interesse principale nella caratterizzazione si è scelto di lavorare sulle miscele binarie, perché per comprendere il loro comportamento è fondamentale avere una percezione della situazione, utilizzabile successivamente anche in sistemi più complessi ottenuti da loro.

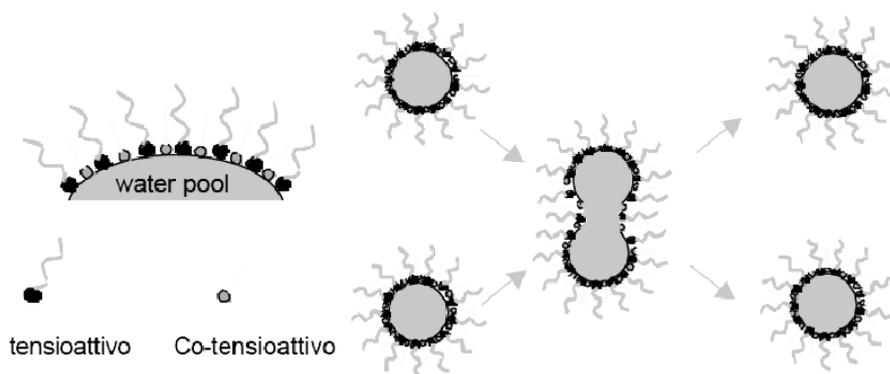


Figura 3 Effetti del co-tensioattivo

Una gran mole di lavoro con differenti tecniche sperimentali e teorici è stata effettuata in passato per la caratterizzazione di miscele binarie di liquidi semplici, come alcoli con acqua [13], [14], [15]. Miscele di acqua con alcol una a catena breve fino a 1-propanolo [16], [17], [15] sono state studiate estesamente. Tuttavia, si possono anche trovare alcuni studi simili con alcoli a catena lunga, che sono praticamente insolubili in acqua [19], [20], [21], [22], [23]. La

motivazione di tale lavoro è dovuta nell'anomalo comportamento di tali miscele. Infatti, quando alcoli semplici sono mescolati con l'acqua, l'entropia del sistema sembra aumentare molto meno di quanto previsto per una soluzione ideale di molecole casualmente mescolata [24], un fenomeno che è anche chiaramente evidenziato dal comportamento anomalo di alcune proprietà misurabili. Inoltre, si possono trovare due modi completamente diversi per spiegare queste proprietà anomale discusse in letteratura, che rende queste miscele binarie particolarmente interessanti.

L'interfaccia

Per definizione, “l'interfaccia” è la sottile regione che separa due fasi (due liquidi, un solido e un liquido o due solidi), mentre con il termine “superficie” ci si riferisce esclusivamente alla regione che divide due fasi di cui una è gassosa; tuttavia i due vocaboli si utilizzano abitualmente come sinonimi, date le numerose analogie (Myers, 1999).

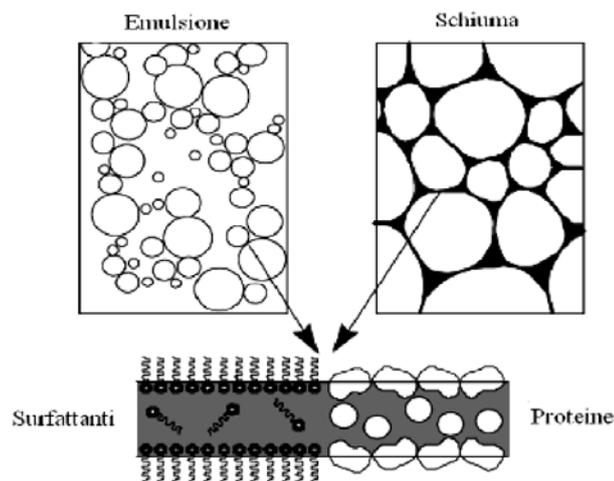


Figura 4 Disposizione dei surfattanti all'interfaccia

Le fasi possono essere costituite da diversi tipi di molecole o soltanto da differenti stati fisici della stessa molecola e le sostanze a spiccata affinità per l'interfaccia possono presentarsi come soluti adsorbiti o come strato insolubile depositato. Il tipo e la concentrazione di molecole in un'interfaccia ne dettano la struttura, le dimensioni, l'energia libera, le proprietà elettriche e reologiche e quindi sono fondamentali nella caratterizzazione di un sistema multifasico.

Esistono diversi tipi di interfaccia, ognuna con un interesse tecnologico specifico. Per esempio, le interfacce liquido/gas (fig.4) sono interessanti nello studio della stabilità delle schiume, quelle tra solido e liquido vengono indagate per capire le modalità di azione dei detersivi, degli adesivi e dei lubrificanti, le interfacce solido/gas sono responsabili dei processi di adsorbimento, catalisi e contaminazione, mentre lo studio di quelle tra due liquidi

permettono di capire cosa avviene durante la detergenza e quali sono le cause dell'instabilità delle emulsioni (Myers, 1999). Ogni molecola ha una propria funzione all'interfaccia. Nelle schiume, al fine di aumentare la stabilità della dispersione delle bolle e prevenire la coalescenza, è bene cercare di aumentare l'elasticità superficiale e lo spessore dello strato adsorbito, ossia favorire la formazione di film proteici. Nelle emulsioni, invece, è opportuno cercare di minimizzare la repulsione elettrostatica, in modo da stabilizzare lo strato adsorbito e prevenire la flocculazione (Golding, 2004). All'interfaccia, gli emulsionanti formano film mobili e sottili. La tensione interfacciale è tanto più elevata quanto più esile è lo strato adsorbito e lo spessore può essere aumentato con l'adsorbimento di ulteriore surfattante o con la migrazione delle molecole di tensioattivo dalle zone a più bassa tensione, verso le aree a ridotto spessore. Dal momento che le proprietà chimico-fisiche del bulk sono dettate anche dalla natura delle interfacce, è importante capire quali sono i fattori che più influenzano la loro composizione: tipologia e quantità di molecole adsorbite sono tra i primi, ma è necessario controllare anche la concentrazione nel bulk, la temperatura, il pH, la forza ionica e tutte le condizioni operative. Ad esempio, per le proteine globulari, all'aumentare della concentrazione nel bulk, aumenta la quantità di molecole adsorbite, perché le maggiori interazioni portano alla formazione di aggregati più velocemente adsorbibili rispetto alla singola proteina. Anche la temperatura gioca un ruolo importante: denaturando le proteine si favorisce la formazione di aggregati, perché incrementa la possibilità di formare legami. Condizioni di pH vicine al punto isoelettrico e forza ionica elevata hanno il medesimo effetto della temperatura riducendo o annullando la repulsione elettrostatica. Molto frequentemente le interfacce sono costituite da differenti tipologie di molecole e per questa ragione è necessario tenere presente le singole velocità e modalità di adsorbimento, le caratteristiche chimico-fisiche e le interazioni possibili. Nel caso di sistemi misti, inizialmente l'interfaccia è costituita dalle molecole che più rapidamente adsorbono e successivamente, con l'arrivo delle altre, evolve fino a raggiungere una situazione di equilibrio in cui i diversi componenti del sistema coesistono.

Concetto di HLB nelle microemulsioni

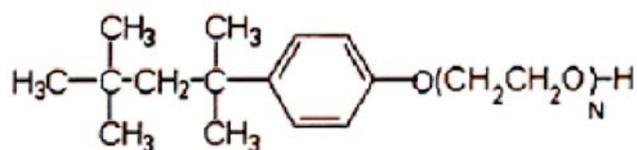
I tensioattivi sono composti all'interfaccia che riducono la tensione interfacciale. Ne consegue dalla termodinamica, che questa proprietà è dovuta alla capacità di questi composti a subire il trasferimento all'interno di un fluido adiacente (liquido o gas). In realtà, questa capacità è solo un fenomeno di adsorbimento. Chiaramente, un accumulo a livello di interfaccia è possibile per le sostanze che consistono di due parti, ciascuno di essi separatamente potrà esporre l'affinità ad una delle fasi di contatto. Tale proprietà è caratteristica di molecole amfifiliche

che possiedono gruppi polari (idrofilici) e apolari (lipofili). Per quanto riguarda le proprietà dei gruppi polari, i tensioattivi possono essere suddivisi in ionici (cationi e anioni e zwitterionici) e tensioattivi non ionici.

$$\begin{aligned} 3 < HLB < 6 &\rightarrow \textit{idrofobico} \rightarrow \textit{stabilizza emulsioni W/O} \\ 8 < HLB < 18 &\rightarrow \textit{idrofobico} \rightarrow \textit{stabilizza emulsioni O/W} \\ HLB < 3 \textit{ e } > 18 &\rightarrow \textit{tende ad accumularsi nelle "bulk phases"} \end{aligned}$$

L'effetto prodotto dal gruppo polare idrofilico del tensioattivo, risulta più importante di quello del gruppo lipofilo, per tale motivo questa sostanza è solubile in acqua. Esso è anche meno attivo superficialmente rispetto a qualsiasi sostanza caratterizzata da un ottimale equilibrio tra le attività di gruppi idrofili e lipofili. Analoghe conclusioni si possono trarre anche per quanto riguarda la solubilità in olio, qui il ruolo del gruppo lipofilo è determinante. Chiaramente, l'efficienza di un tensioattivo non è determinata esclusivamente dall'amfifilicità, ma dipende dall'equilibrio idrofilo / lipofilo (HLB) caratteristica per questo composto. Pertanto, questo equilibrio è una caratteristica importante sia del tensioattivo che nell'interfaccia. Il primo tentativo di stimare tale idrofilia / lipofilia quantitativamente l'equilibrio è stato fatto da Griffin, che ha introdotto una scala di numeri HLB [25]. L'obiettivo iniziale di questa classificazione dei tensioattivi in relazione ai numeri HLB è stata fatta per consentire la scelta ottimale di emulsionanti. Successivamente lo stesso metodo è stato applicato agli agenti bagnanti, detergenti, ecc. L'approccio proposto da Griffin è stato ulteriormente sviluppato e generalizzato in una serie di documenti di revisione [26], presentando i metodi utilizzati per determinare e calcolare i numeri HLB per i tensioattivi vari. Recentemente, il concetto di HLB è stato analizzato da Rusanov [27] e Kruglyakov [28]. La scala HLB di Griffin si estende da 1 (molto lipofila, i.e. oleico acido) a 40 (estremamente idrofilo, i.e. solfato di sodio dodecil), con un valore medio di HLB di 10. Si presume che per la miscela di due o più tensioattivi, il numero HLB dipende dai valori di HLB dei singoli tensioattivi. Pertanto, per determinare il numero HLB per un tensioattivo, in primo luogo deve essere misurata la capacità emulsionante di questa sostanza, e quindi la conoscenza dei valori di HLB della miscela dei due tensioattivi. Per la stabilizzazione di emulsioni O/W, i tensioattivi con i valori di HLB in un range 9-12 sono ottimali, mentre per stabilizzare l'acqua in emulsioni oleose, dovrebbero essere utilizzati emulsionanti con valori di HLB che variano da 4 a 6.

A titolo di esempio, i valori di HLB sono elencati in tabella 1 per i Tritoni X, sostanze con la seguente formula chimica generale:



N è il numero medio di gruppi ossietilenici, and MW è il peso medio molecolare.

<i>Tritons</i>	<i>N</i>	<i>MW</i>	<i>HLB</i>	<i>Triton</i>	<i>N</i>	<i>MW</i>	<i>HLB</i>
X-15	1	250	3.6	X-102	12-13	756	14.6
X-35	3	338	7.8	X-165	16	910	15.8
X-45	5	426	10.4	X-305	30	1526	17.3
X-114	7-8	536	12.4	X-405	40	1966	17.9
X-100	9-10	625	13.5	X-705	70	3286	18.7

Tabella 1 HLB, numero di tritoni X, dati accorati da Sigma Chemical

La stabilità di una emulsione dipende non solo dal tipo di tensioattivo, ma anche dalla natura della fase organica. Tabelle dei valori di HLB per oli vari sono stati pubblicati [25]. Ad esempio, per quanto riguarda l'olio in emulsioni di acqua, il numero necessario HLB è di 17 per l'acido oleico, 15 per toluene, xilene e 14 per l'alcol cetilico, 10.5 a 12 per i minerali oli, 7.5 a 8 per gli oli vegetali, da 5 a 7 per la vaselina, e 4 per paraffina. In [26], i valori necessari di HLB per gli oli vari sono confrontati con la costante dielettrica relativa ϵ dell'olio. Per la serie di idrocarburi saturi, è stata osservata una debole dipendenza inversa tra il necessario valore di HLB ed ϵ [27].

D'altra parte, per vari oli, un leggero aumento del valore necessario di HLB avviene con l'aumento permittività dielettrica. La dipendenza empirica tra il valore necessario di HLB e la tensione di superficie o volume molare di olio sono stati proposti in diversi studi, [28]. Va osservato che i valori HLB necessari e stimati per lo stesso olio con vari metodi possono differire gli uni dagli altri: per esempio, i dati presenti in [29] sono superiori a quelli elencati in [25]. I tentativi di razionalizzare la scala di Griffin da un punto di vista fisico-chimico sono state effettuate in un certo numero di studi. Diverse sono state le correlazioni dimostrato che esistono tra i valori di HLB e la struttura chimica o composizione molecolare dei tensioattivi. Diverse correlazioni sono state anche trovate tra il numero HLB e le proprietà fisico-chimiche dei tensioattivi e loro soluzioni, per esempio, la tensione superficiale, la solubilità, il calore di soluzione, la diffusione ed il coefficiente di distribuzione, la permittività dielettrica del tensioattivo, la concentrazione micellare critica, la schiumosità, ecc Questi studi sono esaminati in [28]. Tuttavia, le correlazioni trovate in genere non sono applicabili, inoltre, il concetto della additività dei valori di HLB in quanto tale per le miscele di tensioattivi o di oli

non può essere provato, quando sperimentalmente le caratteristiche del tensioattivo sono diversi su una gamma più ampia [30]. Un importante contributo al concetto di HLB è stata fatta da Davies [31, 32], dove i valori di HLB non corrispondono ai sistemi modellati come un'entità unica, ma si riferiscono a gruppi (unità strutturali molecolari). Si definiscono per diversi gruppi funzionali, dei valori di g_i che contribuiscono in maniera additiva al calcolo dell'HLB. Una volta che i valori di g_i sono conosciuti, si può calcolare il numero di HLB in accordo con la seguente equazione:

$$HLB = 7 + \sum_i g_i \quad (Eq.1)$$

Per i gruppi idrofili $g_i > 0$, mentre per i gruppi lipofili $g_i < 0$. I valori per alcuni gruppi sono stati calcolati da Davies e sono elencati in tabella n°2.

-SO ₄ Na	38,7	-OH	1,9
-COOK	21,1	-O-	1,3
-COONa	19,1	-(CH ₂ CH ₂ -O)-	0,33
-N ⁺ (term.ammine)	9,4	CH ₃ -, -CH ₂ -, -CH=	-,475
-COOH	2,1	Bemzyl	-1,66

Tabella 2 Valore dei gruppi chimici calcolati da Davies

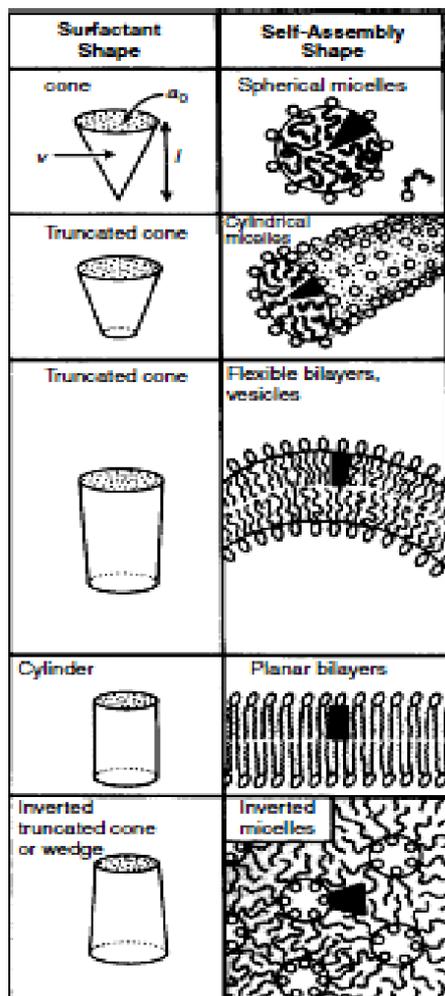


Figura 5 Molecola di surfactante nei diversi stati di aggregazione

E' bene tuttavia ricordare che la valutazione sulla base del solo HLB è comunque approssimata e certamente poco attendibile nel caso di sistemi dispersi complessi, come quelli presenti nei tessuti biologici o negli alimenti.

Surfattanti

Se agitati meccanicamente, i sistemi *liquido/liquido* formano le corrispondenti emulsioni, cioè stati fisicamente eterogenei e termodinamicamente instabili. Il lavoro meccanico si traduce infatti in lavoro di estensione della superficie di separazione. Esso è direttamente proporzionale alla tensione superficiale, γ , all'interfaccia tra fase dispersa e fase continua.

E' possibile ridurre γ aggiungendo al sistema un surfattante, cioè una *sostanza amfifila* costituita da molecole che hanno regioni idrosolubili e regioni liposolubili. Un esempio di surfattante è il comune

sapone da bucato o toiletta: le molecole sono sali sodici di un acido grasso a lunga catena idrocarburica. La *testa* anionica, $-\text{COO}-$, è idrosolubile, mentre la *coda* idrocarburica è liposolubile.

Una molecola di questo tipo si dispone a cavallo della superficie interfacciale tra fase dispersa e fase continua. Nel caso di emulsione O/W le molecole di surfattante dispongono la coda verso l'interno delle gocce, mentre sporgono la testa verso la fase continua acquosa; nelle emulsioni W/O la testa del surfattante guarda l'interno delle gocce, mentre la coda fluttua nella fase continua idrofoba: in questo caso si parla di micelle inverse.

La formazione del sistema disperso a partire da uno stato in cui le due fasi sono massivamente distinte è accompagnato da una variazione della energia di Gibbs ΔG^M scomponibile in due contributi: quello dovuto all'aumento dell'area superficiale ΔG^A e quello dovuto all'interazione tra le particelle formate ΔG^I

$$\Delta G^M = \Delta G^A + \Delta G^I \quad (\text{Eq.2})$$

ΔG^M è funzione del raggio, R , delle gocce della fase dispersa; questa funzione ha un minimo abbastanza allargato in corrispondenza di un valore del raggio di equilibrio R_e che dipende dal rapporto tra concentrazione complessiva di tensioattivo e concentrazione complessiva di fase dispersa: nel caso di micelle inverse, questo rapporto viene indicato col simbolo w .

Il tensioattivo delle microemulsioni viene talvolta coadiuvato da un *cosurfattante*, abitualmente un alcol (pentanolo, esanolo, ecc.), che ha la funzione di accrescere la idrofilicità della superficie micellare.

Le molecole di tensioattivo tendono spontaneamente ad aggregarsi formando strutture micellari in equilibrio termodinamico con quelle solvate singolarmente.



dove M indica l'aggregato micellare e m la singola molecola di tensioattivo. La relativa costante di ripartizione può essere sbrigativamente definita come:

$$K = \frac{c_M}{c_m^n} \quad (\text{Eq.3})$$

La concentrazione totale di tensioattivo è

$$c = nc_M + c_m = nKc_m^n + c_m \quad (\text{Eq.4})$$

Di conseguenza la concentrazione di micelle è

$$c_M = \frac{c - \left(\frac{c}{nK}\right)^{1/n}}{n} \cong \frac{c}{n} \quad (\text{Eq.5})$$

Se si esprime la concentrazione del tensioattivo come multiplo della cosiddetta Concentrazione Micellare Critica, CMC, si osserva che la concentrazione delle micelle è trascurabile se $c < \text{CMC}$, e aumenta linearmente per $c > \text{CMC}$, in accordo con lo schema seguente:

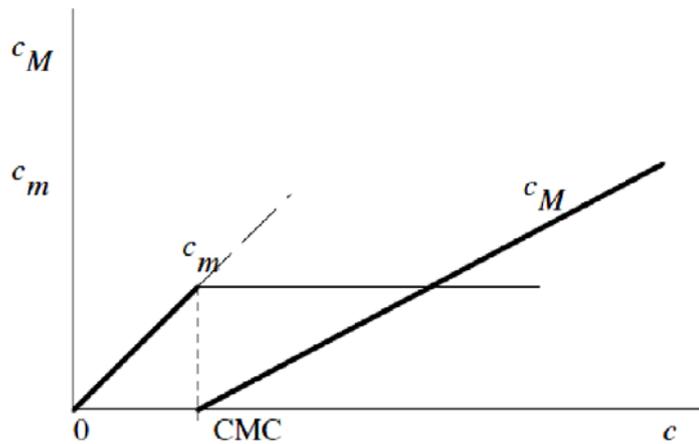


Figura 6 Concentrazione micellare in rapporto alla concentrazione totale

L'aumento della lunghezza della catena idrocarburica della molecola di surfattante riduce CMC:

$$\ln \text{CMC} = a - b n_c \quad (\text{Eq.6})$$

dove n_c rappresenta il numero di atomi di carbonio lungo la estensione della catena. I surfattanti vengono suddivisi in due categorie generali:

- ✓ IONICI (cationici e anionici)
- ✓ NON-IONICI

I primi a parità di lunghezza di catena, i surfattanti cationici e anionici presentano CMC superiori a quelle osservate per i non-ionici. L'aggiunta di elettroliti provoca una riduzione dei valori di CMC.

Nei secondi la solubilità dei tensioattivi non associati è molto bassa rispetto a quello del tensioattivo strutturato in micelle; essa aumenta con la temperatura e diviene elevata al di sopra della CMC, in corrispondenza del cosiddetto punto di Kraft.

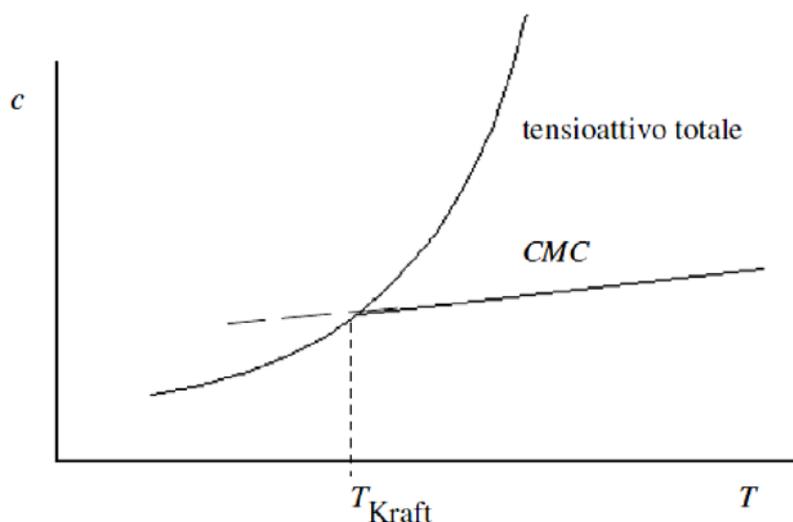
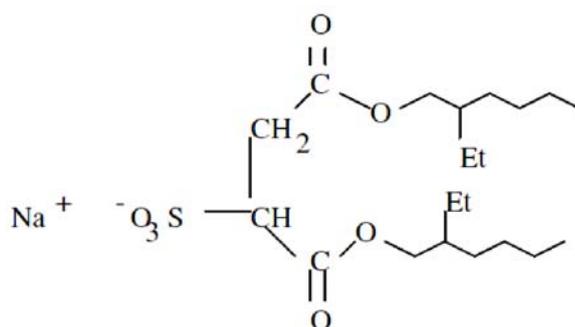


Figura 7 Corrispondenza del punto di Kraft

Due surfattanti ionici (anionici) molto utilizzati nelle sperimentazioni sono il sodio dodecil solfato, $\text{Na}^+\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_3^-$, e sodio bis-etil, esil, sulfosuccinato (aerosol OT, o AOT), capaci entrambi di solubilizzare grandi quantità di acqua in solventi organici.



Nei sistemi biologici e nelle applicazioni alimentari sono invece diffusi surfattanti naturali, come i monogliceridi, gli acidi grassi, i fosfolipidi (lecitine), gli alginati, le proteine (vegetali e animali), con diverse caratteristiche e che condizionano i sistemi in differenti modi.

Molecole piccole	Polisaccaridi	Proteine
<i>Monogliceridi, Acidi grassi, Fosfolipidi (lecitine) e loro esteri</i>	<i>Metil cellulosa, Alginati, Guar, Xantani</i>	<i>Caseinati, proteine del siero di latte, proteine d'uovo, proteine di soia</i>
<ul style="list-style-type: none"> — Tendono a formare strutture lamellari liquido-cristalline — Aumentano la viscosità della fase continua — Riducono l'attivazione di van der Waals — Migliorano le proprietà 	<ul style="list-style-type: none"> — Aumentano la viscosità della fase continua — A basse concentrazioni possono destabilizzare l'emulsione per flocculazione impoverita 	<ul style="list-style-type: none"> — Provocano repulsione sterica — Aumentano la viscosità e l'elasticità dell'interfaccia — Hanno bassa velocità di adsorbimento all'interfaccia

meccaniche della superficie di separazione		
— Formano emulsioni W/O o O/W a seconda della lunghezza della catena idrocarburica, le catene lunghe portano ad emulsioni W/O		

Tabella 3 Tipo di emulsionante e proprietà correlata

Il concetto percolazione e la Rigidità del film

La percolazione è un fenomeno che è stato riportato in centinaia di studi di microemulsioni, in particolare del tipo W/O. Essa si riferisce ad un improvviso aumento della conducibilità del sistema di ordini di grandezza, una volta superata una specifica soglia, il che significa che le proprietà di trasporto degli ioni sono drasticamente modificate. Tali cambiamenti sono di solito indotti variando la temperatura del sistema o del contenuto di acqua. La salinità della fase acquosa e/o la presenza di additivi possono anche svolgere un ruolo importante nel favorire o, al contrario, rendere più difficile nella teoria della percolazione di conducibilità. Le proprietà dinamiche del film di separazione amfifilica olio / acqua è dunque un parametro importante da prendere in considerazione. Questo significa che la soglia percolazione può variare notevolmente da quella prevista dal modello della sfera semplice, questo viene denominato "percolazione dinamica," in contrasto con la percolazione statica. La variazione della conducibilità K può essere rappresentata da due distinte leggi di potenza asintotiche corrispondenti ai sistemi di sopra o al di sotto della soglia di percolazione:

$$K = p (T_c - T)^{-s} \text{ when } T < T_c \text{ and}$$

$$K = p' (T - T_c)^m \text{ when } T > T_c$$

dove P e P' sono costanti, T la temperatura del sistema, e T_c la temperatura critica.

L'effetto sulla conduttività della dinamica del globulo nelle microemulsioni è stato considerato nel modello "percolazione mista". Secondo questo modello, le gocce conduttive si muovono con un coefficiente di diffusione D , si suppone che queste interagiscano attraverso un potenziale di tipo sfera-rigida. Un cluster esistente ad un tempo t scomparirà dopo un tempo $t + \tau_R$ e verranno riorganizzati in diversi cluster a causa del moto browniano.

Tre diverse situazioni possono verificarsi, a seconda del valore del tempo di riordino τ_R (che è in ordine di R^2 / D , dove R è il raggio goccia) e dei tempi tipici di migrazione di carica tra i cluster.

Conclusioni

Le proprietà intrinseche che caratterizzano le microemulsioni, sono di rilevanza fondamentale per definire le interazioni tra le diverse fasi delle microemulsioni.

Inoltre lo studio delle proprietà interfacciali delle miscele acqua/alcol e la buona formulazione, come descritta nel capitolo I, è indispensabile per l'ottenimento di microemulsioni indirizzate ad una determinata applicazione.

Bibliografia

- [1] **Kogan A , Garti N . Un Kogan, Garti N.**, Microemulsion as drug delivery system
- [2] **Moulik, S.P. and Paul, B.K.** 1998 Structure, dynamics and transport properties of microemulsions, *Adv. Colloid Interf. Sci.* 78:99–195
- [3] **Sjoblom, J., Lindberg, R., and Friberg, S.E.** 1996 Microemulsions-phase equilibria characterization, structure, applications and chemical reactions, *Adv. Colloid Interf. Sci.* 95:125–287
- [4] **Tondre, C.** Dynamic processes in microemulsions. In: *Dynamics of Surfactant Self-Assemblies: Micelles, Microemulsions, Vesicles and Lyotropic Phases*. Raoul, Z. (Ed.) Taylor & Francis, Boca Raton, FL, 2005, pp. 233–298
- [5] **Matsumoto, S.P. and Sherman, P.** 1969 The viscosity of microemulsions, *J. Colloid Interf. Sci.* 30:525–536
- [6] **Cametti, C., Codastefano, P., Tartaglia, P., Chen, S.H., and Rouch, J.** 1992 Electrical conductivity and percolation phenomena in water-in-oil microemulsions, *J. Phys. Rev. A* 45:R5358–R5361 and references therein
- [7] **Ponton, A., Bose, T.K., and Delbos, G.** 1991 Dielectric study of percolation in an oil–continuous microemulsion, *J. Chem. Phys.* 94:6879–6886
- [8] **Safran, S.A., Grest G.S., Bug A., and Webman, I.** Percolation in interacting microemulsions. In *Microemulsion Systems*. Rosano, H. and Clause, M. (Eds.) Marcel Dekker Inc., New York, 1987, pp. 235–245
- [9] **Podlogar, F., Gasperlin, M., Tomsic, M., Jamnik, A., and Bester Rogac, M.** 2004 Structural characterisation of water–Tween 40®/Imwitor 308®–isopropyl myristate microemulsions using different experimental methods, *Int. J. Pharm.* 276:115–128
- [10] **Mitra, R.K. and Paul, B.K.** 2005 Physicochemical investigations of microemulsification of eucalyptus oil and water using mixed surfactants (AOT + Brij-35) and butanol, *J. Colloid Interf. Sci.* 283:565–577
- [11] **MacCallum, J. L. and Tieleman, D. P.** (2002). Structures of neat and hydrated 1-octanol from computer simulations. *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 15085–15093
- [12] **Hayashi, H., Nishikawa, K., and Iijima, T.** (1990). Small-angle x-ray scattering study of fluctuations in 1-propanol water and 2-propanol water-systems. *J. Phys. Chem.*, 94, 8338–8338

- [13] **Wensink, E. J. W., Hoffmann, A. C., and van Maaren, P. J.** (2003). Dynamic properties of water/alcohol mixtures studied by computer simulation. *J. Chem. Phys.*, 119, 7308–7317
- [14] **Allison, S. K., Fox, J. P., Hargreaves, R., and Bates, S. P.** (2005). Clustering and micro immiscibility in alcohol–water mixtures: Evidence from molecular-dynamics simulations. *Phys. Rev. B*, 71, 5
- [15] **Dixit, S., Soper, A. K., Finney, J. L., and Crain, J.** (2002). Water structure and solute association in dilute aqueous methanol. *Europhys. Lett.*, 59, 377–383
- [16] **MacCallum, J. L. and Tieleman, D. P.** (2002). Structures of neat and hydrated 1-octanol from computer simulations. *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 15085–15093
- [17] **Lilitorp, K., Westh, P., and Koga, Y.** (2005). Thermodynamic properties of water in the water-poor region of binary water plus alcohol mixtures. *Can. J. Chem. Revue Canadienne de Chimie*, 83, 420–429
- [18] **Yano, Y. F.** (2005). Correlation between surface and bulk structures of alcohol–water mixtures *J. Colloid Interf. Sci.*, 384, 255–259
- [19] **Best, S. A., Merz, K. M., and Reynolds, C. H.** (1999). Free energy perturbation study of octanol/water partition coefficients: Comparison with continuum GB/SA calculations. *J. Phys. Chem. B*, 103, 714–726
- [20] **Bowron, D. T. and Moreno, S. D.** (2003). Structural correlations of water molecule in a concentrated alcohol solution. *J. Phys-Condens. Mat.*, 15, S121–S127
- [21] Franks, F. and Ives, D. J. G. (1966). The structural properties of alcohol–water mixtures. *Quart. Rev. Chem. Soc.*, 20, 1–44
- [22] **WC Griffin.** *J Soc Cosmetic Chem* 1: 311–326, 1949; 5: 249–262, 1954
- [23] **P Beecher.** *Emulsions*, New York: Reinhold, 1965.. LA Morris. *Manuf Chem Aerosol News* 36: 66–69, 1965
- [24] **AI Rusanov.** *Chem Rev* 27: 1–326, 1997
- [25] **PM Kruglyakov.** *Studies in Interface Science. Vol 9.* Amsterdam: Elsevier, 2000
- [26] **WB Borman, GD Hall.** *J Pharm Soc* 52: 442–455, 1964. e T Legras. *Ann Pharm France* 30: 211–232, 1972
- [27] **T Legras.** *Ann Pharm France* 30: 211–232, 1972
- [28] **AI Rusanov.** *Chem Rev* 27: 1–326, 1997
- [29] **WB Borman, GD Hall.** *J Pharm Soc* 52: 442-455, 1964. e T Legras. *Ann Pharm France* 30: 211–232, 1972

- [30] **N Ohba.** Bull Chem Soc Japan 35: 1016—1020, 1962; 35: 1021—1032, 1962
- [31] **JT Davies.** Proceedings of the Second International Congress on Surface Activity. Vol 1. London: Butterworths, 1957, pp 440
- [32] **JT Davies,** EK Rideal. Interfacial Phenomena. NewYork: Academic Press, 1963

Sistema di veicolazione

I vari vantaggi che derivano dall'utilizzo delle microemulsioni nel settore farmaceutico [1,2,3] sono i seguenti:

1. Stabilità termodinamica:

aiuta a migliorare la half-life del prodotto, il che li rende una scelta come veicoli di trasporto.

	Microemulsions	Micelles	Emulsions	Liposomes	Nanoemulsions
Spontaneity of formation	Yes	Yes	No	No	No
Thermodynamic stability	Yes	Yes	No	No	Approaching thermodynamic stability
Size range	~50 nm	<10 nm	0.5–50 μm	0.025–25 μm	20–200 nm
Surfactant content	>10%	<5%	1–20%	–	<10%
Appearance	Transparent	Transparent	Turbid	Turbid	Translucent

Figura 1 Comparazione microemulsione con altri carriers

2. Facilità di fabbricazione:

la spontaneità di formazione di microemulsioni rende la loro produzione molto facile rispetto ad altri vettori colloidali come emulsioni o liposomi, i quali richiedono per la loro fabbricazione. strumenti specializzati, come omogeneizzatori ad alta pressione.

3. Capacità di intrappolare agenti idrofobi terapeutici:

le diverse strutture di microemulsioni consentono l'intrappolamento di farmaci [4] idrofobi o da solo o in combinazione, rendendole un vettore molto versatile.

4. Migliorata stabilità degli agenti terapeutici:

l'incapsulamento degli agenti terapeutici nelle strutture delle una microemulsione è in grado di offrire il miglioramento della chimica, fotochimica e la stabilità enzimatica degli agenti terapeutici, ad esempio il cloramfenicolo (stabilità chimica) [5], l'arbutina (fotostabilità) [6] ed i peptidi (stabilità enzimatica) [7].

5. Migliorata biodisponibilità orale:

le microemulsioni hanno dimostrato un enorme potenziale nel migliorare la biodisponibilità orale di una serie di agenti terapeutici come la simvastatina [8], il carvedilolo [9] e la ciclosporina A (Sandimmune Neoral) [4].

6. Miglioramento del trasporto per via cutanea:

le microemulsioni sono in grado di penetrare la via cutanea e le mucose, migliorando l'efficacia terapeutica di una API (active pharmaceutical ingredients) [10].

7. Utilizzo di un sistema come modello per fabbricare nanoparticelle:

l'intrinseca stabilità termodinamica, la vasta area di interfaccia e le dimensioni ridotte delle gocce delle microemulsioni consentono loro di fungere da modello per la sintesi di facili sistemi nano particolati per la farmaceutica, come nanoparticelle lipidiche solide [11] e nanosospensioni [12]. Inoltre, le microemulsioni rappresentano proprio dei nanoreattori che possono essere adattati per fabbricare nanomateriali farmaceutici.

Considerazione sulla formulazione

La parte riguardante l'importanza della formulazione è stata ampiamente discussa nel capitolo I, d'altro canto il fenomeno della micro-emulsificazione è determinata essenzialmente da fattori quali:

- (1) natura e concentrazione dell'olio, tensioattivo, co-tensioattivo e fase acquosa,
- (2) rapporto olio / tensioattivo e tensioattivo/co-tensioattivo,
- (3) temperatura,
- (4) pH dell'ambiente
- (5) proprietà fisico-chimiche delle API, come rapporto idrofilia / lipofilia, pKa e polarità

Tutti questi fattori devono essere considerati, per formulare le microemulsioni. Dal punto di vista farmaceutico, uno dei fattori più importanti da considerare è l'accettabilità dell'olio, del tensioattivo e del co-tensioattivo per il percorso di somministrazione desiderato.

Nel capitolo 2 è data una visione più generale dei componenti delle microemulsioni utilizzate nelle applicazioni farmaceutiche discusse di seguito.

Fase oleosa

La selezione di un olio adeguato è molto importante in quanto disciplina la selezione degli altri ingredienti delle microemulsioni (soprattutto nel caso di microemulsioni O / W). Di solito, un olio viene selezionato per la formulazione delle microemulsioni per un suo alto potenziale di solubilizzante massimo per il farmaco prescelto. Questo è molto importante per ottenere il massimo caricamento di molecole nelle microemulsioni. Ugualmente importante è la capacità degli oli selezionati per aumentare il dominio di esistenza in cui la microemulsione

è formata. E' difficile avere questi due requisiti in un unico olio. E' noto infatti che gli oli di idrocarburi con catene eccessivamente lunghe (o ad alto volume molecolare), come ad esempio l'olio di soia, sono difficili da microemulsificare, mentre gli oli con catena corta (basso volume molecolare), come trigliceridi a media catena (MCT), o mono-media catena e di gliceridi sono più facili da microemulsificare. Al contrario, la capacità solubilizzante delle frazioni lipofile di solito incrementa con la lunghezza della catena dell'olio [13-15]. Pertanto, la scelta dell'olio è spesso un compromesso tra la sua capacità di solubilizzare le API e la sua capacità di facilitare la formazione di microemulsioni con le caratteristiche richieste.

In alcuni casi, sono utilizzate le miscele di oli anche per soddisfare entrambi i requisiti.

General class	Examples	Commercial name	Acceptability
'Fixed' oils	Soybean oil, Castor oil		P/O/T/Oc/M
Medium-chain triglycerides (MCTs)	Triglycerides of capric/caprylic acids Triacetin	Miglyol 810, 812, Labrafac CC, Crodamol GTCC, Captex 300, 355 Captex 500	P/O/T/Oc/M
Medium-chain mono- and di-glycerides	Mono- and di-glycerides of capric/caprylic acids	Capmul MCM, Imwitor 742, Akoline MCM	O/T
Long-chain mono-glycerides	Glyceryl monooleate Glyceryl monolinoleate	Peceol, Capmul-GMO Maisine-35	O/T
Propylene glycol (PG) fatty acid esters	PG monocaprylate PG monolaurate	Capryol 90, Capmul PG-8 Lauroglycol 90, Capmul PG-12	O/T O/T
Fatty acid esters	PG dicaprylate/caprate Ethyl oleate Isopropyl myristate (IPM) Isopropyl palmitate (IPP)	Miglyol 840, Captex 200 Crodamol EO	O/T P/O/T/Oc/M P/T/Oc/M P/T/Oc/M
Fatty acids	Oleic acid, Caprylic acid	Crossential O94	O/T/M
Vitamins	Vitamin E		P/O/T/Oc/M

P, parenteral; O, oral; T, topical (dermal); Oc, ocular; M, mucosal.

Tabella 2 oli comunemente usati

Nella Tabella 2 sono elencati le varie classi di oli che sono disponibili per produrre microemulsioni farmaceutiche con i nomi commerciali e l'accettabilità per via orale, parenterale e per assorbimento cutaneo. Tra i vari oli descritti nella Tabella 2, le catene medie di mono- e di-gliceridi sono preferite per la rilascio per via orale e cutanea, ciò è dovuto principalmente alla loro capacità di migliorare la permeazione delle API attraverso le membrane biologiche [16, 17] mentre per le applicazioni parenterali ed oculari, MCT e gli acidi grassi sono preferibili [15, 18, 19].

Nella presente ricerca è stato selezionati l'Isopropile Miristato.

Tensioattivo

La scelta del tensioattivo è anche molto critica per la formulazione delle microemulsioni. Il tensioattivo selezionato dovrebbe microemulsificare l'olio selezionato e dovrebbe inoltre possedere un buon potenziale solubilizzante per la selezione delle API. Oltre a questo, l'accettabilità per il percorso desiderato di somministrazione è un criterio altrettanto importante per la selezione del tensioattivo.

Va notato, inoltre, che i tensioattivi non sono innocui, infatti farmaceuticamente, i tensioattivi accettabili sono in grado di evidenziare effetti negativi al di sopra delle concentrazioni raccomandate [20]. I tensioattivi, ad elevata concentrazione, possono causare emolisi durante una somministrazione parenterale. Inoltre, essi potrebbero causare irritazioni della mucosa gastrointestinale e della pelle ad alte concentrazioni. In generale, tensioattivi di origine naturale sono preferiti rispetto a tensioattivi sintetici, per esempio i fosfolipidi vengono preferiti ai tensioattivi sintetici quando possibile.

Tra i vari tensioattivi sintetici, quelli non ionici sono preferiti rispetto ai tensioattivi anionici e cationici, l'uso di tensioattivi ionici può provocare la perturbazione della membrana e l'irritazione della pelle [4]. In generale, la concentrazione del tensioattivo nelle microemulsioni dovrebbe essere il più basso possibile, indipendentemente dalla natura. In un equilibrio idrofilico / lipofilo (HLB), alcuni tensioattivi, come il sorbitan monoestere sono da preferire per microemulsioni W / O, mentre ad alta HLB tensioattivi come il polisorbato 80 sono da preferire per microemulsione O / W.

In diversi casi, miscele di tensioattivi lipofili (HLB basso) e idrofili (HLB alto) possono essere utilizzati per ottenere una microemulsione. Le varie classi di tensioattivi che sono disponibili per le microemulsioni farmaceutiche con riportati i nomi commerciali e l'accettabilità per via orale, parenterale e per assorbimento cutaneo sono elencati nella Tabella 3. Tra i tensioattivi si possono utilizzare vari fosfolipidi, polisorbato 80, polossamero 188 e Solutol HS 15 che hanno una buona accettabilità per via orale, cutanea e parenterale per il rilascio di API [18, 19]. I gliceridi Polyglycolised sono un'altra classe di tensioattivi comunemente usati in delivery. Molti tensioattivi utilizzati per la somministrazione orale e cutanea appartenenti a questa classe hanno la possibilità di migliorare la permeazione di API attraverso le membrane biologiche [19].

General class	Examples	Commercial name	Acceptability
Polysorbates	POE-20-sorbitan monooleate	Tween 80, Crillet 4	P/O/T/Oc/M
	POE-20-sorbitan monolaurate	Tween 20, Crillet 1	P/O/T/Oc/M
Sorbitan esters	Sorbitan monooleate	Span 80, Crill 4	P/O/T/Oc/M
	Sorbitan monolaurate	Span 20, Crill 1	P/O/T/Oc/M
	Sorbitan monostearate	Span 60, Crill 3	O/T/M
PEO-PPO- block co-polymers	Poloxamer 188	Pluronic/Lutrol F 68	P/O/T/Oc/M
	Poloxamer 407	Pluronic/Lutrol F 127	O/T/Oc/M
POE alkyl ethers	POE-10-oleyl ether	Brij 96 V	T
POE castor oil	POE-35-castor oil	Crempore EL, Etocas 35 HV	P/O/T/Oc/M
POE hydrogenated castor oil	POE-40-hydrogenated castor oil	Crempore RH 40,	P/O/T/Oc/M
	POE-60-hydrogenated castor oil	HCO-40, Croduret 40 LD Crempore RH 60, HCO-60	P/O/T/Oc/M
POE-stearate	PEG-660-12-hydroxystearate	Solutol HS 15	P/O/T/Oc/M
POE-vitamin E	Tocopheryl-PEG 1000-succinate	Vitamin E TPGS	T/O/Oc/M
Sucrose esters	Sucrose laurate		O/T
	Sucrose palmitate		O/T
Alkyl polyglucosides	Caprylyl glucosides	Oramix CG 10, NS 10	T
Polyglycolysed glycerides	Linoleoyl macrogol glycerides	Labrafil 2125 CS	O/T
	Oleoyl macrogol glycerides	Labrafil 1944 CS	O/T
	Caprylocaproyl macrogol glyceride	Labrasol	O/T
	Polyglyceryl oleate	Plurol oleique CC 497	O/T
	Lauroyl macrogol glycerides	Gelucire 44/14	O/T
	Stearoyl macrogol glycerides	Gelucire 50/13	O/T
Polyether alcohols	Polytetramethyl butyl phenol ether	Tyloxapol	Oc/T/Pulm
	Isononyl phenyl POE 9 ether	Nonoxynol 9	Vaginal
Phospholipids	Soybean lecithin		All routes
	Egg lecithin		
	Diiolelyl phosphatidyl choline		
	Distearoyl phosphatidyl glycerol		
	PEGylated phospholipids		
	Dimyristoyl phosphotidyl choline		
Alkyl sulphates	Diocetyl sodium sulphosuccinate	Aerosol OT (AOT)	O/T

POE, polyoxyethylene; P, parenteral; O, oral; T, topical (dermal); Oc, ocular; M, mucosal.

Tabella 3 classe di emulsionanti

Co-surfactante

Molto spesso un tensioattivo da solo non può abbassare la tensione superficiale di olio-acqua in maniera sufficiente da ottenere una microemulsione, il che richiede l'aggiunta di una molecola amfilica a catena breve o di un co-tensioattivo. La loro natura di breve catena amfilica (con la lunghezza della catena del carbonio che va da C2 a C10) permette loro di interagire con il monostrato di surfactanti a livello di interfaccia e ciò evita il loro impaccamento [4, 15]. In breve, i co tensioattivi hanno tre funzioni (cfr. capitolo 2 per ulteriori dettagli):

1. Si modifica la curvatura dell'interfaccia:

la lunghezza della catena di co-tensioattivi ha una notevole influenza sulla curvatura dell'interfaccia e la struttura delle microemulsione [21, 22]. In una serie omologa, a catena corta alcoli gonfiano la regione della testa più che la regione di coda (curvatura positiva), mentre alcoli a catena più lunga gonfiano la regione delle coda di più la regione della testa (curvatura negativa) che, a sua volta, influenza l'estensione e il tipo di microemulsione formato [15].

2. Modificano la fluidità del film interfacciale:

le fasi liquido cristallino si formano quando il film tensioattivo è troppo rigido. I co-tensioattivi penetrano nel monostrato di tensioattivo per fornire ulteriore fluidità del film interfacciale e quindi impedire la formazione di fasi liquido cristalline.

3. Co-tensioattivi sono distribuiti tra le fasi acquose ed oleose

Ciò porta ad alterare la composizione chimica e quindi la relativa idro / lipofilia dei solventi [4, 15, 23-25]. Le varie classi di co-tensioattivi che sono disponibili per le microemulsioni farmaceutiche insieme ai loro accettabilità per via orale, parenterale e per assorbimento cutaneo sono elencati nella Tabella 4

Tra i vari co-tensioattivi, il Transcutol è il co-tensioattivo più utilizzato per la somministrazione orale e cutanea a causa della sua natura amfifilica ed ha proprietà potenzianti la permeazione ed alta capacità di solubilizzazione. Alcoli a catena corta come l'etanolo e polialcoli come il glicole propilenico e Polietilenglicole 400 (PEG 400) sono da preferire per la rilascio parenterale ed oculare [18, 19].

General class	Examples	Acceptability
Short-chain alcohols	Ethanol, Benzyl alcohol Isopropanol, Phenethyl alcohol	P/O/T/Oc/M T
Alkane diols and triols	Propylene glycol (PG) Glycerol Butylene glycol	P/O/T/Oc/M P/O/T/Oc/M T
Polyethylene glycols (PEG)	PEG 400	P/O/T/Oc/M
Glycol ethers	Diethylene glycol monoethyl ether (Transcutol) Tetrahydrofurfuryl PEG ether (Tetraglycol or Glycofurol)	O/T O/T
Pyrrolidine derivatives	<i>N</i> -methyl pyrrolidone (Pharmasolve) 2-Pyrrolidone (Soluphor P)	T O/T
Bile salts	Sodium deoxycholate	O/T/P
Organic acids and salts	Caprylic acid Sodium caprylate Potassium sorbate	T/O O/T/M O/T

P, parenteral; O, oral; T, topical (dermal); Oc, ocular; M, mucosal.

Tabella 4 classe di co-surfactanti

Fase acquosa

La natura della fase acquosa è importante soprattutto nel caso di microemulsioni w / o. Nel complesso, l'acqua viene utilizzata come una fase acquosa in microemulsioni soprattutto per la rilascio per via cutanea. Tuttavia, a seconda della via di somministrazione, la composizione della fase acquosa può essere cambiata. Per esempio, microemulsioni destinate ad una via di somministrazione parenterale ed oculare dovrebbe essere iso-osmotica con i fluidi del sangue e delle lacrime, rispettivamente. Al fine di raggiungere isotonicità, sono necessari additivi come gli elettroliti (cloruro di sodio), il glicerolo, il destrosio ed il sorbitolo. Tali additivi possono incidere sulle condizioni nelle quali la microemulsione è formata (vale a dire il comportamento di fase) e quindi la loro influenza deve essere studiata in presenza di altri componenti della microemulsione. La salinità influisce nei diagrammi di fase quando sono ionici e diminuisce la temperatura di inversione di fase (PIT) dei non ionici. La preparazione di microemulsioni è molto sensibile alla temperatura, se la separazione di fase è vicina alle condizioni di funzionamento [23, 26, 27]. In alcuni casi, i fluidi fisiologici come la soluzione di Ringer può essere utilizzata come una fase acquosa nel predire il comportamento di microemulsioni nelle condizioni in vivo [28]. Un altro fattore importante è il pH che ha anche una notevole influenza sul comportamento di fase del microemulsioni.

In particolare, in caso di microemulsioni per somministrazione orale, il pH della fase acquosa è di grande importanza. Al momento della rilascio per via orale, le microemulsioni sono esposte a fluidi gastrici di diversi valori di pH. Quindi, invece di acqua, possono essere utilizzati come fase acquosa il succo gastrico (pH 1,2) e / o un liquido intestinale (pH 6,8). Il

comportamento di fase delle microemulsioni può presentarsi in diverse forme, quando si simulano fluidi gastrici e intestinali, questi sono utilizzati come fase acquosa. Nel caso di microemulsioni a base lecitina, la regolazione del pH iniziale a 7-8 è importante anche al fine di minimizzare l'idrolisi dei fosfolipidi e dei trigliceridi di acidi grassi, che possono diminuire il pH della microemulsione ed incidere molto nella stabilità [15, 23]. Altri additivi nella fase acquosa, come i conservanti, possono anche influenzare il comportamento di fase della microemulsione. Conservanti come parabene di metile e propile Paraben sono noti per formare complessi con tensioattivi come i polisorbati.

Tali interazioni possono incidere anche sulla proprietà della microemulsione.

Agente da veicolare

L'agente terapeutico, in generale, ha una notevole influenza sul comportamento e quindi sulla struttura delle microemulsioni. Diverse sono le proprietà fisico-chimiche del farmaco come la struttura molecolare ed il peso molecolare, la presenza di gruppi ionizzabili, i quali pregiudicano la microemulsione. Ad esempio, se il farmaco è solubile in acqua elettroliti quali la "lidocaina hydrochloride" o "diclofenac sodico", possono avere un effetto significativo sulle proprietà di microemulsioni formate da tensioattivi ionici come AOT e lecitina ed, in misura minore, la microemulsione viene stabilizzata da tensioattivi non ionici. È interessante notare che, alcuni farmaci come il salicilato di sodio ed il acido ascorbico sono attivi in superficie e hanno un effetto benefico sulla formazione e la struttura della microemulsione [29, 30]. Questi farmaci hanno dimostrato di essere capaci di aumentare la regione in cui la microemulsione è formata e quindi il suo dominio di esistenza. Inoltre, ci sono farmaci come le ammine tricicliche che si comportano come co-tensioattivi eliminando o diminuendo la quantità di cosurfactante [31].

Farmaci lipofili possono esercitare diversi tipi di effetti sulle proprietà microemulsione. Essi possono agire in sostanza come l'olio o possono competere con l'aggiunta di olio, durante la fase di formazione della microemulsione. Ciò può richiedere un bilanciamento tra la quantità di tensioattivo e co-tensioattivo [10, 13]. In alcuni casi, i farmaci potrebbero incidere sulle proprietà delle microemulsioni quali la conducibilità e la reologia. Per esempio, Djordjevic et al. hanno studiato alcuni sistemi delle microemulsioni composte da acqua, IPM, PEG-8 Caprylic / Capric Gliceridi (Labrasol), e Polyglyceryl-6 Dioleato (Plurol Oleique), ed utilizzabili come potenziali veicoli di rilascio per il "diclofenac dietilamina". È stato osservato che il diclofenac dietilamina partecipa alla struttura del veicolo grazie alle sue proprietà amfifiliche [32]. Inoltre, è emerso che nelle condizioni sperimentali, conducibilità e la reologia sono stati influenzati in modo significativo dall'incorporazione del farmaco. Il

valore di conducibilità, per molecola caricata, aumenta di un fattore pari a 2-3 in confronto a microemulsioni senza la molecola. Al contrario, il farmaco non influenza significativamente il valore del pH dei veicoli, o la stabilità e la struttura ottica dei sistemi esaminati [32]. Farmaci come “propofol”, che esistono come liquidi a temperatura ambiente, possono a sua volta essere trattati come una fase oleosa. Un'altra importante proprietà di queste molecole da prendere in considerazione è la dipendenza dal pH, a seconda del valore di pH della fase acquosa si possono evidenziare effetti positivi o negativi sul comportamento della microemulsione [33-34]. In aggiunta a questi fattori, la dose target del farmaco è molto importante. La quantità di farmaco potrebbe avere anche un impatto sulla dimensione delle particelle di microemulsioni. In breve, è sempre consigliabile per studiare l'effetto del farmaco sul comportamento delle microemulsioni [35], al fine di realizzare a microemulsioni con caratteristiche ottimali come sistemi di veicolazione [36].

Applicazioni per assorbimento cutaneo

La pelle può essere considerata come una barriera protettiva naturale contro la penetrazione di composti tossici esogeni/ microbi, aggressioni fisiche [37-40]. Il rilascio di farmaci attraverso la pelle presenta sia opportunità uniche e sia ostacoli dovuti alla particolare struttura della pelle, alla fisiologia ed alla proprietà di barriera. La sua funzione di barriera si riflette nella sua struttura multistrato, strato corneo (SC), vitale epidermide, derma e tessuto sottocutaneo. Ogni strato è noto per rappresentare i diversi livelli della differenziazione cellulare e epidermica. Tuttavia, la funzione principale di ostacolo è rappresentato dallo SC, che è un ostacolo alla rilascio di molti farmaci a livelli terapeutici. Lo SC è 10-15 strati di cellule su gran parte del corpo ed è composto da cellule morte o corneociti. Gli spazi intercellulari tra i corneociti sono pieni di fogli sovrapposti di membrane lipidica a due strati (composto di ceramidi, acidi grassi e colesterolo), la cui organizzazione e composizione chimica unica conferiscono un elevato grado di impermeabilità. Sono queste le lamelle di lipidi che costituiscono la barriera epidermica alla permeabilità, sia per l'acqua (che consente la vita terrestre) e sia per altri penetranti [37-40]. Per il rilascio dermico e transdermico, è necessario superare questo ostacolo senza interrompere le funzioni normali della pelle. Va inoltre rilevato che vi è una netta differenza tra i requisiti per la rilascio dermica e transdermica e il loro vantaggio nel ruolo terapeutico. L'obiettivo principale di rilascio cutanea è quello di far giungere il farmaco ai siti patologici all'interno della pelle (epidermica o dermica profonda) garantendo minimo assorbimento sistemico. Comunque, in caso di somministrazione transdermica, la molecola si diffonde attraverso i vari strati della normale pelle e raggiunge la circolazione sistemica per esercitare un effetto terapeutico desiderato [37-40]. La via

transdermica è preferita per i farmaci che presentano problemi come un alto metabolismo di primo passaggio (β -bloccanti [41], calcio-antagonisti) e gli effetti indesiderati sistemici (quali ulcere gastrointestinali, in caso di agenti anti-infiammatori). Esistono, comunque, diversi approcci per migliorare l'assorbimento cutaneo / transdermica di agenti terapeutici, uno è trattato in questo lavoro di ricerca. Le microemulsioni hanno acquisito un notevole profondo interesse per la rilascio dermica e transdermica di una serie di agenti terapeutici [10, 42].

Potenziali meccanismi per aumentare il trasporto derma/transderma

Il trasporto di farmaci attraverso la pelle è un processo complesso e segue diversi percorsi:

- ✓ transcellulare
- ✓ intercellulare
- ✓ appendageal (attraverso ghiandole esocrine (sudore) o follicoli piliferi)

Gli aspetti fondamentali di questo meccanismo di trasporto, tuttavia, sono controllate da tre parametri fisico-chimici fondamentali.

In primo luogo, queste consistono nei coefficienti di partizione (K), diffusione (D) e la solubilità (C_s). Al fine di potenziare il trasferimento di un farmaci attraverso lo SC, queste variabili devono essere manipolate e mirate. La sinergia è spesso vista quando la formulazione influenza più di uno di questi parametri. Alcune dei potenziali meccanismi dai quali è possibile migliorare l'assorbimento ed il trasporto cutaneo o trans dermico delle microemulsioni sono:

1. la denaturazione della cheratina intracellulare o la modifica della sua conformazione [43],
2. la perturbazione / fluidificazione del doppio strato lipidico [44],
3. la creazione di pool di liquidi e estrazione di lipidi SC,
4. l'aumentato partizionamento e solubilità nello strato corneo,
5. l'aumento dell'attività termodinamiche del farmaco [45],
6. l'aumento del gradiente di concentrazione [46]
7. i trasporti appendageal [47].

Meccanismo di assorbimento cutaneo

La penetrazione di una preparazione topica applicata sulla cute può avvenire attraverso gli annessi ghiandolari (apparato pilosebaceo e ghiandole esocrine) e per via trans-epidermica (attraverso un percorso intercellulare e/o transcellulare) [48]. Le ghiandole esocrine hanno

un'importanza minima per l'assorbimento, infatti ricoprono meno dello 0,1% della superficie corporea e presentano un rivestimento che è scarsamente permeabile. In ogni caso esse possono rappresentare una via di assorbimento marginale solamente per sostanze altamente idrosolubili. L'apparato pilosebaceo, che include le ghiandole sebacee ed i follicoli piliferi, rappresenta un'utile e rapida via di assorbimento per molecole liposolubili di grandi dimensioni, quali ad esempio gli steroidi [49].

Tuttavia, anche in questo caso la superficie di assorbimento è relativamente piccola, infatti, solo lo 0,1-0,5% della superficie corporea è occupata da queste strutture. Durante questa fase si osserva un periodo di latenza in cui il farmaco entra in equilibrio con l'epidermide con una cinetica di primo ordine. Dopo il raggiungimento dell'equilibrio farmaco-epidermide, comincia un flusso costante di penetrazione la cui entità è proporzionale alla concentrazione del farmaco. A questo punto la via trans-epidermica diventa la tappa dominante dell'assorbimento percutaneo e l'assorbimento attraverso l'apparato pilosebaceo rimane responsabile solo di una piccola frazione dell'assorbimento cutaneo [50] (fig. 1).

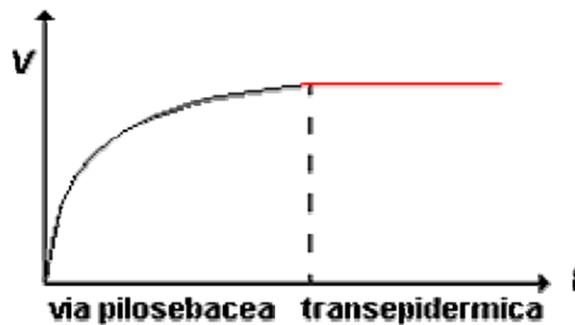


Figura 1 Fasi di assorbimento percutaneo

Nella penetrazione trans-epidermica il superamento della barriera cornea può avvenire per via intercellulare e intracellulare. Alla via intercellulare è stato attribuito fin'ora un ruolo secondario, ma si è visto che essa rappresenta la via di penetrazione preferenziale per i composti polari ad alto peso molecolare ($PM > 2000$ Da). Il vantaggio della via intercellulare rispetto a quella trans cellulare consiste nel fatto che la sostanza si troverebbe di fronte a un mezzo omogeneo dal punto di vista della composizione chimica. Oltre a ciò è praticamente nulla la possibilità che la sostanza venga metabolizzata dal momento che la maggior parte degli enzimi è localizzata all'interno della cellula. La maggior parte delle sostanze esogene a seconda delle loro caratteristiche chimico/fisiche e soprattutto in base alla solubilità e alle dimensioni molecolari attraversano la cute penetrando direttamente all'interno dei corneociti. La penetrazione trans-cellulare diretta consiste nel passaggio della molecola dapprima attraverso la parete cellulare del corneocita, che proprio per le sue caratteristiche strutturali è uno degli ostacoli principali, e successivamente nella migrazione delle molecole polari verso

le zone acquose del corneocita e delle molecole liofile verso le zone a maggior contenuto lipidico. E' evidente che l'intero processo si basa sul principio di diffusione passivo. Studiando le condizioni che favoriscono il passaggio trans-cellulare, si è visto che un basso peso molecolare ($PM < 2000$ Da) ed una sufficiente solubilità nei lipidi e nell'acqua garantiscono l'assorbimento delle sostanze applicate sulla cute [51].

Assorbimento: legge di Fick

Per chiarire i meccanismi di trasporto e le funzioni di barriera della cute, quest'ultima può essere considerata come una membrana, o un insieme di membrane per il cui studio sono applicabili principi matematici [52]. Il trasporto attraverso lo strato corneo è un processo di diffusione passivo governato dalla I legge di diffusione di Fick.

Il bilancio di materia prevede la proporzionalità tra il flusso di materia ed il gradiente di concentrazione, in particolare per questo caso si prevede che in questo la quantità dq trasportata per unità di tempo dt sia data dalla seguente equazione:

$$\frac{dq}{dt} = \frac{R \cdot D_s \cdot A \cdot C_v}{h} \quad (Eq.1)$$

dove:

C_v = concentrazione del principio attivo nel veicolo;

R = coefficiente di ripartizione del principio attivo tra veicolo e barriera;

D_s = coefficiente di diffusione del principio attivo attraverso l'epidermide;

A = superficie interessata all'assorbimento;

h = spessore attraversato

Da questa legge si evince che il trasporto attraverso lo strato corneo è direttamente proporzionale alla solubilità ed alla diffusibilità della sostanza applicata.

La solubilità relativa di un soluto è espressa dal coefficiente di ripartizione corneo/veicolo e si riferisce al rapporto tra la solubilità della sostanza nel corneo rispetto a quella nel veicolo. Questo parametro indica, quindi, l'affinità del farmaco per lo strato corneo e la sua capacità di separarsi dal veicolo [53]. La diffusibilità è la capacità di un soluto di attraversare la barriera ed è influenzata da vari fattori, compresa la tortuosità del percorso intercellulare. Come espresso dalla legge di Fick, la velocità di assorbimento – flusso è direttamente proporzionale alla concentrazione del farmaco disciolto nel veicolo ed alla superficie di applicazione, mentre è inversamente proporzionale allo spessore dello strato corneo. Pur essendo calcolabili tutti i parametri, per la complessità della barriera cornea la legge di Fick ha solamente valore orientativo in quanto non tiene conto di molti fattori sia biologici, sia biofarmaceutici sia chimico-fisici che influenzano l'assorbimento percutaneo .

Principi di controllo del “Drug Delivery System”

Una prospettiva di sistemi di “drug delivery” può essere definita come meccanismo per introdurre gli agenti terapeutici nel corpo. Masticare foglie e radici di piante medicinali e per inalazione di fuliggine dalla combustione di sostanze mediche sono esempi di rilascio di droga dai tempi più antichi. Comunque, questi approcci primitivi di inglobare le molecole non aveva un semplice bisogno di “drug delivery”, cioè, in termini sia di coerenza che uniformità. Ciò ha portato allo sviluppo di diversi metodi di rilascio di droga nella partire dal XVIII e gli inizi del XIX secolo. Tali metodi incluse le pillole, sciroppi, capsule, compresse, elisir, soluzioni, estratti, emulsioni, sospensioni, nebulizzatori, e molti altri tradizionali meccanismi di rilascio. Molti di questi meccanismi di erogazione utilizzano il farmaco derivato da estratti di piante.

L'era dello sviluppo della medicina moderna è iniziato con la scoperta di vaccini nel 1885 e le tecniche per la depurazione di farmaci da fonti vegetali nel tardo XIX secolo, seguita dall'introduzione della penicillina dopo la sua scoperta nel 1929, e un successivo periodo di droga prolifici scoperta. Lo sviluppo e la produzione di molti prodotti farmaceutici comporta la modificazione genetica dei microrganismi per trasformarli in medicinali.

Esempi sono all'acido desossiribonucleico (DNA), l'insulina umana, l'interferone [per il trattamento dell'AIDS, il sarcoma da leucemia a cellule capellute, epatite B e C, ecc], interleuchina-2 (carcinoma a cellule renali e altri), l'eritropoietina (per il trattamento dell'anemia associata a cronica insufficienza renale / AIDS / agenti antiretrovirali. È ora possibile produrre oligonucleotidi [54], peptidi e farmaci proteici in grande quantità, mentre le terapie geniche, inoltre, sembra essere clinicamente fattibile. Ciascuno di questi agenti terapeutici, in virtù delle dimensioni, della stabilità, o della necessità di targeting, richiede un farmaco specializzato ed un particolare sistema di distribuzione [55].

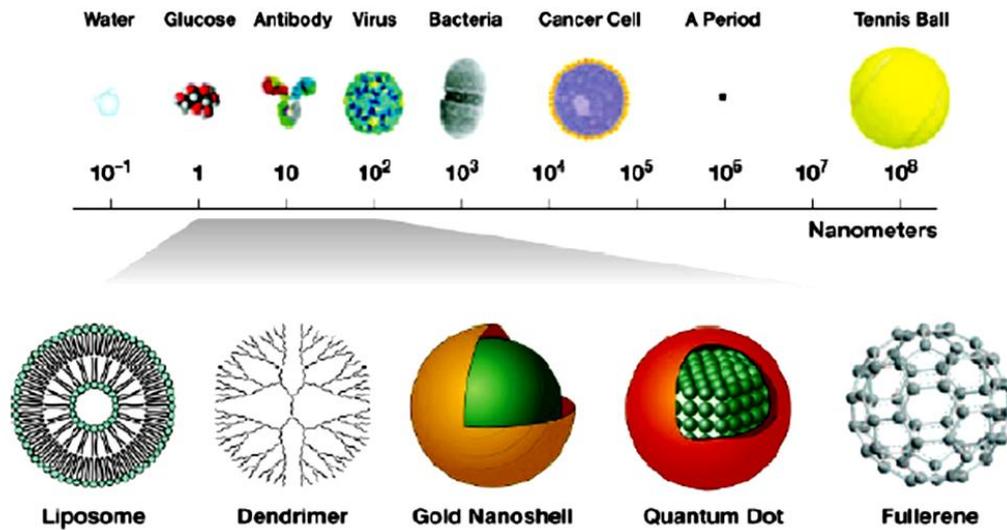


Figura 2 Dimensioni relative sovramolecolari

Concludendo tutti questi meccanismi di veicolazione devono tenere come punto fermo la dimensionalità del sistema (Figura 2), sia per l'effettivo meccanismo di veicolazione attraverso le vie biologiche e sia per l'incorporazione dei farmaci. La dimensionalità del sistema è uno delle caratteristiche principali di ricerca della presente tesi.

Bibliografia capitolo

- [1] Lipinski, C. (2002) Poor aqueous solubility – an industry wide problem in drug discovery. *Am. Pharm. Rev.*, 5, 82–85.
- [2] Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P. and Crison, J. (1995) A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, 12, 413–420.
- [3] Waterbeemd, H. (1998) The fundamental variables of the biopharmaceutics classification system(BCS): A commentary. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 7, 1–3.
- [4] Lawrence M. J. and Rees, G.D. (2000) Microemulsion-based media as novel drug delivery Systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 45, 89–121.
- [5] Lv, F.F., Li, N. Zheng, L.Q. and Tung,C.H. (2006) Studies on the stability of the chloramphenicol in the microemulsion free of alcohols. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 62, 288–294.
- [6] Gallarate, M., Carlotti, M.E., Trotta, M., Grande, A.E. and Talarico, C. (2004) Photostability of naturally occurring whitening agents in cosmetic microemulsions. *J. Cosmet. Sci.*, 55, 139–148.
- [7] Sarciaux, J.M., Acar, L. and Sado, P.A. (1995) Using microemulsion formulations for oral drug delivery of therapeutic peptides. *Int. J. Pharm.*, 120, 127–136.
- [8] Kang, B.K., Lee, J.S.,Chon S.K., Jeong, S.Y., Yuk, S.H., Khang, G., Lee, H.B. and Cho, S.H. (2004) Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. *Int. J. Pharm.*, 274, 65–73.
- [9] Wei, L., Sun, P., Nie, S. and Pan,W. (2005) Preparation and evaluation of SEDDS and SMEDDS containing carvedilol. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 31, 785–794.
- [10] Kreilgaard, M. (2002) Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 54(Suppl. 1), S77–S98.
- [11] Müller, R.H., Mader, K. and Gohla, S. (2000) Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, 161–178.
- [12] Patravale, V.B.,Date, A.A. and Kulkarni, R. (2004)Nanosuspensions: A promising drug delivery strategy. *J. Pharm. Pharmacol.*, 56, 827–840.

- [13] Malcolmson, C., Satra, C., Kantaria, S., Sidhu, A. and Lawrence, M.J. (1998) Effect of the nature of oil on the incorporation of testosterone propionate into non-ionic oil-in-water microemulsions. *J. Pharm. Sci.*, 87, 109–116.
- [14] Warisnoicharoen, W., Lansley, A.B. and Lawrence, M.J. (2000) Non-ionic oil-in-water microemulsions: The effect of oil type on phase behavior. *Int. J. Pharm.*, 198, 7–27.
- [15] Vandamme, T.F. (2002) Microemulsions as ocular drug delivery systems: Recent developments and future challenges. *Prog. Ret. Eye Res.*, 21, 15–34.
- [16] Gursoy, N. and Benita, S. (2004) Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed. Pharmacother.*, 58, 173–182.
- [17] Lundin, P., Bojrup, M., Ljusberg-Wahren, H., Westrom, B.R. and Lundin, S. (1997) Enhancing effects of monohexanoin and two other medium-chain glyceride vehicles on intestinal absorption of desmopressin (Ddavn). *J. Pharm. Exp. Ther.*, 282, 585–590.
- [18] Akers, M.J. (2002) Excipient-drug interactions in parenteral formulations. *J. Pharm. Sci.*, 91, 2283–2300.
- [19] Strickley, R.G. (2004) Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. *Pharm. Res.*, 21, 201–230.
- [20] Tije, A.J., Verweij, J., Loos, W.J. and Spareboom, A. (2003) Pharmacological effects of formulation vehicles implications for cancer chemotherapy. *Clin. Pharmacokinet.*, 42, 665–685.
- [21] Stilbs, P., Lindman, B. and Rapacki, K. (1983) Effect of alcohol cosurfactant length on microemulsion structure. *J. Colloid Interface Sci.*, 95, 583–585.
- [22] Yaghmur, A., Aserin, A. and Garti, N. (2002) Phase behaviour of microemulsions based on food-grade non-ionic surfactants: Effect of polyols and short-chain alcohols. *Colloid Surf. A*, 209, 71–81.
- [23] Tenjarla, S. (1999) Microemulsions: An overview and pharmaceutical applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 16, 461–521.
- [24] Alany, R.G., Rades, T., Agatonovic-Kustrin, S., Davies, N.M. and Tucker, I.G. (2000) Effects of alcohols and diols on the phase behaviour of quaternary systems. *Int. J. Pharm.*, 196, 141–145.
- [25] Flanagan, J. and Singh, H. (2006) Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 46, 221–237.

- [26] Attwood, D. (1994) Microemulsions. In J. Kreuter (ed), Colloidal Drug Delivery Systems. Marcel Dekker, New York, pp. 31–71.
- [27] Eccleston, J. (1994) Microemulsions. In J. Swarbrick and J.C. Boylan (eds), Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker, New York, pp. 375–421.
- [28] Kawakami, K., Yoshikawa, T., Moroto, Y., Kanaoka, E., Takahashi, K., Nishihara, Y. and Masuda, K. (2002) Microemulsion formulation for enhanced absorption of poorly soluble drugs I. Prescription design. *J. Control. Release*, 81, 65–74.
- [29] Zhang, X., Dong, J., Zhang, G., Hong, X. and Li, X. (2005) The effects of additives on the water solubilization capacity and conductivity in n-pentanol microemulsions. *J. Colloid Interface Sci.*, 285, 336–341.
- [30] Roy, B.K. and Moulik, S.P. (2002) Functions of hydrotropes (sodium salicylate, proline, pyrogallol, resorcinol and urea) in solution with special reference to amphiphile behaviors. *Colloid Surf. A*, 203, 155–166.
- [31] Gasco, M.R. (1997) Solid lipid nanospheres form warm microemulsions. *Pharm. Technol. Eur.*, 9, 32–42.
- [32] Djordjevic, L., Primorac, M., Stupar, M. and Krajisnik, D. (2004) Characterization of caprylocaproyl macrogolglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an Amphiphilic drug. *Int. J. Pharm.*, 271, 11–19.
- [33] Joubran, R.F., Cornell, D.G. and Parris, N. (1993) Microemulsions of triglyceride and non-ionic surfactant-effect of temperature and aqueous phase composition. *Colloid Surf. A*, 80, 153–157.
- [34] Flanagan, J., Kortegaard, K., Neil-Pinder, D., Rades, T. and Singh, H. (2006) Solubilisation of soybean oil in microemulsions using various surfactants. *Food Hydrocolloids*, 20, 253–260.
- [35] Pes, M.A., Aramaki, K., Nakamura, N. and Kunieda, H. (1996) Temperature-insensitive microemulsions in a sucrose monoalkanoate system. *J. Colloid Interface Sci.*, 178, 666–672.
- [36] Bagwe, R.P., Kanicky, J.R., Palla, B.J., Patanjali, P.K. and Shah, D.O. (2001) Improved drug delivery using microemulsions: Rationale, recent progress, and new horizons. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 18, 77–140.
- [37] Foldvarim, M. (2000) Non-invasive administration of drugs through the skin: Challenges in delivery system design. *Pharm. Sci. Tech. Today*, 3, 417–425.
- [38] Benson, H.A.E. (2005) Transdermal drug delivery: Penetration enhancement techniques. *Curr. Drug Deliv.*, 2, 23–33.

- [39] Brown, M.B., Martin, G.P., Jones, S.A. and Akomeah, F.K. (2006) Dermal and transdermal drug delivery systems: Current and future prospects. *Drug Deliv.*, 13, 175–187.
- [40] Ting, W., Vest, C. and Sontheimer, R. (2004) Review of traditional and novel modalities that enhance the permeability of local therapeutics across the stratum corneum. *Int. J. Dermatol.*, 43, 538–547.
- [41] Stott, P.W., Williams, A.C. and Barry, B.W. (2001) Mechanistic study into the enhanced transdermal permeation of a model-blocker, propranolol, by fatty acids: Amelting point depression effect. *Int. J. Pharm.*, 219, 161–176.
- [42] Kogan, A. and Garti, N. (2006) Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 123–126, 369–385.
- [43] Gloor, M., Haus, G. and Keipert, S. (2003) Keratolytic activity of microemulsions. *Skin Pharmacol. Physiol.*, 16, 151–155.
- [44] Changez M., Varshney, M., Chander, J. and Dinda, A.K. (2006) Effect of the composition of lecithin/n-propanol/isopropyl myristate/water microemulsions on barrier properties of mice skin for transdermal permeation of tetracaine hydrochloride: In vitro. *Colloid Surf. B*, 50, 18–25.
- [45] Kemken, J., Ziegler, A. and Mueller, B.W. (1992) Influence of supersaturation on the pharmacodynamic effect of bupranolol after dermal administration using microemulsions as vehicle. *Pharm. Res.*, 9, 554–558.
- [46] Peltola, S., Saarinen-Savolainen, P., Kiesvaara, J., Suhonen, T.M. and Urtti, A. (2003) Microemulsions for topical delivery of estradiol. *Int. J. Pharm.*, 254, 99–107.
- [47] Biju, S.S., Ahuja, A. and Khar, R.K. (2005) Tea tree oil concentration in follicular casts after topical delivery: Determination by high-performance thin layer chromatography using a perfused bovine udder model. *J. Pharm. Sci.*, 94, 240–245.
- [48] Diembeck W., Eskes C., Heylings J.R., Langley G., Rogiers V., van de Sandt J.J., Zuang V. Skin absorption and penetration. *Altern Lab Anim*. 2005 Jul; 33 Suppl 1:105-7
- [49] Meidan VM, Bonner MC, Michniak BB. Transfollicular drug delivery-Is it a reality? *Int J Pharm*. 2005 Dec 8;306(1-2):1-14. Epub 2005 Nov 2
- [50] Fesce R., Fumagalli G., *Farmacocinetica da: Farmacologia Molecolare e cellulare*, Clementi e Fumagalli, UTE
- [51] Tayar N., Tsai R.S., Testa B., Carrupt P.A., Hansch C., Leo A., Percutaneous penetration of drugs: a quantitative structure-permeability relationship study. *J Pharm Sci*. 1991 Aug; 80(8):744-9

- [52] Watkinson A.C., Brain K.R. Basic mathematical principles in skin permeation p 61-88: in *Dermatological and Transdermal Formulations*.vol 119. Marcel Dekker, Inc. New York 2002
- [53] Rougier A., Rallis M., Krien P., Lotte C. In vivo percutaneous absorption: a key role for stratum corneum/vehicle partitioning. *Arch Dermatol Res.* 1990; 282(8):498-505
- [54] Park K. *Controlled Drug Delivery: Challenges and Strategies*. Washington (DC): American Chemical Society; 1997.
- [55] Park K, Mersny RJ. Controlled drug delivery: present and future. *Controlled Drug Delivery: Designing Technology for the Future*, 2–13. Washington (DC): American Chemical Society; 2000.

Cenni preliminari

Il peperoncino appartiene alla famiglia delle *Solanaceae*, la stessa cui appartengono sia alcuni ortaggi e sia piante medicinali e tossiche come la belladonna, il giusquiamo e la mandragora, occupando in realtà una posizione esattamente intermedia tra i due gruppi. Si distingue da tutte le altre piante per l'assenza di alcaloidi tropanici e per la presenza di capsaicinoidi (o vanilloidi). Le specie (Tab 1) più comuni sono: il *Capsicum annum*, cui appartengono sia i peperoncini piccanti più comuni in Italia, sia il peperone dolce; il *Capsicum chinense*, che include l'*habanero*, uno tra i peperoncini più piccanti al mondo; e l'unica specie presente in Farmacopea Ufficiale, il *Capsicum frutescens*: di questo si utilizzano i frutti maturi, essiccati e polverizzati, con un contenuto minimo dello 0,4 % di capsaicina, la sostanza più tipica tra capsaicinoidi, oltre ai flavonoidi e ad una minima presenza di olio essenziale e carotenoidi.

Specie <i>Capsicum</i>		
<i>Selvatiche</i>		<i>Coltivate</i>
<i>C. Annuum (aviculare)</i>	<i>C. Mirabile</i>	<i>C. Pubescens</i>
<i>C. Buforum</i>	<i>C. Parvifolium</i>	<i>C. Baccatum</i>
<i>C. Campylopodium</i>	<i>C. Praetermissum</i>	<i>C. Chinense</i>
<i>C. Cardenasii</i>	<i>C. Schottianum</i>	<i>C. Frutescens</i>
<i>C. Chacoense</i>	<i>C. Scolnikianum</i>	<i>C. Annuum</i>
<i>C. Coccineum</i>	<i>C. Tovarii</i>	
<i>C. Dimorphum</i>	<i>C. Villosum</i>	
<i>C. Eximium</i>	<i>C. Cornutum</i>	
<i>C. Geminifolium</i>	<i>C. Leptopodium</i>	
<i>C. lanceolatum</i>	<i>C. Dusenii</i>	
<i>C. Minutiflorum</i>	<i>C. Galapagoense</i>	
<i>C. Ciliatum</i>	<i>C. Hookerianum</i>	

Tabella 1 Classificazione specie *Capsicum*

Classificazione del frutto

I peperoncini sono disponibili in commercio sia in fresco, sia in forme trattati secche e surgelate.

La parte chimica più potente e preponderante presente nel frutto della pianta, è responsabile degli effetti sensoriali associati alla piccantezza ed è un composto progenitore della capsaicina. La capsaicina, è un composto chimico che stimola le terminazioni nervose dei recettori della lingua e ciò provoca la sensazione di "bruciore". Vi sono tutta una serie di

omologhi, sia ramificati che lineari di composti vanillamidici a catena alchilica, conosciuti come capsaicinoidi, si trovano nel frutto della pianta in concentrazioni tra 0,1 e 1,0 % in peso. La Scala di Scoville (Fig.1) è una scala di misura della piccantezza di un peperoncino. Il numero di unità di Scoville che indica l'appartenenza alla scala (SHU) (Scoville Heat Units) indica la quantità di capsaicina equivalente contenuta. Molte salse piccanti in uso soprattutto in America del nord e del sud indicano la loro piccantezza in unità di Scoville .

Gradazione Scoville	Tipo di peperoncino
15.000.000–16.000.000	Capsaicina pura, Diidrocapsaicina
8.800.000 - 9.100.000	Nordiidrocapsaicina
6.000.000 - 8.600.000	Omodiidrocapsaicina, Omocapsaicina
2.500.000 - 5.300.000	Spray al peperoncino della polizia
1.150.000 - 2.000.000	Spray al peperoncino comune
855.000 - 1.041.427	Naga Jolokia
876.000 - 970.000	Dorset Naga
350.000 - 855.000	Habanero Red Savina, Indian Tezpur
100.000 - 350.000	Habanero, Scotch Bonnet, Bird's Eye (noto anche come "Piripiri", "Pilipli", "African Devil"), Jamaican Hot
50.000 - 100.000	Santaka, Chiltecpin, Thai Pepper, Rocoto
30.000 - 50.000	Aji, Cayenna, Tabasco, Piquin
15.000 - 30.000	Chile de Arbol, Manzano
5.000 - 15.000	Yellow Wax, Serrano
2.500 - 5.000	Jalapeno, Mirasol, Chipotle, Poblano
1.500 - 2.500	Sandia, Cascabel, NuMex Big Jim
1.000 - 1.500	Ancho, Pasilla, Espanola, Anaheim
100 - 1.000	Mexican Bell, Cherry, New Mexico Pepper, Anaheim, Peperone
0 - 100	Sweet Bell Pepper, Pimento

Figura 1 Scala dalla gradazione di Scoville

Struttura e composizione

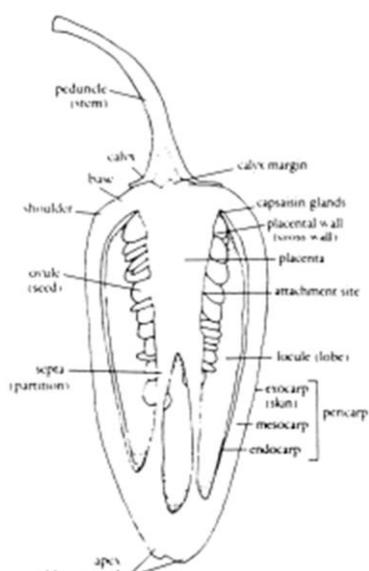


Figura 2 Sezione del frutto

Ci sono molte teorie contrastanti pubblicate in letteratura in materia di distribuzione e localizzazione della capsaicina nel frutto. Tuttavia, i ricercatori concordano sul fatto che la distribuzione non è uniforme. Anche se i semi non contengono una grande quantità di capsaicina, si può acquisire un certo grado di piccantezza attraverso il contatto con la placenta (parete di fondo). In figura 2 viene mostrato schematicamente la sezione di un frutto di *capsicum* in cui è evidente che la ghiandole di capsaicina si trovano al momento della placenta (parete di fondo) e la parete. La maggioranza, circa l'89%, della capsaicina è associata con la partizione placentare della frutta e circa il 5-6% nel pericarpio

e nel seme (Andrews, 1984). La quantità capsaicina può variare tra varietà della stessa specie

ed anche nei frutti di una singola varietà. Il contenuto di capsaicinoidi nel frutto della stessa raccolta presso un impianto e nello stesso giorno differivano notevolmente, anche se valori medi sono stati simili in entrambi gli anni.

La valutazione statistica ha illustrato il problema nell'ottenere valori rappresentativi. Altamente variabile è la piccantezza, il suo contenuto dei singoli frutti può portare ad errori durante il prelievo di campioni che si compone di un piccolo numero di frutti per l'osservazione di biosintesi. In futuro gli esperimenti eterogeneità e naturale fluttuazione nei singoli frutti devono essere presi in considerazione durante pianificazione e valutazione. Gli aumenti di piccantezza dalla fase iniziale alla fase finale dello sviluppo del frutto è influenzata più dalla maturità che dal clima (Andrews, 1984; Purseglove et al., 1981).

<i>Vitamine</i>	<i>flavonoidi</i>	<i>Carotenoidi</i>	<i>Capsaicinoidi</i>	<i>Sali minerali</i>
<i>A₁</i>	<i>Quercetina</i>	<i>Violaxantina</i>	<u>Capsaicina</u>	<i>Fosforo</i>
<i>C</i>	<i>Luteolina</i>	<i>Capsantina</i>	<i>Diidrocapsaicina</i>	<i>Potassio</i>
<i>B₁, B₂</i>		<i>α-Carotene</i>	<i>Nordiidrocapsaicina</i>	<i>Sodio</i>
<i>E, K, PP</i>		<i>Capsorubina</i>	<i>Omocapsaicine</i>	<i>Calcio</i>
			<i>Omodiidrocapsaicine</i>	<i>Ferro</i>
<i>Carboidrati (5,2%)</i>	<i>Proteine (1,35%)</i>	<i>Capsicolo</i>	<i>Sostanze azotate</i>	<i>Cellulosa</i>
		<i>Olio fisso</i>	<i>non azotate</i>	<i>Lipidi (0,3%)</i>
				<i>Acqua</i>

Tabella 2 Composizione media del frutto

Capsaicina e capsaicinoidi

Per secoli, la frutta del genere *Capsicum* è stato utilizzato come condimento, sia per il sapore (peperoncino, rosso, jalapeno, di Caienna, ecc, peperoni), o per colorare (paprika), oppure come alimento blando (Maga, 1975).

Physical / Chemical Properties:

- Vapor pressure : **Very low**
- Octanol-Water Partition Coefficient (log Kow): **3.04**
- Henry's constant: **1 x 10⁻¹³ atm·m³/mol at 25 °C**
- Molecular weight: **305.462 g/mol**
- Solubility (water): **10.3 mg/L at 25 °C**
- Soil Sorption Coefficient (Koc): **1.10 x 10³**

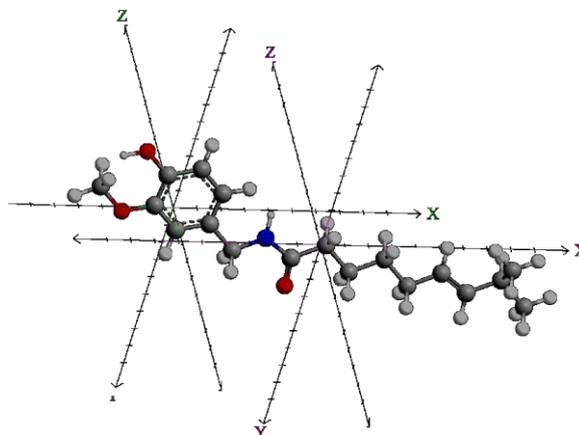


Figura 3 Molecola 3D Capsaicina - ChemBio 3D

La capsaicina è stata ampiamente studiata per sfruttare il suo potenziale valore terapeutico e come mezzo per sondare la fisiologia della trasmissione del dolore. Gran parte delle nostre informazioni sul meccanismo d'azione di capsaicina a livello cellulare sono stati ottenuti da esperimenti in vitro [1].

La famiglia dei capsaicinoidi comprende anche altre molecole di notevole interesse scientifico.

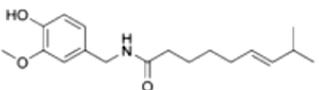
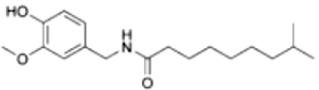
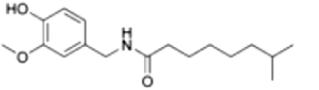
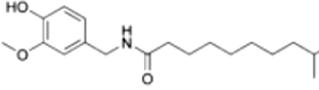
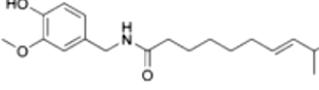
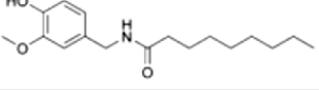
Capsaicina	C	69%	16.000.000	
Dihydrocapsaicin	DHC	22%	15.000.000	
Nordihydrocapsaicin	NDHC	7%	9.100.000	
Homodihydrocapsaicin	HDHC	1%	8.600.000	
Homocapsaicin	HC	1%	8.600.000	
Nonivamide	PAVA			

Tabella 3 Famiglia dei capsaicinoidi

Il peperoncino (*Capsicum spp*) è anche una delle principali fonti di pigmenti carotenoidi (Tab.2). Capsantina e capsorubina sono i principali componenti della frazione di carotenoidi, in quanto trovato quasi esclusivamente a questo genere (Mínguez-Mosquera e Gálvez, 1998). La particolare piccantezza nel peperoncino è dovuto alla famiglia dei capsaicinoidi (0,01 al 0,09%) presenti nella frutta. Perucka e materska (2001) hanno rilevato che i frutti dei peperoncini rossi sono caratterizzati da un incremento di attività antiossidante sia nella frazione di capsaicina che di flavonoidi. Secondo Govindarajan et al. (1987), il colore e piccantezza sono i fattori di qualità più rilevanti del frutto rosso e nei loro prodotti trasformati. I prodotti essiccati derivati dal peperoncino, come la paprika (in polvere) ed l'oleoresina, sono concentrati di pigmenti di carotenoidi e il colore del materiale è un importante parametro di qualità (Mínguez-Mosquera e Gálvez, 1998). Pertanto, il miglioramento nel processo di essiccazione è di grande importanza in materia di qualità del prodotto. Il miglioramento della scienza e della tecnologia ha contribuito a migliorare l'essiccazione degli alimenti e il loro uso in entrambe le dimensioni piccole e grandi su scala industriale. L'essiccazione è il più antico

metodo di conservazione degli alimenti per lunghi periodi. Molti fattori influenzano il tempo necessario per l'essiccazione degli alimenti: la temperatura, la circolazione dell'aria, l'umidità e il tipo di alimenti secchi.

I Capsaicinoidi sono derivati da composti fenilo-propanoidi (Govindarajan & Sathyanarayana, 1991; Sudhakar, Ravishankar & Venkataraman, 1992; Perucka, 1996). Essi sono caratterizzati da un'elevata attività biologica e farmacologica, ed ha efficaci proprietà neurologiche e dietetiche ben note. I Capsaicinoidi, anche quando il loro contenuto è inferiore, mostrano un effetto positivo sul metabolismo di composti alifatici e di carboidrati (Govindarajan & Sathyanarayana, 1991). La domanda Internazionale per il peperoncino fortemente colorato suscita la speranza di un aumento della preferenza per prodotti alimentari piccanti [2].

Mentre la loro biosintesi è in gran parte stabilita, l'accumulo e il degrado non sono ancora state completamente capite. Alcuni gruppi di studio assumono che il peperoncino è responsabile per la degradazione delle perossidasi. Il deposito di materiale macinato del frutto ed omogeneizzato ha dimostrato una notevole riduzione del contenuto di capsaicinoidi. L'intensità di degradazione varia con l'età del frutto, in particolare dal materiale dei frutti giovani macinati si è dimostrato che è più veloce e più forte la perdita di capsaicinoidi, mentre non sono stati degradati i capsaicinoidi da vecchi frutti.

Tossicità della capsaicina

La capsaicina ed i suoi derivati sintetici sono stati ampiamente studiati per le applicazioni farmaceutiche, [3], [4] neuroscienze [5], [6] e per la chimica antimicrobica [7]. Recentemente, si è dimostrato che la capsaicina in grado di inibire la crescita di alcuni patogeni di origine alimentare [8]. Con il metodo di microincapsulazione e di veicolazione attraverso l'utilizzo delle microemulsioni e/o delle emulsioni, il tasso di rilascio della molecola può essere notevolmente ritardato, e l'efficienza degli estratti naturali da piante possono essere migliorate. In questo studio si sono ottenute microemulsioni, formulate ed ottimizzate per la capsaicina, ovviamente la concentrazione di tale principio attivo è in accordo con i limiti tossicologici previsti e riassunte di seguito:

TOXICITY CATEGORY - CAPSAICIN				
	High Toxicity Category I	Moderate Toxicity Category II	Low Toxicity Category III	Very Low Toxicity Category IV
Acute Oral LD ₅₀	Up to and including 50 mg/kg (≤ 50 mg/kg)	Greater than 50 through 500 mg/kg (> 50 – 500 mg/kg)	Greater than 500 through 5000 mg/kg (> 500 – 5000 mg/kg)	Greater than 5000 mg/kg (> 5000 mg/kg)
Inhalation LC ₅₀	Up to and including 0.05 mg/L (≤ 0.05 mg/L)	Greater than 0.05 through 0.5 mg/L (> 0.05 – 0.5 mg/L)	Greater than 0.5 through 2.0 mg/L (> 0.05 – 2.0 mg/L)	Greater than 2.0 mg/L (> 2.0 mg/L)
Dermal LD ₅₀	Up to and including 200 mg/kg (≤ 200 mg/kg)	Greater than 200 through 2000 mg/kg (> 200 – 2000 mg/kg)	Greater than 2000 through 5000 mg/kg (> 2000 – 5000 mg/kg)	Greater than 5000 mg/kg (> 5000 mg/kg)
Primary Eye Irritation	Corrosive (irreversible destruction of ocular tissue) or corneal involvement or irritation persisting for more than 21 days	Corneal involvement or other eye irritation clearing in 8 – 21 days	Corneal involvement or other eye irritation clearing in 7 days or less	Minimal effects clearing in less than 24 hours
Primary Skin Irritation	Corrosive (tissue destruction into the dermis and/or scarring)	Severe irritation at 72 hours (severe erythema or edema)	Moderate irritation at 72 hours (moderate erythema)	Mild or slight irritation at 72 hours (no irritation or erythema)

Modeled after the U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, Label Review Manual, Chapter 7: Precautionary Labeling.
<http://www.epa.gov/opptead1/labeling/lrm/chap-07.htm>

Tabella 4 Tossicità della Capsaicina in riferimento alla somministrazione

Attività biologica e meccanismo d'azione

Fintanto che non è stato individuato il meccanismo d'azione, curioso è sempre apparso l'effetto del peperoncino e della capsaicina, che provoca una sensazione di calore e bruciore senza tuttavia produrre lesioni sulla pelle né sulle mucose. Oggi sappiamo che l'effetto della capsaicina sulle mucose è dovuto alla stimolazione dei TRPV 1, un particolare tipo di recettori della famiglia dei TRP (*Transient Receptor Potential*); termocettori che sono sensibili peraltro anche a stimoli meccanici, nocicettivi e chimici. La capsaicina si comporta come agonista recettoriale – come del resto fa uno stimolo termico di 43-45°C – con conseguente percezione di dolore e bruciore, senza tuttavia provocare lesioni di tipo infiammatorio né caustico. A piccole e ripetute dosi provoca, successivamente, desensibilizzazione e analgesia. Possibili sono le reazioni allergiche, mentre fenomeni di irritazione si hanno solo a livello congiuntivale (da cui l'uso negli spray per autodifesa), oppure ad alte dosi. La tossicità diretta della capsaicina risulta pericolosa solo se somministrata per via endovenosa. La dose letale di capsaicina (DL50) è di 161 mg/kg nei ratti e di 118,8 mg/kg nei topi. In tutti i casi la morte è dovuta a paralisi respiratoria. Per un adulto la dose letale per ingestione sarebbe di oltre 10 g di capsaicina pura, mentre nei RCT sono stati utilizzati 2,5 g/die di polvere corrispondenti a soli 1,8 mg di capsaicina.

Il meccanismo d'azione della capsaicina può certo giustificare alcuni usi tradizionali del peperoncino ma la ricerca clinica si è focalizzata in particolare su alcuni disturbi neurologici o digestivi di carattere funzionale

Recettore TRPV1: cenni farmacologici

Il TRPV1 (transient receptor potential channel vanilloid type 1) è un trasduttore di stimoli nocicettivi sia fisici (calore, basso pH) che chimici come per la capsaicina, principio attivo del peperoncino rosso piccante (*Capsicum annuum*) (Caterina 1997), e la resiniferatossina derivato del lattice di una pianta simile ad un cactus (*Euphorbia resinifera*) tipica del Marocco.

Il recettore TRPV1 appartiene alla grande famiglia dei recettori TRP (transient receptor potential) che sono dei canali per cationi a sei domini di transmembrana. Sono permeabili a diversi cationi sia monovalenti che bivalenti ma mostrano una permeabilità più elevata verso il Ca^{2+} . I TRP sono stati identificati per primo in *Drosophila* e sono rappresentati da più di venti recettori suddivisi in sei sottofamiglie (Clapham 2003 Nature). Della sottofamiglia TRPV il TRPV1 è il solo che risponde alla stimolazione di prodotti naturali come la capsaicina o la resiniferatossina (RTX). È costituito da sei regioni di transmembrana con una regione del poro tra la quinta e la sesta, è assemblato come un tetrametro che si organizza intorno ad un poro acquoso centrale. I domini N e C terminali sono intracellulari, il dominio N terminale contiene tre domini ripetuti di anchirina mentre il dominio C terminale presenta i siti di legame per la calmodulina e per il fosfatidil inositolo 4,5 bisfosfato (PIP_2). Viene attivato da una temperatura ≥ 42 °C; la stimolazione da parte dei vanilloidi, il basso pH e la presenza di sostanze proalgesciche abbassano la soglia di attivazione di questo recettore (Ferrer-Montiel 2004). L'attivazione del TRPV1 nelle cellule dove è espresso determina un rapido aumento dei livelli di Ca^{2+} intracellulari. Nei neuroni ciò determina una depolarizzazione che se raggiunge un valore soglia determina l'insorgenza di un potenziale d'azione. L'attivazione del recettore è però subito seguita da uno stato di desensibilizzazione in cui i neuroni che esprimono questo recettore non rispondono a successive aggiunte di vanilloidi. Il TRPV1 oltre che nella membrana plasmatica si ritrova anche nella membrana del reticolo endoplasmatico. I TRPV1 sono molto abbondanti sulle fibre sensoriali periferiche di tipo C e A δ (Ferrer-Montiel 2004). A livello del sistema nervoso questo recettore è ampiamente distribuito. Nel cervello si trova infatti nei neuroni dopaminergici, nella sostanza nera, nei neuroni piramidali ippocampali, nei neuroni ipotalamici, nel locus coeruleus, in vari strati della corteccia, (van der Stelt 2004) infine è abbondantemente espresso a livello dei DRG (gangli delle radici dorsali del midollo spinale). Inoltre il TRPV1 è presente in cellule non appartenenti al sistema nervoso quali cheratinociti dell'epidermide, nella vescica, nell'urotelio, nella muscolatura liscia, nel fegato, nei granulociti polimorfonucleati e nei macrofagi. Studi su topi che non possiedono recettori TRPV1 funzionali hanno evidenziato che il TRPV1 è implicato nella percezione del dolore termico e infiammatorio (Caterina

2000). Il TRPV1 è anche coinvolto nell'infiammazione intestinale e nel dolore neuropatico. Il TRPV1 potrebbe giocare un ruolo importante anche in condizioni fisiologiche come la regolazione delle funzioni vescicali. Inoltre la presenza del TRPV1 in diversi nuclei cerebrali suggerisce che questo recettore è coinvolto nel controllo di funzioni del sistema nervoso centrale come la plasticità neuronale, il controllo della temperatura corporea, il food intake e il movimento (Szallasi, 2002).

Tra gli antagonisti conosciuti ci sono la capsazopina e la 5 iodio RTX (Wahl, 2001). Partendo dall'osservazione che la iodinazione dell'RTX (l'agonista più potente finora conosciuto di questo recettore) ha prodotto un potente inibitore del TRPV1 (la 5 iodio RTX) sono stati sviluppati nuovi antagonisti con l'alogenazione della capsaicina sintetica (nonanoil vanillamide = nordiidrocapsaicina) in posizione C-5 o C-6 della porzione vanillica con iodio, bromo o cloro. Si sono così ottenuti sei nuovi antagonisti, di questi gli alogenati in posizione 6 sono i più potenti. Inoltre gli iodio derivati sono più potenti dei bromo derivati e questi dei derivati del cloro, tutti e sei sono antagonisti competitivi (Appendino 2003). Il TRPV1 oltre ad essere attivato da composti esogeni come la capsaicina è attivato anche da derivati dell'acido arachidonico quali l'endocannabinoide anandamide (Smart 2000) e l'N-arachidonoil dopamina (NADA) (Huang 2002) e da metaboliti dell'acido arachidonico derivati dall'azione di lipoossigenasi su questo acido grasso, quali il 12-(S) e il 15-(S) HPETE (acido idroperossieicosatetraenoico); questi composti endogeni possono essere definiti endovanilloidi. Tra gli endovanilloidi sopra citati quello che mostra maggiore attività sul TRPV1 è la NADA che è in grado di attivare questo recettore in cellule HEK-293 che sovraesprimono il recettore con una potenza paragonabile alla capsaicina (Huang 2002), mentre l'anandamide mostra una potenza 5-10 volte inferiore. Altri composti endogeni come le N-acildopamine, N-palmitoildopamina e N-stearoildopamina (PALDA e STEARDA) pur non attivando direttamente il TRPV1 sono in grado di modulare (incrementandola) l'attività dell'anandamide e della NADA sul recettore dei vanilloidi (De Petrocellis), mentre una terza N-acildopamina la N-oleildopamina oltre ad incrementare l'attività dell'anandamide sul TRPV1 è in grado di attivare questo recettore da sola. Il TRPV1 può essere modulato tramite fosforilazione (De Petrocellis, 2001) ad opera della proteina chinasi A (PKA) e della proteina chinasi C (PKC). La PKA in seguito a fosforilazione rende il recettore più sensibile all'anandamide, mentre attivatori della PKC potenziano la risposta del recettore alla capsaicina, in un meccanismo che prevede sia la fosforilazione del recettore che l'idrolisi del PIP₂ che si comporta come un regolatore negativo dell'attività del TRPV1.

Estrazione ed isolamento del principio attivo

Metodi di estrazione utilizzati: Solventi

La popolarità del peperoncino è aumentata nel corso degli anni, con un gran numero di produttori emergenti in tutto il mondo. La capsaicina è stata ampiamente studiata attraverso ricerche sperimentali e cliniche, grazie alle sue importanti proprietà farmaceutiche e antiossidanti (Long e Medeiros, 2001; Rosa et al., 2002). Inoltre, la capsaicina è stata ampiamente utilizzata nelle creme anti-infiammatori e pomate, e come una contro-irritante in medicazioni chirurgiche e farmaci (Kanwar, 2002). Viene formulata in una vasta gamma di integratori di attualità e nutrizionali per la gestione del dolore e le condizioni artritiche.

La maggioranza della capsaicina utilizzata nella US Stati Uniti viene importato da altri paesi. I metodi più comunemente impiegati, per il recupero capsaicina, sono l'estrazione solido - liquido mediante solventi come esano, cloroformio, metanolo [9]. Tuttavia, l'estrazione con solvente comporta un alto consumo di energia, porta a problemi di smaltimento dei rifiuti tossici, e dà un prodotto che richiede un'ulteriore purificazione. Così, nuove tecnologie di estrazione devono essere stabiliti per migliorare le rese di recupero e riducendo i costi e impatto ambientale (Yao et al., 1994). Estrazione di fluidi supercritici (SCFE) metodi hanno il potenziale per affrontare questi miglioramenti necessari e aumentare la selettività e la purezza.

Solubilità della Capsaicina nel solvente d'interesse

Numerosi studi hanno documentato le preoccupazioni ambientali associate con il metallo-agenti antivegetativi di base. In uno studio, si riporta un uso procedura per aumentare la solubilità all'acqua della capsaicina mediante dissoluzione in solventi organici, come ad esempio metanolo, etanolo e acetone, poi gradualmente sostituendo il solvente organico con l'aggiunta di quantità nota di acqua e di evaporazione il solvente organico. Usando questo approccio, può essere determinata l'esatta quantità di capsaicina in acqua. Nel complesso, i risultati migliori sono stati ottenuti quando l'etanolo è stato utilizzato come solvente iniziale. La concentrazione ottimale di capsaicina in acqua è di 6,4 mg / ml o 6.400 ppm. Questa concentrazione è stata ottenuta utilizzando 16 mg di capsaicina disciolti in 0,8 ml di etanolo seguita da un graduale aggiunta di acqua distillata fino a 2,5 ml senza precipitazione di capsaicina. Poi, l'etanolo è stato evaporato lentamente immediatamente prima di ogni

precipitazione che si verifica nella soluzione. Questa procedura ha permesso oltre il di eliminare circa il 98% di etanolo mediante evaporazione[10].

Resa di estrazione su prodotto secco industriale

Sperimentalmente si è proceduto frantumando e sottoponendo a macerazione 400 g dei frutti essiccati di *Capsicum annuum* L. In particolare, sono state realizzate 3 estrazioni di 72 ore ciascuna con alcool metilico e 3 estrazioni di 72 ore ciascuna con *n*-esano. Le soluzioni metanoliche e le soluzioni in *n*-esano sono state riunite e distillate mediante un evaporatore rotante ad una temperatura di 30-35 °C, con lo scopo di evitare la degradazione termica dei principi attivi, a costituire l'estratto totale (55.56 g e 29.46 g rispettivamente per l'estratto in metanolo e l'estratto in *n*-esano).

Entrambi gli estratti dei campioni di peperoncino sono stati sottoposti ad analisi tramite gascromatografia associata a spettrometria di massa (GC-MS), utilizzando un gas-cromatografo Hewlett-Packard 6890N corredato di colonna capillare con fase stazionaria in metilsilicone, SE 30 (30 m x 0.25 mm, 0.25 µm), associato ad uno spettrometro di massa Hewlett-Packard 5973N.

Le analisi sono state realizzate con la seguente programmata di temperatura: isoterma a 60°C per tre minuti, aumento della temperatura da 60° a 280°C di 16°C al minuto, infine isoterma a 280°C per 10 minuti. La ionizzazione dei composti è stata realizzata per impatto elettronico (E.I.). Come gas di trasporto è stato utilizzato elio. L'iniettore e il detector sono stati mantenuti a 250°C e 280°C, rispettivamente.

Sia l'estratto in metanolo sia l'estratto in *n*-esano dei campioni di *C. annuum* si caratterizzano per la presenza di capsaicina e diidrocapsaicina come costituenti principali, nonché per la presenza di numerosi acidi grassi, tra cui acido palmitico, acido miristico, acido stearico, acido linoleico, e loro metil esteri, alcuni steroli e triterpeni.

Il contenuto in capsaicina è stato valutato mediante analisi gas cromatografia (GC), utilizzando capsaicina (Sigma-aldrich, Milano, Italia) come standard esterno. Per le analisi è stato impiegato il gas cromatografo Shimadzu modello gc 17 equipaggiato con FID detector e una colonna capillare non polare (30 m lunghezza; 0.25 mm i.d.; 0.25 µ film thickness; SE-30) e controllato con il software Borwin. Le analisi sono state realizzate in isoterma a 210 °C. Come gas di trasporto è stato utilizzato azoto. L'iniettore e il detector sono stati mantenuti a 250 °C e 280 °C, rispettivamente.

Il contenuto in capsaicina nei due estratti è risultato di: 81.24 mg/100 g di materiale vegetale per l'estratto in metanolo e di 76.56 mg/100 g di materiale vegetale per l'estratto in *n*-esano.

Metodi di estrazione ad alto rendimento: CO₂ Supercritica (SCF)

Estrazione con biossido di carbonio supercritico ha trovato molte applicazioni nel settore della trasformazione dei prodotti naturali [11], [12]. La maggior parte di queste applicazioni riguardano l'estrazione di materiali solidi in grandi vasi ad alta pressione, in batch o semi-batch mode. Frazionamento di liquidi in colonne di estrazione controcorrente è un processo più vantaggioso, in quanto può essere eseguito in modo continuo e con volumi molto più piccoli sotto pressione. Tuttavia, nella maggior parte dei casi, le sostanze "obiettivo" che devono essere recuperate dai prodotti naturali sono intrappolate nel materiale solido. Il frazionamento può essere utilizzato solo come un passo secondario, dopo l'estrazione di un primario con un solvente liquido. Il biossido di carbonio supercritico percepita come un non-solvente tossico. Inoltre, l'equilibrio di fase di acqua sistema ternario/etanolo/anidride carbonica è stato ampiamente studiato [13]. Al fine di esaminare la fattibilità della estrazione secondaria, deve essere determinato il coefficiente di ripartizione della sostanza di interesse tra l'alta pressione di anidride carbonica e l'acqua. Stahl et.al [14] sono stati i primi a studiare la solubilità di queste sostanze in anidride carbonica supercritica. La capsaicina (8-metil-N-vanillyl-6-nonenamide) e l'atropina sono tra i più solubile in biossido di carbonio. [15]. La capsaicina può essere estratta da tali impianti che utilizzano solventi diversi, tra cui il biossido di carbonio supercritico ed ha trovato numerose applicazioni [16], [17], [18]. Zeljko e Steiner [19] hanno studiato la solubilità riferita alla capsaicina in CO₂ densa in diverse condizioni sperimentali.

Solubilità della Capsaicina in CO₂ Supercritica

Il processo di estrazione con CO₂ (anidride carbonica, quindi non tossica) supercritica si basa

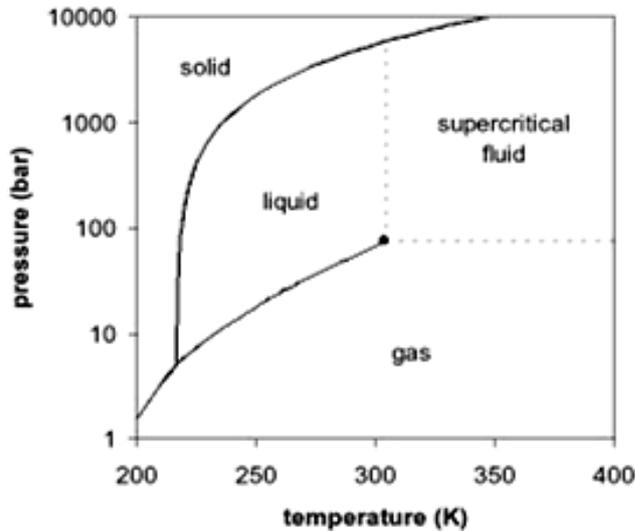


Figura 4 Diagramma di stato della CO₂

sul principio che, se la pressione è sufficientemente elevata, alcune sostanze gassose a temperatura ambiente possono liquefarsi ed essere utilizzate come solventi per l'estrazione di principi attivi e/o essenze naturali da vegetali. L'anidride carbonica, a temperature maggiori di 31°C e pressioni superiori a 73 bar, entra in stato cosiddetto supercritico e assume caratteristiche intermedie tra il liquido e il gas.

La CO₂ in queste condizioni può essere usata come un normale solvente di estrazione.

I dati relativi alla solubilità di miscele solide in un fluido supercritico (SCF) sono raramente riportati in letteratura. Per la maggior parte dei sistemi riportati è stato osservato che la solubilità di un particolare componente solida nel sistema ternario è notevolmente superiore a quello del puro solido sistema di SCF alla stessa temperatura e pressione (Lee et al., 1988). Questo era valido per i sistemi in cui i soluti sono altamente solubili in SCF. Il processo di estrazione della capsaicina con solventi organici ha mostrato alcuni svantaggi (il solvente non può essere completamente rimosso, le alte temperature di distillazione può causare estratto di denaturazione, gli estratti contengono sottoprodotti come gli acidi grassi, la capsaicina, ecc), che sono state minimizzate utilizzando SCF come estrazione con solvente . Un processo per la produzione di oleoresina da peperoncino con SC di CO₂ è relativamente ben descritto in letteratura (Coenen et al., 1982; Coenen e Kriegel, 1983; Coenen e Hagen, 1983; Knez et al., 1991; Knez e Kerget, 1994).

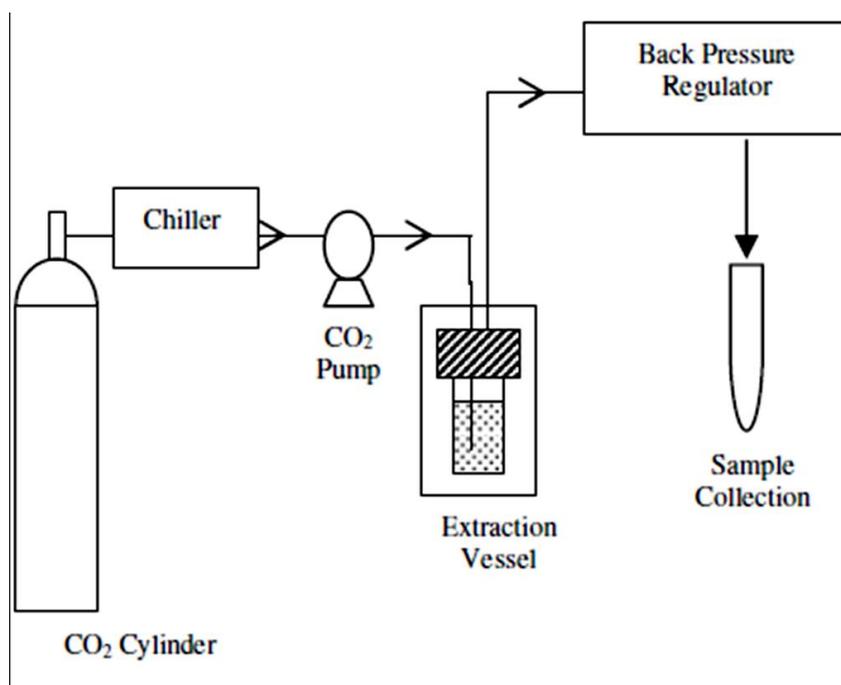


Figura 5 Diagramma di flusso di un tipico impianto in CO₂ SC

I dati di solubilità per la capsaicina delle emissioni di CO₂ possono essere trovati in letteratura (Sakaki, 1992; Cygnarowicz et al., 1990; Kerget et al., 1995; Knez e Steiner, 1992), tuttavia, non vi erano dati sul comportamento del sistema ternario che si forma dall'interazione di carotenoidi - capsaicina - CO₂.

Applicazioni attuali

Nel peperoncino ritroviamo una sostanza dotata di interessanti attività fitoterapeutiche. La capsaicina, che si concentra nei frutti e nei semi del frutto, è nota per le sue proprietà rubefacenti (se applicata sulla cute induce vasodilatazione con effetto congestionante transitorio), digestive (aumenta la secrezione di saliva e succhi gastrici), antiossidanti ed antibatteriche. Oltre all'effetto rubefacente, la capsaicina possiede anche un effetto dapprima dolorifico (da cui il caratteristico bruciore), poi analgesico; ciò ne giustifica l'impiego in pomate dedicate - ad esempio - al trattamento del mal di schiena, specie se di natura muscolare (una contrattura si avvantaggia anche dell'effetto rubefacente). Una volta applicata, la capsaicina induce il rilascio di neurotrasmettitori (**par. Recettore TRPV 1: cenni farmacologici**) dolorifici dalle terminazioni locali determinando il tipico bruciore; dopo alcune applicazioni, comunque, questa sensazione svanisce, poiché i nervi si "svuotano" di neurotrasmettitori dolorifici e perdono sensibilità nei confronti della sostanza; ciò determina una ridotta percezione del dolore. Attualmente si stanno indagando le possibili applicazioni terapeutiche di sostanze analoghe alla capsaicina ma dotate di minor effetto irritante; oltre a

quelle già segnalate ricordiamo la possibile utilità della sostanza contro la caduta dei capelli (non solo per il tradizionale uso esterno, ma soprattutto per quello interno).

Una recente ricerca [20] ha permesso di evidenziare in che modo essa influenzi la capacità dei recettori per il dolore di adattarsi agli stimoli, una caratteristica comune a molti apparati sensoriali.

Per tali ragioni la capsaicina è stata scelta per essere veicolata nelle microemulsioni, formulate secondo le caratteristiche descritte nei capitoli precedenti, della presente ricerca.

Bibliografia

- [1] **Ruth E. Wachtel**, Capsaicin, Ph.D
- [2] **Irena Perucka, Wiesław Oleszek**, Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography, *Food Chemistry* 71 (2000) 287±291
- [3] **Degim, I. T.; Uslu, A.; Hadgraft, J.; Atay, T.; Akay, C.; Cevheroglu, S.** *Int J Pharm* 1999, 179, 21
- [4] **Fang, J. Y.; Wu, P. C.; Huang, Y. B.; Tsai, Y. H.** *Int J Pharm* 1995 126, 119
- [5] **Ma, L.; Chow, J. Y. C.; Wong, B. C. Y.; Cho, C. H.** *Life Sci Including Pharmacol Lett* 2000, 66, 213
- [6] **Terashima, S. I.; Ogawa, K.** *Brain Res* 2002, 958, 468
- [7] **Cichewicz, R. H.; Thorpe, P. A.** *J Ethnopharmacol* 1996, 52, 61
- [8] **Dorantes, L.; Colmenero, R.; Hernandez, H.; Mota, L.; Jaramillo, M. E.** *Int J Food Microbiol* 2000, 57, 125
- [9] **Tapia, J.C., Garcia, R., Escamilla, E.M., Calva, C., and Rocha, J.A.** 1993. Capsaicin recovery from a cell culture broth. *Industrial Engineering and Chemical Research* 32: 2242 – 2246.
- [10] **Cafer Turgud, Bi-min Newby, and Teresa J. Cutright**, Determination of Optimal Water Solubility of Capsaicin for its Usage as a Non-toxic Antifoulant, *ESPR - Environ Sci & Pollut Res* 11 (1) 7 - 10 (2004)
- [11] **G. Brunner**, Processing of natural materials by supercritical gases. In: M. Perrut and P. Subra, Editors, *Proceedings of the 5th Meeting on Supercritical Fluids. Materials and Natural Products Processing 2* (1998), p. 413
- [12] **M. Mukhopadhyay** *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*, CRC Press, Boca Raton, FL (2000) (ISBN: 0849308194)
- [13] **C.M.M. Duarte, A. Aguiar Ricardo, T. Casimiro, N. Ribeiro and M. Nunes da Ponte**, Correlation of vapor-liquid equilibrium for carbon dioxide+ethanol+water at temperatures from 35 °C to 70 °C. *Sep. Sci. Technol.* 35 14 (2000), p. 2187
- [14] **E. Stahl, W. Schilz, E. Schütz and E. Willing**, A quick method for the microanalytical evaluation of the dissolving power of supercritical gases. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17 (1978), p. 731
- [15] **C.M.M. Duarte, A. Aguiar-Ricardo, M. Nunes da Ponte, K. Dost and G. Davidson**, Processing of atropine using supercritical CO₂: a preliminary study. In: M.

- Poliakoff, M.W. George and S.M. Howdle, Editors, *Proceedings of the 6th Meeting on Supercritical Fluids. Chemistry and Materials* (1999), p. 59
- [16] **M. Majeed, V. Badmaev, L. Prakash, S. Natarajan and S. Gopinathan**, *Capsaicin—The Anti-arthritis Phytochemical*, Nutriscience Publishers, Piscataway, NJ (1997) (ISBN: 0-9647856-2-5)
- [17] **U. Nguyen, M. Anstee and D.A. Evans**, Extraction and fractionation of spices using supercritical carbon dioxide. In: M. Perrut and P. Subra, Editors, *Proceedings of the 5th Meeting on Supercritical Fluids. Materials and Natural Products Processing 2* (1998), p. 523.
- [18] **C.M.M. Duarte, M. Crew, A. Aguiar-Ricardo and M. Nunes da Ponte**, Processing of capsaicin using supercritical CO₂. In: M. Perrut and E. Reverchon, Editors, *Proceedings of the 7th Meeting on Supercritical Fluids. Particle Design-Materials and Natural Products Processing 2* (2000), p. 681.
- [19] **K. Zeljko and R. Steiner**, Solubility of capsaicin in dense CO₂. *J. Supercrit. Fluids* 5 (1992), p. 251.
- [20] **Jing Yao, Feng Q**, Interaction with Phosphoinositides Confers Adaptation onto the TRPV1 Pain Receptor,

Principi di Reometria

Si chiama reometria la branca della reologia che ha lo scopo di determinare sperimentalmente le proprietà meccaniche di un materiale (de Cindio, 2006). Le misure reologiche presuppongono di misurare contemporaneamente una grandezza di tipo cinematico (ad esempio una velocità lineare o angolare) e una grandezza di tipo dinamico (una coppia, una forza, una differenza di pressione). Nel caso dei reometri di tipo rotazionale la grandezza cinematica è la velocità di rotazione (angular velocity) dell'elemento rotante e la grandezza dinamica è il momento torcente (torque) da applicare per avere una data velocità di rotazione. Velocità di rotazione e momento torcente sono grandezze macroscopiche misurabili legate alle grandezze locali (shear rate e shear stress) da relazioni che dipendono dal tipo di geometria che si considera.

Sedimentation	0.000001	to	0.0001	1/s
Drops from a water faucet	0.0001	to	0.1	1/s
Extrusion	1	to	100	1/s
Spreading butter on bread	10	to	50	1/s
Mixing, stirring	10	to	1000	1/s
Creaming	500	to	10 000	1/s
Pumping	1000	to	50 000	1/s
Spraying, squirting, silk-screening	10 000	to	100 000	1/s

Tabella 1 Esempi di tipici Shear Rate

Newtonian	The viscosity is independent of the shear rate
Structural viscosity	Broad term for all non-Newtonian flow phenomena
Pseudoplastic	The viscosity shows Newtonian flow properties at low shear rates but the viscosity decreases above a critical shear rate
Plastic	The viscosity decreases with increasing shear rate
Dilatant	The viscosity increases with increasing shear rate
Thixotropic	The viscosity decreases at constant temperature and constant shear rate over time and returns to its original state in a finite time when the shear is removed
False thixotropy	The viscosity decreases at constant temperature and constant shear rate over time and does not return to its original state in a finite time when the shear is removed
Rheopexy	The viscosity increases at constant temperature and constant shear rate over time and returns to its original state in a finite time when the shear is removed

Figura 1 Definizioni a $T = \text{costanti}$

La reologia si occupa della deformazione di corpi sotto stress. I corpi possono essere in qualunque stato fisico; particolarmente interessanti possono essere le prove di reologia su liquidi viscosi o su solidi "pastosi". I solidi ideali si deformano elasticamente, in altre parole tutta l'energia necessaria alla deformazione è restituita. I liquidi e i gas, non avendo forma propria, invece "scorrono" e si deformano sempre permanentemente. L'energia di deformazione non può essere recuperata. Molti materiali usati in industria presentano un comportamento reologico a metà fra quello dei liquidi puri newtoniani e quello dei solidi elastici. In pratica, sono sostanze "visco-elastiche", così chiamate per caratterizzare il loro reale comportamento. Innanzi tutto definiamo alcune grandezze fisiche che ci aiutano a classificare il comportamento delle varie sostanze in base appunto a tali caratteristiche. Introduciamo lo "shear stress" σ , definito così:

Solidi:

$$\sigma = G x \frac{dL}{dh} \cong G x \gamma \quad (\text{Eq.1})$$

Liquidi:

$$\sigma = \eta x \frac{dV}{dh} \cong \eta x \frac{dy}{dt} \quad (\text{Eq.2})$$

Per i solidi, G è definito come modulo di Young (in Pa) o "shear modulus", mentre per i liquidi η è definita viscosità, e si misura in Pascal per secondo, poiché la derivata temporale di una grandezza adimensionale ha le dimensioni di un Hertz (1/s). Lo shear stress σ si misura in Pa, mentre lo "strain" γ si definisce adimensionale.

Per un solido viscoelastico, si ha:

$$\sigma = G \gamma + \eta \dot{\gamma} \quad (Eq.3)$$

Un reometro è fatto appositamente per misurare proprietà visco-elastiche, e applica uno sforzo ad un solido o ad un liquido (linuz.sns.it).

I reometri possono essere classificati in base a condizioni di misura (stress controlled o strain controlled), condizioni di flusso (shear, elongazionale, complesso), condizioni di moto (rotazionali e non rotazionali) e condizioni di geometrie (varie geometrie delle celle di misura). La relazione tra sforzo e deformazione che fornisce i parametri materiali può essere trovata applicando un campo di deformazione noto e misurando la risposta del materiale come campo di sforzi (reometro a deformazione controllata) oppure applicando un campo di sforzi noti e misurando, in questo caso, la risposta del materiale come campo di deformazioni (reometri a sforzo controllato).

I reometri possono operare in diverse condizioni di flusso:

1. flusso a taglio (shear)

Il flusso a taglio (shear flow) è quello più utilizzato in reometria, che si pone l'obiettivo di misurare le proprietà dei materiali nelle condizioni più semplici possibili ed essendo lo shear flow il moto più semplice da realizzare. In queste condizioni all'interno di un fluido in movimento si possono individuare superfici ideali che si muovono rigidamente le une rispetto alle altre senza subire deformazioni, ed inoltre il gradiente di velocità è perpendicolare alla direzione del moto. Il flusso a taglio (shear flow) è quello più utilizzato in reometria, che si pone l'obiettivo di misurare le proprietà dei materiali nelle condizioni più semplici possibili ed essendo lo shear flow il moto più semplice da realizzare. In queste condizioni all'interno di un fluido in movimento si possono individuare superfici ideali che si muovono rigidamente le une rispetto alle altre senza subire deformazioni, ed inoltre il gradiente di velocità è perpendicolare alla direzione del moto. Il flusso shear è un flusso viscosimetrico in cui le condizioni di flusso sono tali da garantire la costanza della storia di deformazione lungo le traiettorie delle singole particelle. Il flusso viscosimetrico costante, si realizza quando le condizioni di flusso viscosimetrico vengono mantenute anche in tutto il campo di flusso e l'analisi dei dati è molto semplice.

2. elongazionale

Il flusso elongazionale è invece caratterizzato da gradienti di velocità in direzione del flusso, non è confinato tra due superfici e si realizza tipicamente in assenza di pareti solide, e cioè per

deformazione della massa liquida in aria o altro ambiente gassoso o anche in un altro liquido immiscibile. Può essere uniassiale, biassiale o planare (de Cindio, 2006).

3. complesso.

Il flusso complesso è un misto tra flusso a taglio ed elongazionale ma il suo utilizzo avviene solo a livello empirico.

I reometri si distinguono anche in rotazionali e non rotazionali. Nei reometri rotazionali viene misurato lo sforzo ad una certa velocità (reometri control rate) oppure la velocità ad un determinato valore di sforzo (reometri control stress). Il sensore di misura è progettato per permettere il calcolo di grandezze reologicamente pertinenti. In questi strumenti rotazionali il campione è collocato tra due superfici in rotazione l'una rispetto all'altra, le linee di flusso sono circolari (chiuse), si applica una velocità di deformazione legata alla velocità di rotazione e si misura il momento torcente. Il tipo di moto che si realizza nei reometri rotazionali è un moto a taglio (o di scorrimento o viscosimetrico) che, per il fatto che le traiettorie degli elementi di fluido sono circolari, ha la possibilità di portarsi in condizioni stazionarie (steady simple shear flow). Questi reometri sono caratterizzati da vantaggi e svantaggi.

I principali vantaggi che definiscono le caratteristiche di questi strumenti sono:

1. si può lavorare in condizioni stazionarie
2. servono piccole quantità di campione per l'analisi
3. il flusso in particolari condizioni può essere viscosimetrico uniforme con uno shear rate uniforme in tutto il campo di moto
4. il campione può essere deformato per il tempo desiderato dando così una notevole possibilità di rilevazione di dati per materiali che presentano effetti temporali
5. gli esperimenti in transitorio avvengono in condizioni controllate.

Oltre ai vantaggi citati, esistono anche una serie di svantaggi tra cui:

1. la necessità di un'attenta termostatazione del reometro per via degli effetti termici che in caso di innalzamento della temperatura possono diventare proibitivi per una realistica misura delle proprietà reologiche soprattutto nel caso delle alte velocità di rotazione,
2. la possibilità di espulsione dalla geometria di analisi a velocità di rotazione troppo elevata per effetto dell'insorgenza di forze centrifughe molto intense,
3. si può avere la presenza di effetti di bordo legati alla perdita di solvente.

Per quel che riguarda la geometria delle celle di misura si distinguono :

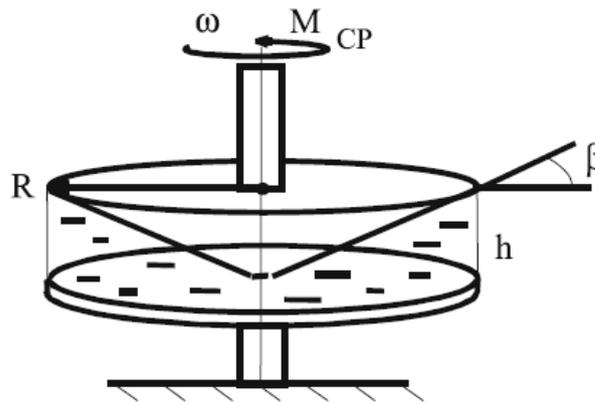


Figura 2: geometria piatto e cono

Una superficie si trova in rotazione relativa con una velocità angolare Ω costante. Generalmente, gli angoli del cono sono molto piccoli e variano tra $0,1^\circ$ e 4° .

Quando l'angolo è piccolo si favorisce la ritenzione del materiale all'interno della cella di prova e si riducono gli effetti termici ed inerziali. Rispetto ai couette, questa geometria offre una superficie di misura minore per cui è da preferirsi per misure di viscosità più elevate. Tale geometria permette inoltre di realizzare un flusso viscosimetrico uniforme poiché tutti gli elementi nelle geometria mostrano la stessa velocità di deformazione, calcolabile facilmente dalla conoscenza della velocità di rotazione imposta e dalle caratteristiche geometriche. Quindi, tramite il legame tra geometria e grandezze macroscopiche e microscopiche, la misura risulterà piuttosto accurata.

Questa geometria non è molto utilizzata per sospensioni ed emulsioni, a causa del gap fissato (dipendente dalle geometrie della cella di prova). Le sospensioni e le emulsioni possono contenere dimensione particelle di dimensioni confrontabili a quella del gap, inficiando di fatto la misura delle caratteristiche desiderate.

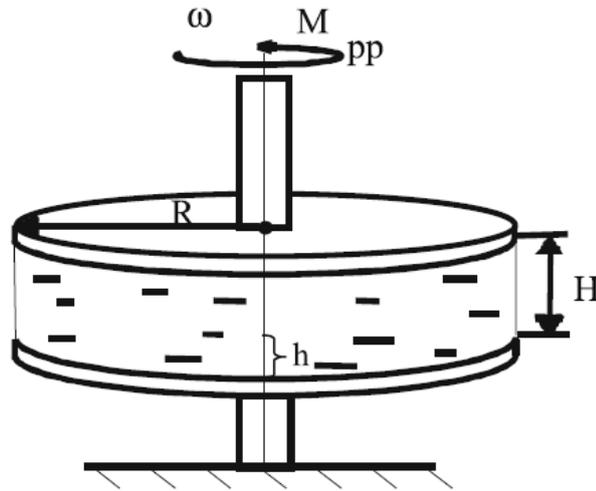


Figura 3: geometria a piatti paralleli

In un reometro a deformazione controllata, con la geometria a piatti paralleli, attraverso la rotazione del motore si controlla Ω (velocità di deformazione) e si misura il momento. Il flusso si presenta viscosimetrico ma non uniforme, per cui una stessa misura è meno accurata di quella ottenuta con la geometria cono-piatto, dovendo passare attraverso elaborazioni matematiche.

A differenza della geometria a cono-piatto, il gap non è fissato e si presta meglio all'analisi di materiali la cui eterogeneità potrebbe comprometterne la misura.

Il materiale è sottoposto ad un flusso di trascinamento nell'anulus compreso tra due cilindri di cui uno in rotazione e l'altro stazionario. Tale geometria è da preferirsi per l'analisi di materiali a bassa viscosità, ma richiede quantità maggiori di campione rispetto alle altre geometrie. A parità di sforzo con le altre geometrie, infatti, questa fornisce una superficie di lettura maggiore, quindi una torsione ed una coppia maggiore e una maggiore sensibilità dello strumento per la lettura di materiali poco viscosi. Il flusso viscosimetrico costante si può realizzare solo se l'anulus tra i due cilindri è molto piccolo, il che comporta non poche difficoltà costruttive (perfetta coassialità, tolleranze molto piccole) (de Cindio, 2006).

Generalità sulla viscosità

La viscosità è la manifestazione dei fenomeni di attrito nel moto di scorrimento dei fluidi. Se si considera uno strato di spessore L confinato tra due lastre piane parallele, posta in moto una delle due piastre con velocità v_0 nella direzione e verso delle x crescenti, il fluido viene

trascinato con essa e a regime si avrà una distribuzione delle velocità nel fluido come quella mostrata nella figura seguente:

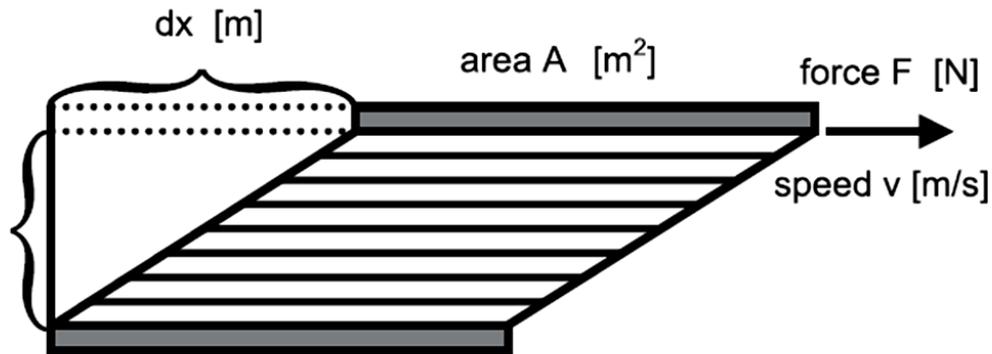


Figura 4 andamento della velocità in un fluido compreso tra due piastre

Per flusso laminare si intende un flusso nel quale gli strati fluidi si muovono parallelamente tra loro senza dar luogo a vortici. Per flusso stazionario si intende che la velocità misurata in un punto è costante nel tempo. Nel caso in esame questo si traduce nel fatto che $v(x,y,z,t) = v(z)$. Scegliamo di assegnare ad ogni punto dello spazio il valore del vettore velocità posseduto dall'elemento fluido che lo occupa in quel momento. Questo approccio è detto euleriano. L'approccio alternativo, detto "Lagrangiano", consiste nel considerare le singole particelle di fluido (o elementi di fluidi) e seguirle nel loro moto. Si osserva che gli strati di fluido a contatto con le piastre (strati limite) aderiscono ad esse: lo strato limite a contatto con la piastra superiore si muove con velocità v_0 mentre quella inferiore è in quiete.

Per mantenere in movimento la piastra superiore con velocità costante è necessario applicare ad essa uno sforzo di taglio $\tau = F/A$ (Eq.4) dove A è l'area della piastra.

Applicando una forza costante F tangente alla superficie superiore, questa si muoverà con una velocità costante v trascinando con sé la superficie ad essa inferiore, che a sua volta trascinerà quella sottostante, e così via.

In particolare, ognuna di queste superfici scorrerà con velocità sempre minore rispetto a quella sovrastante, fino ad arrivare all'ultimo strato che rimarrà fermo. La differenza di velocità tra due superfici, è espressa dalla relazione:

$$dv = f \frac{F}{A} dy = f\tau dy \quad (Eq.5)$$

dove dv/dy è la **velocità di taglio** e F/A è la **forza di taglio**, o **sforzo**.

Questa equazione, di natura sperimentale, indica che la variazione di velocità, dv , fra due superfici è:

- ✓ direttamente proporzionale alla fluidità f del mezzo;
- ✓ direttamente proporzionale alla forza esterna applicata F (in quanto responsabile del moto d'insieme del fluido);
- ✓ direttamente proporzionale alla distanza fra due superfici (maggiore è la distanza dalla base, maggiore è la velocità di scorrimento);
- ✓ inversamente proporzionale all'area A di una qualsiasi superficie (in quanto con esse aumentano, con azione frenante, le interazioni fra due superfici affacciate);

Riportando su un grafico la velocità di taglio, dv/dy , in funzione della forza di taglio applicata, t , si ottiene un "reogramma" costituito da una retta passante per l'origine: i fluidi che scorrono secondo questo andamento, sono detti fluidi newtoniani.

Il coefficiente angolare della retta è f , e misura la fluidità del mezzo o la facilità di scorrimento.

Considerando infine l'inverso del coefficiente di fluidità, si ottiene una misura del coefficiente di viscosità del mezzo: $h = 1/f$. Così, la retta A rappresenta un mezzo meno viscoso di B .

Le dimensioni di h si ricavano dalla relazione:

$$\eta = \frac{1}{f} = \frac{F}{A} \frac{dy}{dv} \quad [\eta] = \frac{N \cdot \text{sec}}{m^2} = \frac{kg}{m \cdot \text{sec}} = Pa \cdot \text{sec} \quad (Eq.6)$$

In realtà, la viscosità di un fluido è una grandezza anisotropa, ossia varia con la direzione. Se si pone l'equazione nella forma:

$$\frac{dv}{dy} = \frac{1}{\eta} \frac{F}{A} \quad (Eq.7)$$

si evidenzia che la viscosità di un fluido è definita dal gradiente della velocità di scorrimento, segue che la viscosità deve essere misurata nelle direzione in cui si ha massima velocità di scorrimento. La viscosità è una costante nel senso che non dipende dallo sforzo applicato ma dipende da altri parametri quali la velocità di deformazione, la temperatura, la pressione o il tempo di shearing ed è quindi importante esaminare quale possa essere la dipendenza da queste grandezze. La relazione scritta sopra è nota come legge di Newton ed è una relazione molto semplice che stabilisce una proporzionalità tra lo sforzo applicato e il gradiente di velocità. I fluidi per i quali è valida la relazione sono detti newtoniani, la viscosità è costante e non dipende da t e dal gradiente di velocità. Si chiamano curve di flusso i diagrammi in cui lo sforzo e la viscosità (o i loro logaritmi) sono riportati in funzione della velocità di deformazione (o del suo logaritmo). Le curve di flusso in scala lineare sono rette passanti per

l'origine degli assi, mentre in scala logaritmica sono rette con pendenza unitaria. I fluidi che non seguono la relazione di Newton, sono generalmente indicati come non newtoniani e per essi la viscosità varia con l'intensità dello sforzo.

Come detto sopra, la viscosità dipende da diversi fattori tra i quali la velocità di deformazione. Nella maggior parte dei casi la viscosità diminuisce all'aumentare della shear rate esibendo un comportamento detto pseudo-plastico o shear-thinning. In pochi casi è possibile rilevare un comportamento opposto in cui la viscosità aumenta all'aumentare dell'intensità dello sforzo ed il comportamento esibito è di tipo dilatante o shear thickening.

A questa seconda categoria appartengono i polimeri fusi ed in soluzione concentrata e quindi i materiali strutturati in quanto l'applicazione di una deformazione può provocare o un riarrangiamento o una distruzione della microstruttura tali da far aumentare o diminuire la resistenza al flusso con la shear rate [1]. Per i fluidi newtoniani c'è proporzionalità tra la variazione della velocità nella direzione ortogonale allo sforzo di taglio applicato e l'intensità dello sforzo.

In Figura 6 sono rappresentati dei reogrammi non lineari, caratteristici dei fluidi non newtoniani.

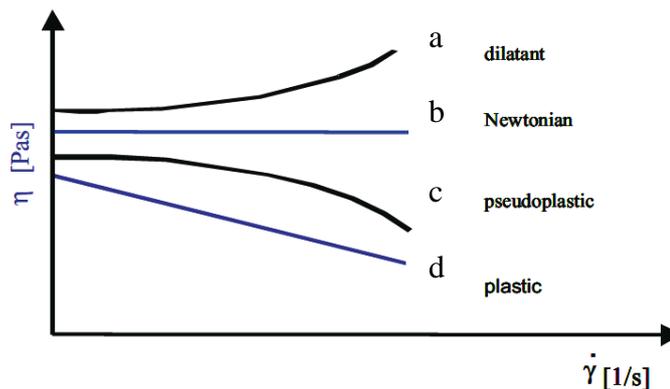


Figura 6 Differenti curve di viscosità

L'andamento mostrato in Figura 6d rappresenta il comportamento di un fluido che presenta flusso plastico. Queste sostanze sono in grado di reggere sforzi di taglio senza che si verifichino deformazioni se lo sforzo è inferiore ad un valore di soglia ψ che prende il nome di valore limite di scorrimento. Al di sopra del valore limite di scorrimento, il fluido segue con buona approssimazione la legge di Newton. Presentano flussi plastici le sospensioni concentrate nelle quali il materiale in sospensione fornisce una certa struttura al sistema, che può scorrere una volta vinte le forze di legame che gli danno coesione (www.galenotech.org). Nel caso di flusso pseudo plastico, Figura 6c, si ha scorrimento anche in presenza di sforzi di modica entità, ma la viscosità non è definita in modo univoco.

Essa può essere definita come funzione dello sforzo applicato e si determina a partire dalla pendenza $f(\tau)$ della tangente alla curva come $\eta(\tau) = 1/ f(\tau)$. Si vede che nel caso di flusso pseudoplastico, la viscosità diminuisce al crescere dello sforzo applicato (shear thinning, nella terminologia anglosassone). Questo comportamento è proprio dell'argilla, dei sistemi colloidali, della gelatina, del cemento liquido e dei polimeri in soluzione. I meccanismi responsabili del flusso pseudoplastico sono dovuti al fatto che queste sostanze non sono omogenee, ma costituite da particelle di forma irregolare disperse in una base liquida, da emulsioni o da molecole caratterizzate da catene lunghe.

Nel caso di un flusso dilatante rappresentato in figura 6a (shear thickening) si ha un aumento della viscosità al crescere dello sforzo applicato. Questo comportamento è caratteristico delle sospensioni di particelle solide ad elevata concentrazione (>50%) non aggregate (ad esempio le sospensioni di amido in acqua, paste all'ossido di zinco) (Masera,2007). In condizioni di riposo, gli spazi tra le particelle in sospensione sono ridotti al minimo. Il fluido che permea gli spazi liberi è in grado di assicurare scorrimenti modesti. Al crescere dello sforzo applicato, aumenta il moto delle particelle, che si urtano fra loro determinando un aumento degli spazi liberi che non riescono ad essere riempiti dal veicolo liquido che pertanto non riesce a garantire una lubrificazione adeguata: questo determina un aumento della viscosità [2]. Per molti fluidi non newtoniani la curva del reogramma percorsa per sforzi crescenti non coincide con quella per sforzi decrescenti, in altri termini il gradiente di velocità non è una funzione univoca dello sforzo applicato, ma può dipendere dalla velocità con cui variano gli sforzi e dal tempo per cui sono applicati. Questo fenomeno prende il nome di tixotropia. I sistemi tixotropici sono costituiti da particelle che formano una struttura non molto stabile: in condizione di quiete il materiale ha la consistenza di un gel. In presenza di sforzi di taglio, la struttura si disgrega ed il sistema acquisisce fluidità. Lo stato di gel si ricostituisce lentamente, una volta cessata la sollecitazione. Le vernici tixotropiche sono caratterizzate da una certa fluidità quando vengono applicate e pertanto soggette a sforzi, ma non colano perché riprendono consistenza dopo l'applicazione (Masera, 2007).

Andamento della viscosità apparente (fluido pseudoplastico) (de Cindio,2007)

L'andamento generale della viscosità di un fluido pseudoplastico è mostrato, su scala logaritmica, in figura 6c.

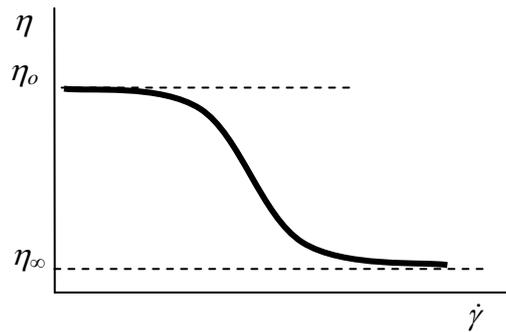


Figura 7 Andamento della viscosità apparente (fluido pseudoplastico)

Nel limite di shear rate estremamente basse o estremamente alte, la viscosità si mantiene costante ed il fluido esibisce due regioni newtoniane, in particolare il valore che si ha per valori molto piccoli di $\dot{\gamma}$, al limite tendente a zero, è definito viscosità zero shear, e corrisponde alla cinematica asintotica dei flussi lenti. Viceversa il valore limite a valori molto elevati di $\dot{\gamma}$, non ha un ben definito significato cinematico, ma spesso si ritrova nei sistemi strutturati come viscosità del materiale completamente destrutturato.

La misura dei due valori asintotici non è, in genere, molto semplice e dipende sia dal comportamento del materiale sia dal tipo di strumento utilizzato; il limite inferiore, è raggiunto per valori molto piccoli di shear rate, spesso non ottenibili con strumenti commerciali e richiede, comunque, elevati tempi di misura. Il limite superiore, invece, sarebbe raggiungibile, a $\dot{\gamma}$ così elevati, laddove insorgono problemi di slittamento sulle superfici solide o turbolenze ed instabilità di flusso nel campione, che rendono impossibile la misura. Esistono numerosi modelli empirici che cercano di correlare la forma della curva di flusso descritta, ma uno dei più comuni, è senz'altro quello detto di Cross:

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^m)} \quad (Eq.8)$$

in cui η_0 e η_{∞} si riferiscono rispettivamente ai limiti newtoniani a basse e ad alte velocità di deformazione, λ è un parametro costante con le dimensioni di un tempo che rappresenta il reciproco della velocità di deformazione alla quale la viscosità inizia a diminuire, m è una costante adimensionale legata alla pendenza della curva.

Nel caso in cui sia possibile fare alcune approssimazioni, l'equazione di Cross si semplifica riducendosi ad altri modelli largamente utilizzati nelle applicazioni pratiche. In particolare si ha:

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \frac{1}{(\lambda\dot{\gamma})^m} \quad (Eq.9)$$

ponendo $\eta_0\lambda^{-m} = k$ e $m = 1 - n$, l'equazione 4 può essere riscritta come:

$$\eta = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (Eq.10)$$

che è la ben nota “legge di potenza”, in cui k è noto come indice di consistenza e n come indice di flusso. Questo modello empirico di correlazione descrive, spesso, in modo adeguato, il comportamento di numerosi fluidi nella regione in cui la viscosità diminuisce all'aumentare della shear rate. Per la sua versatilità e facilità di applicazione è usato largamente per descrivere le proprietà di fluidi non-Newtoniani sia nelle analisi teoriche, sia in applicazioni ingegneristiche. La legge di potenza, comunque, non è in grado di descrivere gli asintoti newtoniani ed è molto rischioso usarla al di fuori dei limiti sperimentali in cui è stata verificata, per questi motivi, in genere, non si effettuano estrapolazioni superiori ad una decade rispetto all'intervallo di shear rate sperimentale.

L'equazione (Eq.3) si può semplificare conseguentemente in:

$$\eta = \eta_\infty + \frac{\eta_0}{(\lambda\dot{\gamma})^m} \quad (Eq.11)$$

che di nuovo può essere riscritta come:

$$\eta = \eta_\infty + k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (Eq.12)$$

Questa equazione di correlazione viene riferita come modello di Sisko.

Può essere utile mettere in evidenza che il fluido fin qui considerato non esibisce uno sforzo di soglia, o *yield stress*, ossia uno sforzo al di sotto del quale il materiale non fluisce comportandosi come un solido, o comunque tale sforzo è così piccolo rispetto allo sforzo dovuto al flusso da renderlo trascurabile.

Il concetto di sforzo di soglia, benché utile in varie applicazioni pratiche, rimane ancora oggetto di discussione e l'apparente assenza di flusso è attribuita, da alcuni, non ad uno sforzo di soglia ma alla presenza di un'altissima viscosità, che provocherebbe un moto così lento da renderlo non percepibile in tempi relativamente brevi.

La stessa misura di questo sforzo presenta notevoli problematiche sperimentali se si usano strumenti in cui si impone la velocità di deformazione, dovendo misurare proprio lo sforzo, viceversa l'utilizzo di reometri a sforzo controllato consente di imporre un valore dello sforzo, consentendo così valutazioni molto più precise o quantomeno affidabili. Nei casi in cui sia

presente uno sforzo di soglia le equazioni precedenti vanno riviste ed è necessario introdurre un parametro aggiuntivo, lo yield stress τ_y .

Come esempio viene riportata l'equazione di Herschel-Bulkley, che è una forma modificata della già citata legge di potenza:

$$\tau = \tau_y + k\dot{\gamma}^n \quad (\text{Eq.13})$$

Alcuni esempi di modelli empirici utilizzabili in vari casi sono riportati in Tabella 1, ma molti altri possono essere trovati in letteratura.

Di volta in volta è possibile utilizzare il modello che sembra meglio correlare i dati sperimentali, ricordando che comunque i risultati così ottenuti non sono in generale estrapolabili.

Modello di flusso	Equazioni di flusso
<i>Legge di potenza</i>	$\tau = k\dot{\gamma}^n$
<i>Cross</i>	$\tau = \eta_\infty \dot{\gamma} + \frac{(\eta_0 - \eta_\infty) \dot{\gamma}}{1 + (\lambda \dot{\gamma})^{1-n}}$
<i>Casson</i>	$\tau^{1/2} = \tau_y^{1/2} + \eta_\infty^{1/2} \dot{\gamma}^{1/2}$
<i>Carreau</i>	$\tau = \eta_\infty \dot{\gamma} + \frac{(\eta_0 - \eta_\infty) \dot{\gamma}}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^2)^{\frac{1-n}{2}}}$
<i>Herschel-Bulkley</i>	$\tau = \tau_y + k\dot{\gamma}^n$

Tabella 2 Modelli di flusso

Le leggi di potenza, come quelle di Casson e di Ostwald, descrivono bene il comportamento di fluidi tecnicamente importanti come i polimeri fusi.

Al variare dell'indice di comportamento n varia il comportamento dei fluidi descritti:

- $n = 1$ fluidi newtoniani
- $n < 1$ fluidi con shear thinning
- $n > 1$ fluidi con shear thickening

Dipendenza dalla temperatura (de Cindio, 2007)

Molti fluidi presentano una forte dipendenza della viscosità dalla temperatura, e pertanto è necessaria una grande attenzione alla termostatazione dei viscosimetri. Ad esempio per

l'acqua uno scarto di 1°C può provocare un errore nella misura superiore al 3%, valore che in alcune applicazioni di alta precisione può essere non tollerabile. Per liquidi di elevata viscosità la dipendenza dalla temperatura diventa più forte ed è richiesta, quindi, un'attenzione ancora maggiore.

Se il materiale in esame non presenta variazioni strutturali, reazioni chimiche o transizioni di stato, generalmente la viscosità diminuisce all'aumentare della temperatura, per effetti puramente cinetici, l'andamento può essere descritto approssimativamente da un'equazione simile a quella di Arrhenius

$$\eta = Ae^{\frac{B}{T}} \quad (\text{Eq.14})$$

I parametri A e B possono essere ricavati correlando i dati sperimentali mediante l'equazione 9; se il fluido non è newtoniano bisogna tenere in considerazione anche la dipendenza dalla velocità di deformazione e l'equazione 9 può essere usata per correlare alcuni dei parametri delle equazioni viste precedentemente.

Nel caso in cui non si abbiano solo effetti puramente cinetici, la dipendenza dalla temperatura è più complessa e non è possibile fornire un'equazione generale, ed ogni caso va valutato singolarmente.

Dipendenza dalla pressione (de Cindio,2007)

La viscosità di un fluido aumenta, in generale, esponenzialmente con la pressione, ad eccezione dell'acqua per la quale si è trovata un'iniziale diminuzione e poi un successivo aumento esponenziale. Le variazioni di viscosità, in genere, sono abbastanza modeste per piccoli scostamenti dalle condizioni atmosferiche e per molti scopi pratici possono essere trascurate. Esistono, comunque, alcune situazioni in cui queste variazioni vanno considerate, basti pensare, ad esempio, al caso dei lubrificanti o dei fluidi di perforazione, utilizzati normalmente ad altissime pressioni (fino a 1 GPa i primi, fino a 20 MPa i secondi).

In questi casi è possibile trovare variazioni della viscosità di quasi quattro ordini di grandezza per un aumento di pressione di 0.5 GPa .

Viscosità: definizione ed applicazione

Le misure reologiche forniscono informazioni utili in merito alla microstruttura e alla stabilità di una emulsione. Nello specifico, l'oggetto del presente lavoro di tesi è lo studio del comportamento reologico delle microemulsioni con diversa concentrazione di Capsaicina.

La caratterizzazione reologica delle emulsioni è stata effettuata attraverso misure di viscosità sia a 4°C che a 37°C. Questi sistemi, formulati secondo criteri di cui ai capitoli I-II-III, devono possedere bassa viscosità [3] per avere una maggiore penetrazione cutanea.

La viscosità è la proprietà fisica di un fluido generata dal suo attrito interno, che si manifesta come resistenza al flusso della massa, ed è definita dalla forza che si oppone alla variazione irreversibile di posizione dei suoi elementi di volume. La sua misura, nei sistemi formulati [4,5], mette a disposizione della ricerca e del controllo tecnologico un'importante proprietà delle sostanze naturali e dei prodotti industriali, atta a valutare il loro comportamento nello studio del moto dei fluidi, per es. lo scorrimento in condotti, i processi di distribuzione su superfici (verniciatura, spalmatura, lubrificazione, ecc.) e la loro possibilità di lavorazione, applicazione o impiego. Lo studio della viscosità è un capitolo della reologia, la scienza che studia la deformazione della materia nei suoi diversi stati di aggregazione sotto l'azione di forze agenti su di essa. Allo stato solido in genere è associato il concetto di deformazione elastica reversibile, ai liquidi quello di flusso viscoso o deformazione irreversibile. Tale distinzione non è netta perché i materiali a struttura complessa (sostanze macromolecolari naturali e artificiali) presentano contemporaneamente ambedue i comportamenti. In un solido ideale l'energia impiegata per la deformazione elastica viene restituita, quando cessa l'applicazione della forza, per ripristinare la forma iniziale del corpo. In un fluido ideale il processo di generazione del flusso viscoso è irreversibile, e l'energia cinetica assorbita nello sforzo di scorrimento viene dissipata sotto forma di calore. Dal punto di vista reologico si considerano fluidi tutti i materiali omogenei o eterogenei, i quali, sotto l'azione di uno sforzo di scorrimento o taglio ("shear"), subiscono una deformazione viscoelastica parzialmente irreversibile: in pratica tutti i materiali pastosi o solidi all'aspetto, che non hanno una struttura cristallina definita.

Le misure di viscosità sono un punto di riferimento nella formulazione di molti materiali (lubrificanti, materie plastiche, vernici, cosmetici, prodotti alimentari, ecc.). Una volta determinata la correlazione tra i dati reologici e le caratteristiche funzionali del prodotto, i valori di viscosità vengono usati come indice di prestazione, come nel caso dei lubrificanti. Dalle relazioni tra la viscosità ed altre grandezze fisiche del materiale, si possono rivelare le modificazioni di altre proprietà, come la densità, la stabilità, il contenuto in solidi e il peso molecolare, contribuendo a migliorare la fabbricazione o l'uso del prodotto. Il viscosimetro, o reometro, occupa un ruolo ben definito nel laboratorio tecnologico e di ricerca e deve essere

in grado di determinare correttamente i valori di viscosità in fluidi reali, il cui comportamento reologico si discosta più o meno ampiamente dalle leggi ricavate per i fluidi ideali.

Il comportamento viscoso delle microemulsioni è strettamente legato alla deformazione e all'orientamento delle gocce sospese nella fase continua. Sotto le condizioni macroscopiche stazionarie del flusso di scorrimento, le goccioline delle emulsioni sono soggette a due opposte forze: uno stress idrodinamico che tende ad allungare le particelle ed uno stress interfacciale che mantiene la fase dispersa in forma sferica.

Concludendo lo studio di tale proprietà, permette di ottimizzare i sistemi di microemulsioni [6] per le finalità a cui sono destinati.

Bibliografia

- [1] **Hibberd David J., Mackie Alan R., Moates Graham K., Robert Penfold, Andrew D. Watson and Gary C. Barker**, Preparation and characterisation of a novel buoyancy and refractive index matched oil-in-water emulsion, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, volume 301, Issues 1-3, 5 July 2007, Pages 453-461.
- [2] **Bourne, M.C.** 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, New York
- [3] **Fuller, G.G., C.A. Cathey, B. Hubbard and B.E. Zebrowski.** 1987. Extensional viscosity measurement for low-viscosity fluids. *J. Rheol.* 31: 235-249
- [4] **S. Ajith, A.C. Jhon, and A.K. Rakshit** 1994 Physicochemical studies of microemulsions pure, *Appl. Chem.* 66, 509–514; *Z.*
- [5] **Saidi, C. Matthew, J. Peyrelasse, and C. Boned** 1990 Percolation and structural exponents for the viscosity of microemulsions, *Phys. Rev. A* 42, 872–876;
- [6] **S. Ray, S.R. Bisal, and S.P. Moulik** 1992 Studies on structure and dynamics of microemulsion II: Viscosity behavior of water-in-oil microemulsion, *J. Surf. Sci. Technol.* 8, 191–208.

Fase sperimentale

Nel presente capitolo discuteremo dei materiali e metodi impiegati durante il lavoro sperimentale di tesi, svolto presso il Laboratorio di Reologia ed Ingegneria Alimentare del dipartimento di Modellistica per l'Ingegneria.

Questa sezione è dedicata alla descrizione della parte sperimentale del lavoro di tesi. Si riassume lo studio, la sequenza di prove sperimentali ed i materiali utilizzati nelle prove preliminari che hanno portato a strutturare il sistema ternario IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80.

Scelta della microemulsione e relativa preparazione

Per identificare la composizione ottimale della microemulsione da utilizzare nelle fasi successive di studio è stato necessario, in primo luogo, analizzare alcuni punti del sistema ternario per verificare l'attendibilità dei diagrammi di fase reperiti in letteratura e per avere una panoramica dell'evoluzione della microstruttura del sistema scelto, al variare della composizione.

Il diagramma di fase del sistema IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80 è stato esplorato in relazione ad alcune caratteristiche macroscopiche (aspetto, viscosità, stabilità a contatto diretto con l'acqua ed isotropia) delle principali fasi omogenee da esso esibite. Ogni punto analizzato è caratterizzato univocamente dalla terna di valori della composizione percentuale in peso. Unitamente ai valori di composizione, nelle Tabelle 2,3,4,5,6 sono riportati i valori delle formulazioni a diversi HLB, corrispondenti alla composizione di ogni punto studiato. Il parametro S/W indica la linea a rapporto in peso tensioattivo acqua costante; tale linea congiunge il vertice dell'olio puro con l'asse surfactanti – acqua. Per la regola della leva, valida nei diagrammi di fase ternari, questa linea interseca l'asse surfactanti/acqua nel punto corrispondente al rapporto in peso S/W. Il secondo parametro indica la linea a percentuale in peso di olio costante. Tale linea è parallela all'asse surfactanti/acqua ed interseca l'asse olio/acqua nel valore corrispondente alla percentuale in peso di olio nel sistema. Questi due parametri permettono una diretta visualizzazione dei punti studiati.

Diagramma di fase IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80

Per ogni HLB studiato è possibile visualizzare il corrispettivo diagramma ternario, ognuno è dominato da una estesa regione centrale, denominata dominio di esistenza delle microemulsioni. Tale dominio si ricava valutando la stabilità delle fasi e l'isotropia del sistema.

Questa regione è stata oggetto di molti studi atti a determinarne la microstruttura e come essa varia al variare della composizione.

Generalmente, nei sistemi IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80 si osserva che la microstruttura all'interno della regione è bicontinua soltanto per alti valori del rapporto S/W. Le misure di conducibilità elettrica delle microemulsioni unite alle analisi effettuate mediante le tecniche di scattering, mostrano che all'aumentare del volume d'acqua il dominio acquoso tende a disconnettersi.

Fenomeno analogo si ha mantenendo il rapporto S/W costante ed aumentando la quantità d'olio. Il sistema IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80 risulta essere di particolare interesse per diversi motivi. Al contrario degli altri sistemi i domini di esistenza non sono estesi fino all'angolo dell'olio puro. Questo comporta che la microemulsione bicontinua, all'aumentare della quantità di olio, non si disconnette totalmente ma si smiscela in una microemulsione bicontinua in equilibrio con eccesso di olio puro prima di trasformarsi in una emulsione od un gel. Si può quindi concludere che per il sistema esaminato in questa tesi i domini di esistenza delle microemulsioni sono caratterizzati in ogni suo punto da una microstruttura. Quello che varia è il grado di distribuzione delle gocce. Quest'ultima va a determinare un ulteriore sottodominio di esistenza, unendo quello che è il terzo parametro fondamentale per l'esistenza delle microemulsioni, cioè la dimensione nel range 20 - 200 nm. Di seguito i diagrammi ternari IPM / acqua + EtOH/ Tween80+Span80 a diversi HLB studiati, in cui si mettono in evidenza i sottodomini con dispersione delle goccioline comprese entro i limiti dei 200 nm.

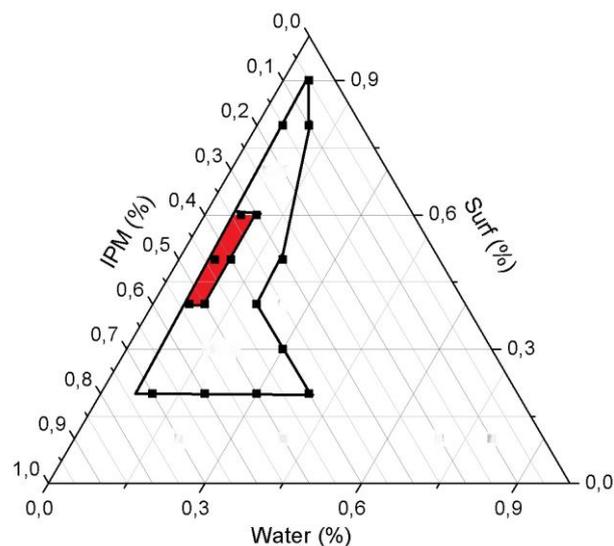


Figura 1 Diagramma ternario HLB 14, in rosso il sottodominio

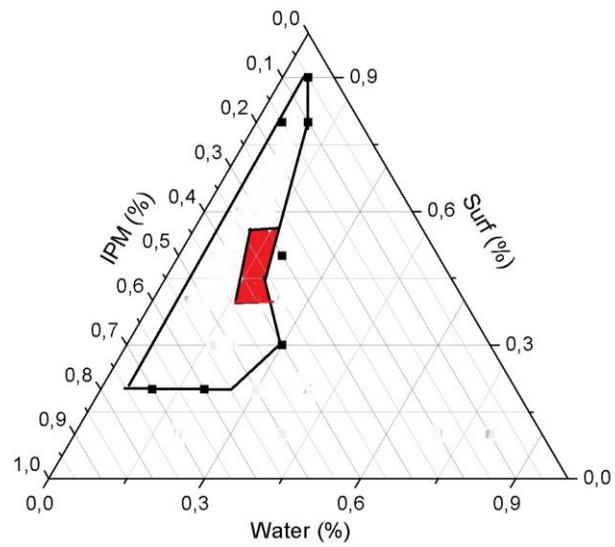


Figura 2 Diagramma ternario HLB 12, in rosso il sottodominio

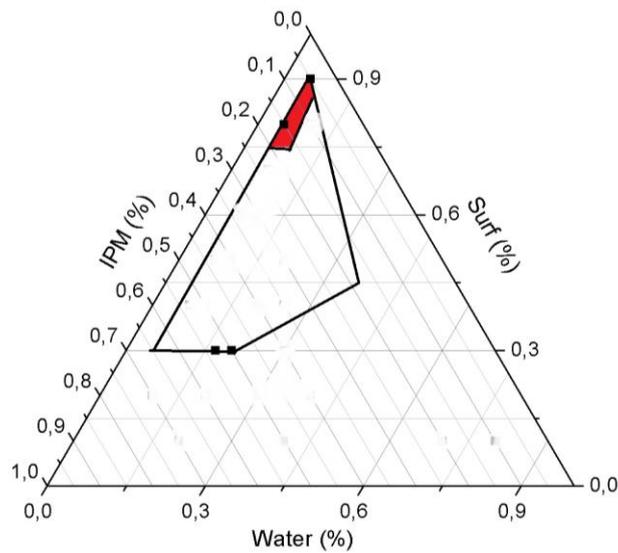


Figura 3 Diagramma ternario HLB 10, in rosso il sottodominio

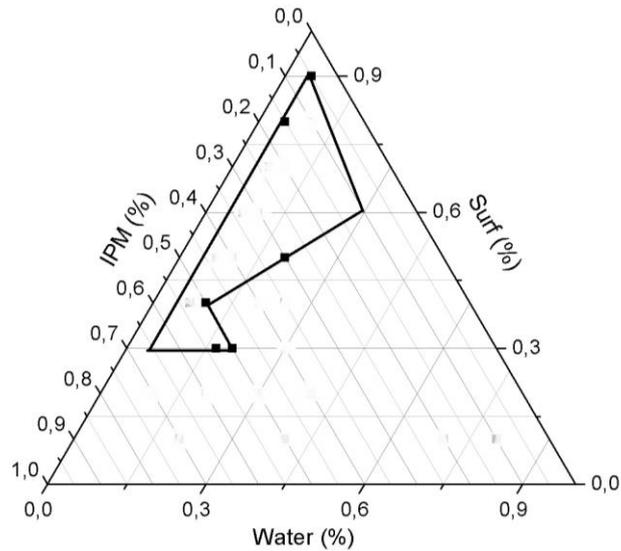


Figura 4 Diagramma ternario HLB 8

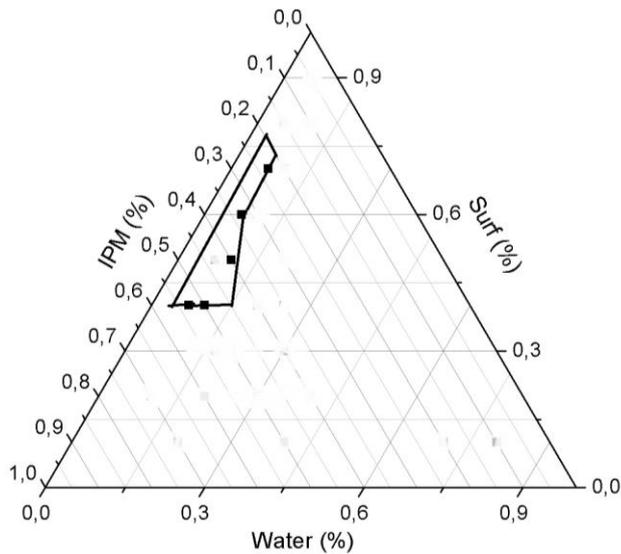


Figura 5 Diagramma ternario HLB 6

Descrizione dei componenti della microemulsione

Le emulsioni sono state preparate seguendo due processi differenti di emulsificazione, ovvero in batch.

Le emulsioni preparate in batch contengono:

- acqua distillata;
- IPM
- emulsionante Tween 80 (Sigma, Germania).
- emulsionante Span 80 (Sigma, Germania).
- Capsaicina

La fase oleosa utilizzata per effettuare le prove è stata scelta tra quelle aventi caratteristiche fluidodinamiche (densità, viscosità) ottimali per una microemulsione destinata a veicolare principi attivi e quindi utilizzabile in ambito cosmetico e farmaceutico.

Le proprietà di questo prodotto, garantite dal produttore, sono riportate nella tabella 1:

<i>Proprietà dell' IPM</i>	
Densità a 25° C	0.85 g/mL
Punto di infiammabilità [°C]	193 °C / 20 mmHg (lit.)

Tabella 1 - Proprietà dell' IPM secondo la scheda del produttore

Gli emulsionanti utilizzati, Tween 80 e Span 80, (polyoxyethilenesorbitan monostereate), sono stati scelti in quanto entrambi non tossici ed utilizzabili nelle microemulsioni farmaceutiche. La combinazione dei n° 2 emulsionanti, in proporzioni diverse, viene utilizzato per formulare microemulsioni con diversi HLB, in particolare sono state formulate microemulsioni con HLB 14,12,10,8,6. Per la presente ricerca si sono valutate soltanto le microemulsioni con HLB 14,12,10, in quanto le microemulsioni con HLB 8 e 6 non soddisfano quelle che sono le caratteristiche tipiche delle microemulsioni.

Preparazione delle fasi

Tutte le fasi sono state preparate con la seguente procedura. I componenti sono stati aggiunti consecutivamente in Becker in vetro graduati. Il tensioattivo è stato introdotto per primo pesando la quantità opportuna su bilancia analitica (precisione 0.01g).

Dopo aver impostato la tara su 0 g è stato aggiunto il volume opportuno di acqua mediante micropipetta, verificando il peso corrispondente. Dopo aver impostato nuovamente la tara su 0,00 g è stato aggiunto il volume opportuno di etanolo mediante micropipetta, verificando il peso corrispondente. Il sistema è stato posto in agitazione con agitatore magnetico per un. L'errore delle micropipette è stato valutato pesando ripetutamente, su bilancia analitica (precisione 0.001g), un volume noto di acqua deionizzata. La densità dell'acqua a 20° è stata considerata pari a 998,204g/cm³. L'errore è stato considerato pari alla media degli scarti tra le misure del peso di un dato volume e il volume stesso. L'errore massimo è risultato inferiore alla precisione della bilancia analitica utilizzata per la preparazione delle microemulsioni, perciò è stato trascurato.

Le seguenti tabelle riportano le composizioni delle fasi preparate per i diversi HLB studiati:

<i>μEmu</i>	<i>IPM</i>	<i>HLB</i>	<i>SPAN 80</i> (%)	<i>TWEEN 80</i> (%)	<i>Mix surf.</i> (gr)	<i>Ratio</i>	<i>WATER</i>	<i>ETH</i>	<i>CAPSAICIN</i> (N.I.)
1	20	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	70	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
2	10	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	80	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
3	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
4	70	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
5	40	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
6	70	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
7	60	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
8	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	30	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
9	15	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
10	10	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
11	5	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
12	40	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
13	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
14	53	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
15	35	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	25	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
16	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
17	53	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	17	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
18	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
19	53	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
20	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
21	53	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
22	50	14	9%	91%	3.6+36.4	> 1/10	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
23	53	14	9%	91%	3.6+36.4	>	7	40% in	6,4 gr/L(w-

					1/10		water	Eth
--	--	--	--	--	------	--	-------	-----

Tabella 2 Formulazione HLB 14

<i>μEmu</i>	<i>IPM</i>	<i>HLB</i>	<i>SPAN 80</i> (%)	<i>TWEEN 80</i> (%)	<i>Mix surf.</i> (gr)	<i>Ratio</i>	<i>WATER</i>	<i>ETH</i>	<i>CAPSAICIN</i> (N.I.)
<i>1</i>	20	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	70	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>2</i>	10	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	80	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>3</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>4</i>	70	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>5</i>	40	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>6</i>	70	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>7</i>	60	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>8</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	30	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>9</i>	15	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>10</i>	10	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>11</i>	5	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>12</i>	40	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>13</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>14</i>	53	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>15</i>	35	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	25	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>16</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>17</i>	53	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	17	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>18</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>19</i>	53	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>20</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>21</i>	53	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>22</i>	50	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>23</i>	53	12	28%	72%	11.2+28.8	> 1/2	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)

Tabella 3 Formulazione HLB 12

<i>μEmu</i>	<i>IPM</i>	<i>HLB</i>	<i>SPAN 80</i> (%)	<i>TWEEN 80</i> (%)	<i>Mix surf.</i> (gr)	<i>Ratio</i>	<i>WATER</i>	<i>ETH</i>	<i>CAPSAICIN</i> (N.I.)
<i>1</i>	20	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	70	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>2</i>	10	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	80	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>3</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>4</i>	70	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>5</i>	40	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>6</i>	70	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>7</i>	60	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>8</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	30	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>9</i>	15	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>10</i>	10	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>11</i>	5	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>12</i>	40	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>13</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>14</i>	53	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>15</i>	35	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	25	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>16</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>17</i>	53	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	17	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>18</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>19</i>	53	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>20</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>21</i>	53	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>22</i>	50	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>23</i>	53	10	46%	54%	18.4+21.6	< 1/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)

Tabella 4 Formulazione HLB10

<i>μEmu</i>	<i>IPM</i>	<i>HLB</i>	<i>SPAN 80 (%)</i>	<i>TWEEN 80 (%)</i>	<i>Mix surf. (gr)</i>	<i>Ratio</i>	<i>WATER</i>	<i>ETH</i>	<i>CAPSAICIN (N.I.)</i>
<i>1</i>	20	8	65%	35%	26+14	< 2/1	70	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>2</i>	10	8	65%	35%	26+14	< 2/1	80	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>3</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>4</i>	70	8	65%	35%	26+14	< 2/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>5</i>	40	8	65%	35%	26+14	< 2/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>6</i>	70	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>7</i>	60	8	65%	35%	26+14	< 2/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>8</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	30	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>9</i>	15	8	65%	35%	26+14	< 2/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>10</i>	10	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>11</i>	5	8	65%	35%	26+14	< 2/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>12</i>	40	8	65%	35%	26+14	< 2/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>13</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>14</i>	53	8	65%	35%	26+14	< 2/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>15</i>	35	8	65%	35%	26+14	< 2/1	25	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>16</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>17</i>	53	8	65%	35%	26+14	< 2/1	17	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>18</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>19</i>	53	8	65%	35%	26+14	< 2/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>20</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>21</i>	53	8	65%	35%	26+14	< 2/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>22</i>	50	8	65%	35%	26+14	< 2/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>23</i>	53	8	65%	35%	26+14	< 2/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)

Tabella 5 Formulazione HLB 8

<i>μEmu</i>	<i>IPM</i>	<i>HLB</i>	<i>SPAN 80 (%)</i>	<i>TWEEN 80 (%)</i>	<i>Mix surf. (gr)</i>	<i>Ratio</i>	<i>WATER</i>	<i>ETH</i>	<i>CAPSAICIN (N.I.)</i>
<i>1</i>	20	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	70	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>2</i>	10	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	80	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>3</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>4</i>	70	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>5</i>	40	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	40	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>6</i>	70	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>7</i>	60	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>8</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	30	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>9</i>	15	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>10</i>	10	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>11</i>	5	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	5	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>12</i>	40	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>13</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>14</i>	53	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>15</i>	35	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	25	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>16</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	20	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>17</i>	53	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	17	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>18</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>19</i>	53	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>20</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>21</i>	53	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>22</i>	50	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	10	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)
<i>23</i>	53	6	83%	17%	33.2+6.8	< 5/1	7	40% in water	6,4 gr/L(w-Eth)

Tabella 6 Formulazione HLB 6

Descrizione studio granulometrico

Lo studio granulometrico è uno dei migliori metodi per ottimizzare la qualità emulsione e l'analisi delle dimensioni gocce e che dà informazioni circa la stabilità del prodotto a lungo termine e della qualità della emulsione stessa. I campioni preparati secondo le tabelle 2,3,4,5,6 sono stati analizzati tramite **Mastersizer 2000 particle size analyzer** per identificare ed analizzare la distribuzione della fase dispersa e della fase disperdente. Lo strumento è essenzialmente un granulometro laser per l'analisi di sospensioni, emulsioni e polveri asciutte, consta di celle di misura intercambiabili per cambiare unità di campionamento in pochi secondi. Si è, inoltre, valutata la dimensione delle gocce disperse nell'emulsione e come questa variano al variare della composizione in percentuale degli ingredienti di base secondo le tabelle di cui in precedenza.

La misura della distribuzione è stata effettuata a 24 h dalla preparazione e si è monitorata la stabilità nei 3 mesi successivi, ciò soltanto per le emulsioni che non presentavano separazione di fase, flocculazione e sedimentazione, ma che mostravano un aspetto uniforme, isotropico e stabile.

Di seguito le diverse emulsioni ottenute, in cui si osserva l'isotropia delle microemulsioni ed i sistemi non stabili:



Figura 1 Microemulsione



Figura 2 Emulsione, non isotropica



Figura 3 Grado di sedimentazione

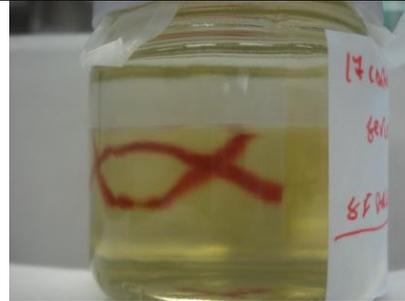


Figura 4 Grado di sedimentazione



Figura 5 Grado di sedimentazione



Figura 6 Flocculazione

Descrizione permeazione in vitro

Gli studi in vitro di permeazione sulla pelle sono stati eseguiti utilizzando cellule verticali e studiando la diffusione di Franz, con una superficie effettiva di diffusione della 0.413 cm^2 .

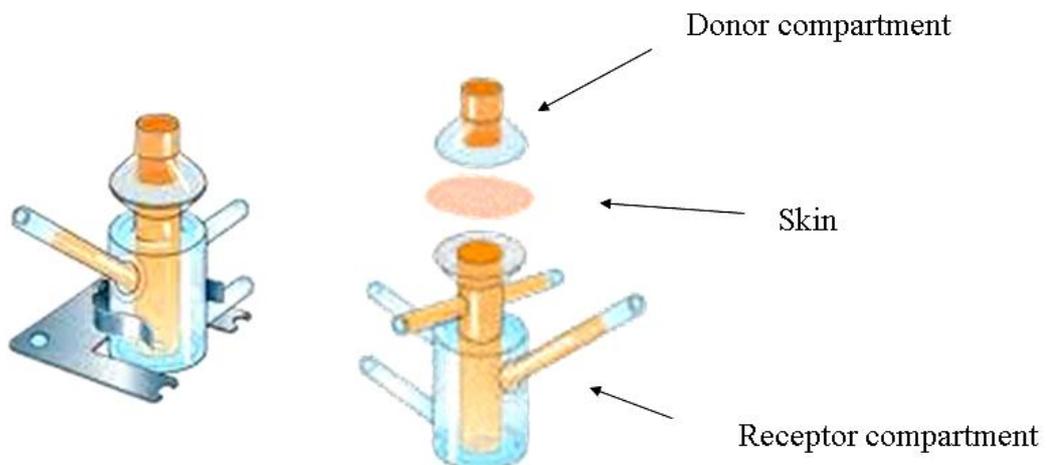


Figura 6 Schematizzazione della cella di Franz

Gli esperimenti sono stati effettuati utilizzando la pelle orecchie di coniglio, ottenuto da un macello locale. La pelle, precedentemente congelata a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, è stata pre-equilibrata in soluzione fisiologica a temperatura ambiente per 2 ore prima degli esperimenti.

Un pezzo circolare di questa pelle è stata inserita in modo protetto tra il compartimento recettore ed il compartimento donatore. Il compartimento donatore è stato dotato di un volume adeguato di dispersione del sistema di microemulsione, in modo che le moli del farmaco siano costanti. Il vano recettore è stata riempito con una soluzione di etanolo pari 5,5 ml, la quale è stata mantenuta a $37 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ed agitato magneticamente.

Prima di iniziare gli esperimenti della cellula donatrice è stata sigillata con parafilm.

Ad intervalli di un'ora fino a 12 ore del comparto ricevitore è stato rimosso e sostituito con un uguale volume di soluzione pre-termostatata ($37 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) fresca. La completa sostituzione del comparto ricevente era necessaria per garantire condizioni di immersione e la determinazione quantitativa delle piccole quantità di farmaco permeato. Quest'ultimo è stato raccolto in campioni ad intervalli regolari e definiti ed è stata valutata in tecnica di spettrometria UV-VIS.

Strumenti utilizzati per le misure reologiche

La strumentazione utilizzata, necessaria alla preparazione dei campioni in batch, è di seguito elencata:

- un agitatore magnetico fornito di piastra riscaldante, l'Ares Heating Magnetic stirred, Velp Scientific (Italia);
- per le misure della viscosità, il reometro ARES-RFS (TA Instrument,USA) dotato di geometria couette da 32 mm di diametro interno.

Le prove reologiche caratterizzanti le diverse emulsioni sono state effettuate con il reometro a strain controllato ARES-RFS, mostrato in Figura 12



Figura 12 Reometro Ares

Le caratteristiche tecniche del reometro sono riportate in tabella 6:

Caratteristiche tecniche del Reometro a <i>strain controllato</i>	
Velocità angolare	$10^{-3} - 100$ [rad/s]
Strain	5 - 500 [μ rad]
Frequenza	$10^{-5} - 200$ [rad/s]
Trasduttore	1KFRTN1
Range torque	0.2 - 100 [μ Nm]
Range forze normali/assiali	0.01 - 20 [N]
Peltier	-30 - 150 [°C]
Bagno	-10 - 150 [°C]

Tabella 6 Caratteristiche ARES

La geometria usata per la realizzazione delle prove è quella dei piatti paralleli utilizzata in particolar modo per fluidi a bassa viscosità che necessitano di una superficie di misura maggiore rispetto a quella ottenibile con altre geometrie. La termostatazione del sistema di misura è effettuata con un bagno con ricircolatore il cui fluido di esercizio è glicole etilenico mantenuto alla temperatura desiderata da un termocriostato. Il controllo

di tale sistema è comunque più lento rispetto al sistema Peltier utilizzabile nelle altre geometrie. Lo scopo è quello di determinare la viscosità delle emulsioni al variare della velocità di deformazione $\dot{\gamma}$, attraverso prove di step rate test e steady sweep test (flow curves). Lo step-rate test viene effettuato preventivamente rispetto allo steady sweep test ed è una prova fondamentale che fornisce la viscosità del materiale sottoposto ad analisi in funzione del tempo, a velocità di deformazione assegnata e costante. Da questa prova condotta in transitorio, si misura il tempo necessario al materiale per raggiungere un valore stazionario di viscosità e si utilizza questo tempo come fattore di ritardo prima della misura nel successivo steady-sweep test. Lo step rate test è stato effettuato al limite inferiore dell'intervallo di shear rate pari a 1 s^{-1} basandosi sulla sensibilità dello strumento. Lo steady-sweep test è una misura condotta in stazionario e dalla quale si ricava il valore di viscosità del campione in funzione della shear rate nel range compreso tra 1 e 100 s^{-1} .

Introduzione alla parte sperimentale

La prima parte del lavoro ha riguardato lo studio della stabilità delle microemulsioni realizzate, secondo le tabelle 2,3,4,5,6 del capitolo VI. In particolare si è definito quello che è il range dimensionale che caratterizza le microemulsioni, utilizzando un granulometro a laser. Successivamente, le microemulsioni così selezionate, sono state preparate utilizzando diverse percentuali della molecola di capsaicina. Quest'ultime sono state caratterizzate dal punto di reologico, mediante misure di viscosità sia alla temperatura di conservazione del prodotto e sia alla temperatura alla quale è stata eseguita la successiva fase di permeazione. Inoltre sono stati effettuati ulteriori studi dimensionali, per verificare che il sistema rientri nel dominio di esistenza delle microemulsioni ($20 < \mu\text{Emu} < 200 \text{ nm}$).

L'attenzione si è spostata verso ciò che è l'applicabilità dei sistemi così realizzati. In particolare si è valutato il comportamento del sistema di microemulsione contenente il farmaco a diverse percentuali e si è valutato il rilascio di tale sistema, mediante un studio di assorbimento cutaneo.

I successivi paragrafi saranno ordinati secondo quelle che sono la scelta dei punti chiave che debbono essere rispettati affinché un sistema di emulsione venga definito microemulsione, in particolare la stabilità termodinamica, l'isotropia e la dimensione delle gocce.

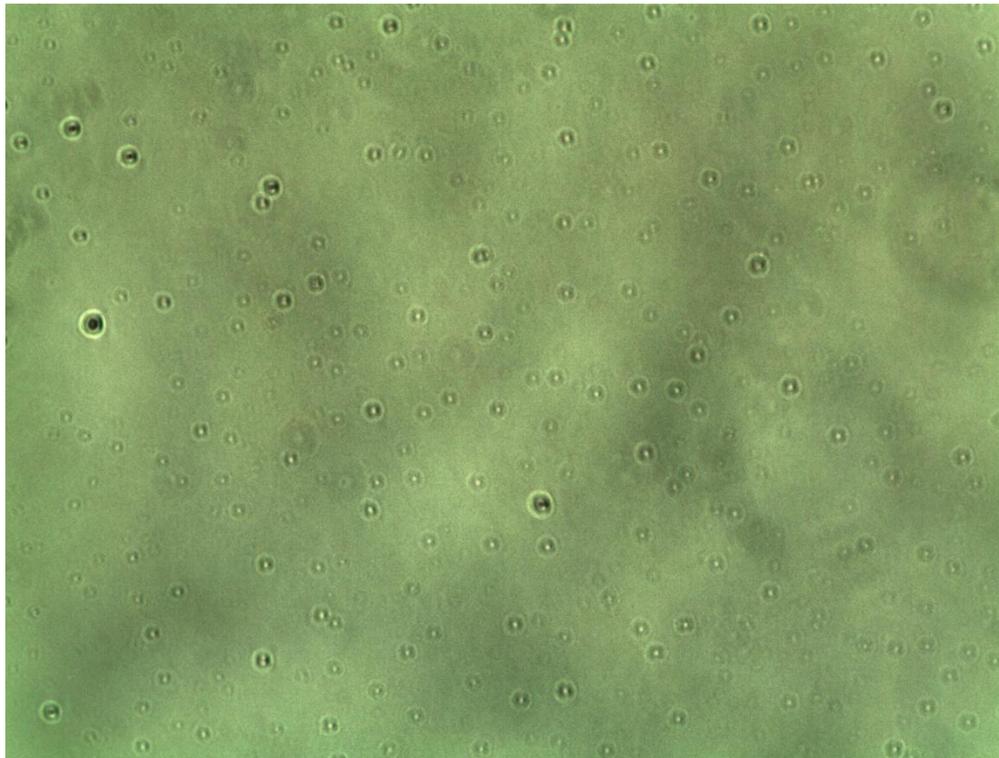


Figura 1 Micrografia al microscopio ottico (40X) delle microemulsioni studiate

Caratterizzazione dei sistemi

Sono stati prodotti diverse formulazioni di sistemi di IPM/Tween80/span80/water+EtOH, ciò per definire i domini di stabilità delle microemulsioni, così come descritto nel Capitolo VI.

Inoltre sono state preparate formulazioni contenenti quantità crescenti di capsaicina, con concentrazioni da 0,05%, 0,75%, 0,10% di principio attivo totale introdotto nella preparazione. Su questi lotti sono stati determinati diversi parametri: distribuzione dimensionale, efficienza di incapsulamento e rilascio del farmaco.

Nelle figure successive, ai diversi gradi di HLB, sono rappresentati gli andamenti delle dimensioni, misurate come diametro idrodinamico medio, delle microemulsioni ai diversi HLB studiati ed in più lo studio dimensione delle microemulsioni con incapsulamento del farmaco.

Studio granulometrico dei sistemi

Di seguito verranno inseriti i risultati granulometrici ottenuti dai sistemi che presentavano stabilità ed isotropia, per i diversi HLB. Dalle circa 23 formulazioni realizzate in media per ogni sistema di HLB, verranno inserite le sole curve più rappresentative per ogni sottodominio analizzato, inoltre le curva si riferiscono ai sistemi stabili dopo 3 mesi dalla preparazione.

Ciò da una maggiore attendibilità della stabilità e della qualità intrinseca delle microemulsioni realizzate. Per l'HLB 6 non esiste isotropia, probabilmente dovuto al fatto che le emulsioni realizzate non sono del tipo O/W.

Studio granulometrico HLB 14

E' possibile classificare le microemulsioni ad HLB 14 in diversi domini dimensionali, ciò è possibile utilizzando il sistema ternario IPM/Water+EtOH/Tween80/span80.

In particolare è possibile raggruppare l'intero dominio delle microemulsioni, che presentano stabilità ed isotropia, in tre diverse sottodomini, in cui la dimensione delle gocce risulta differente.

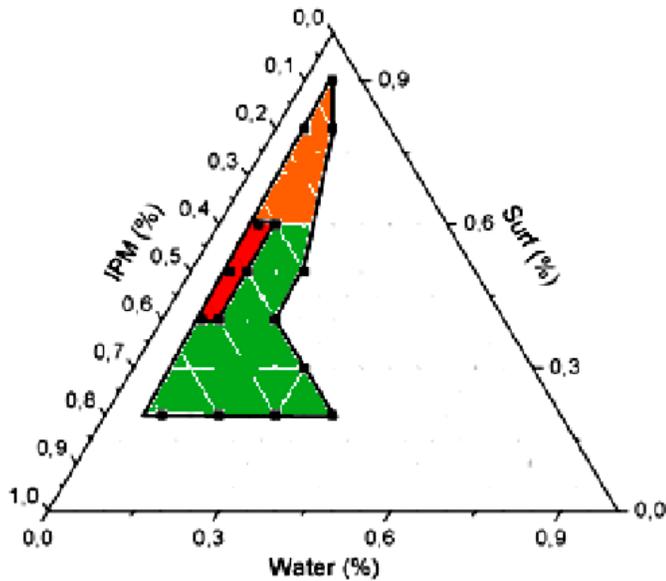
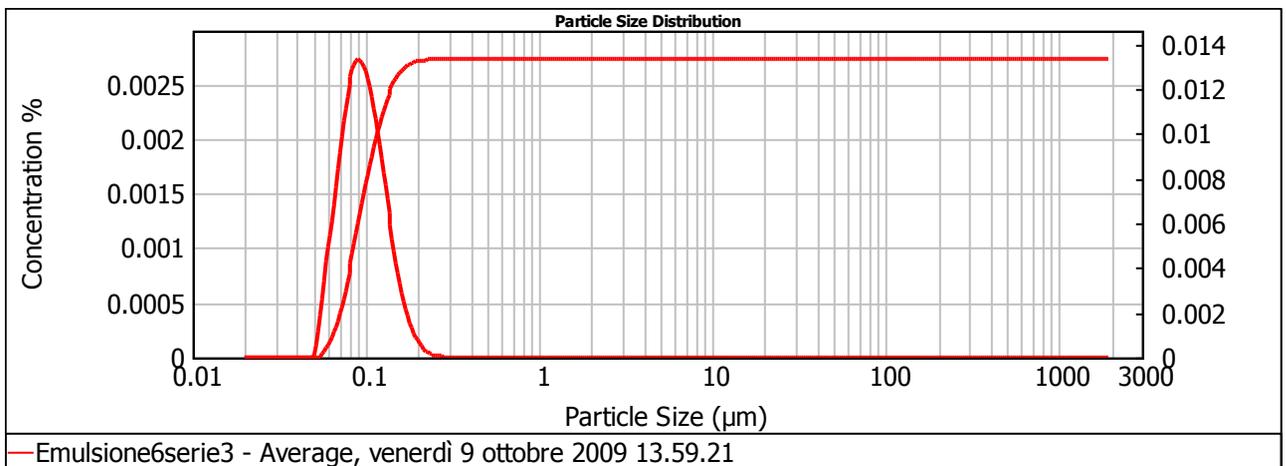
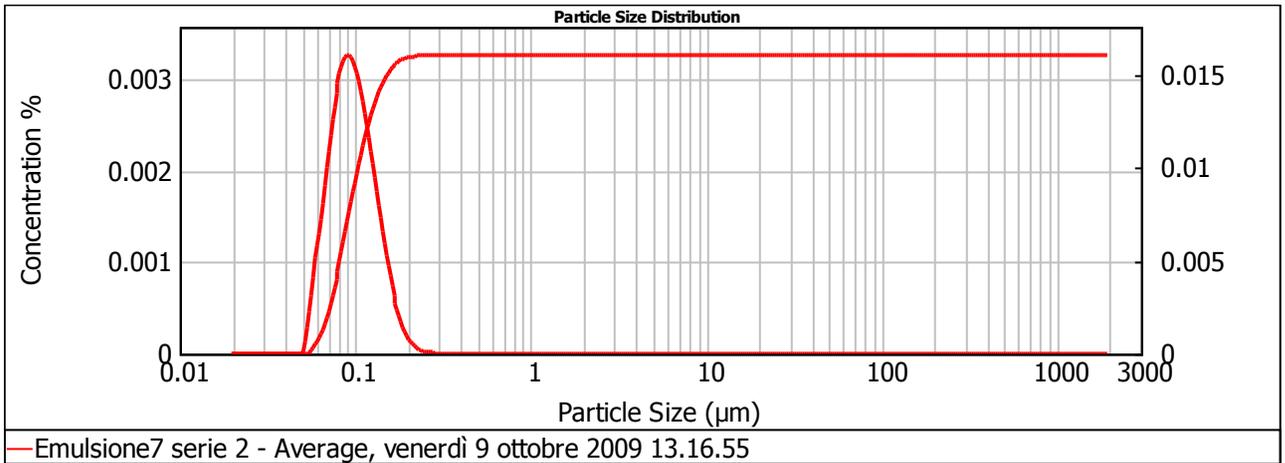
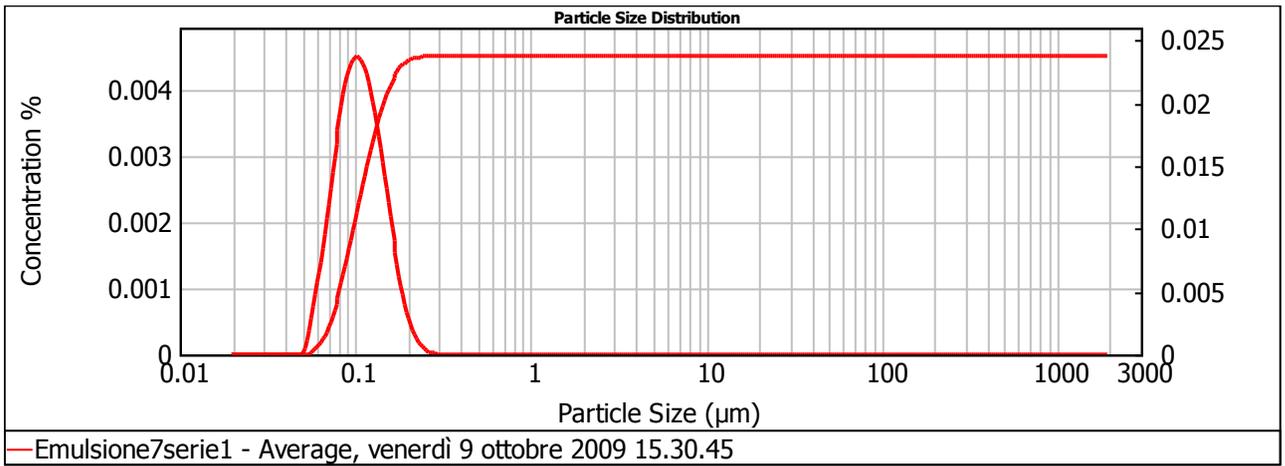
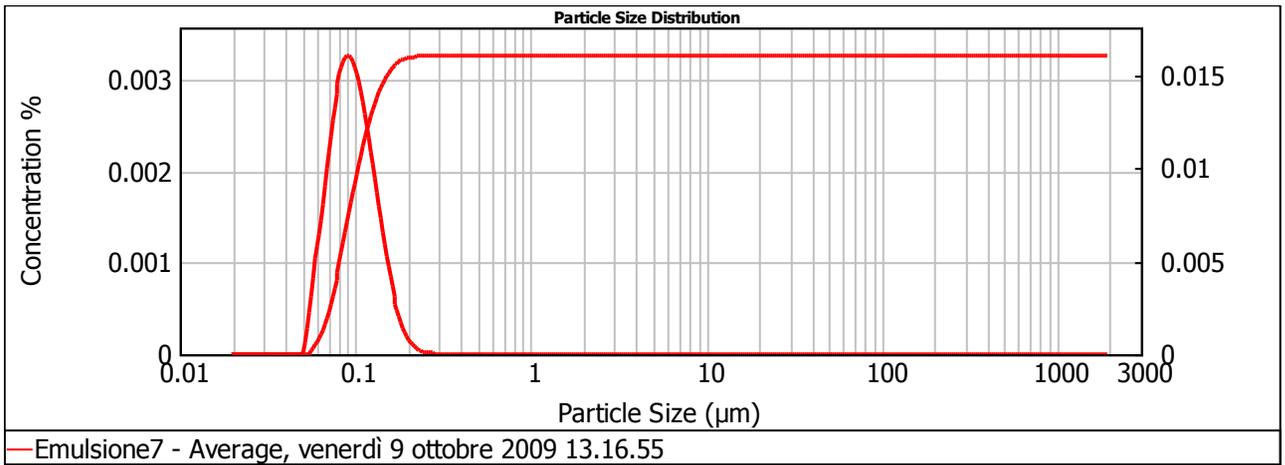
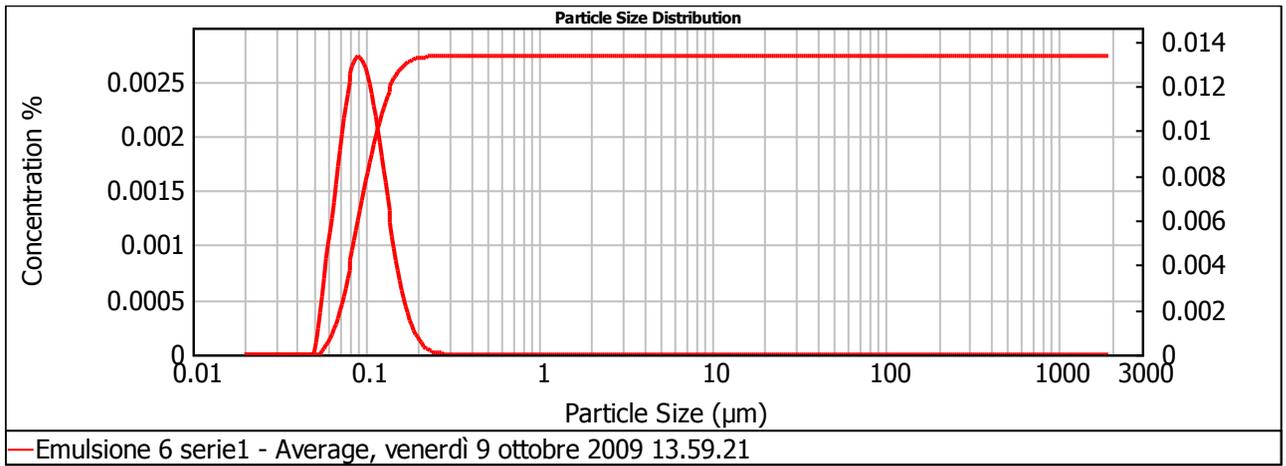
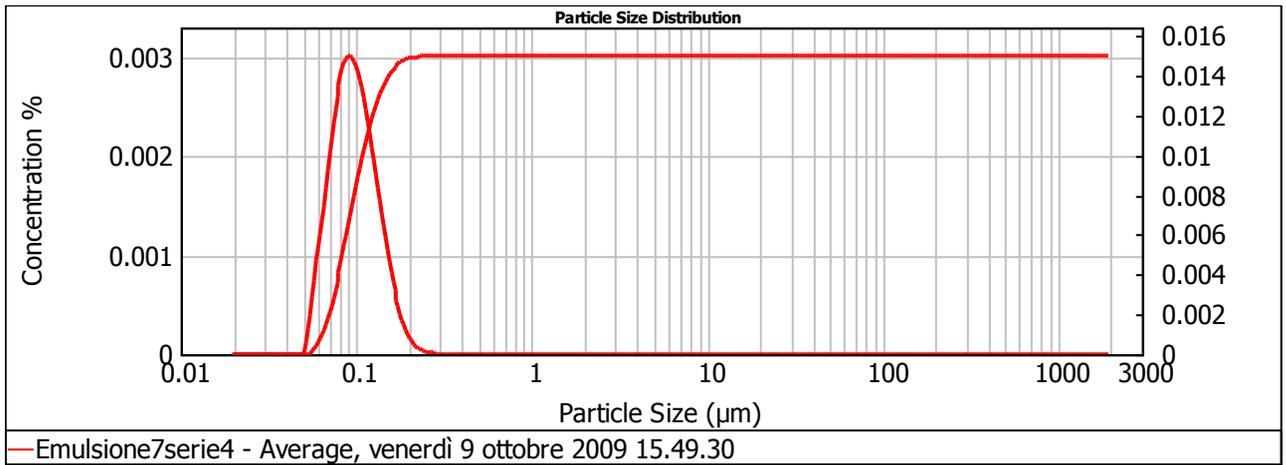


Figura 2 Ternario HLB 14, in rosso range $20 < \mu E > 200$; in arancio e verde polidispersione

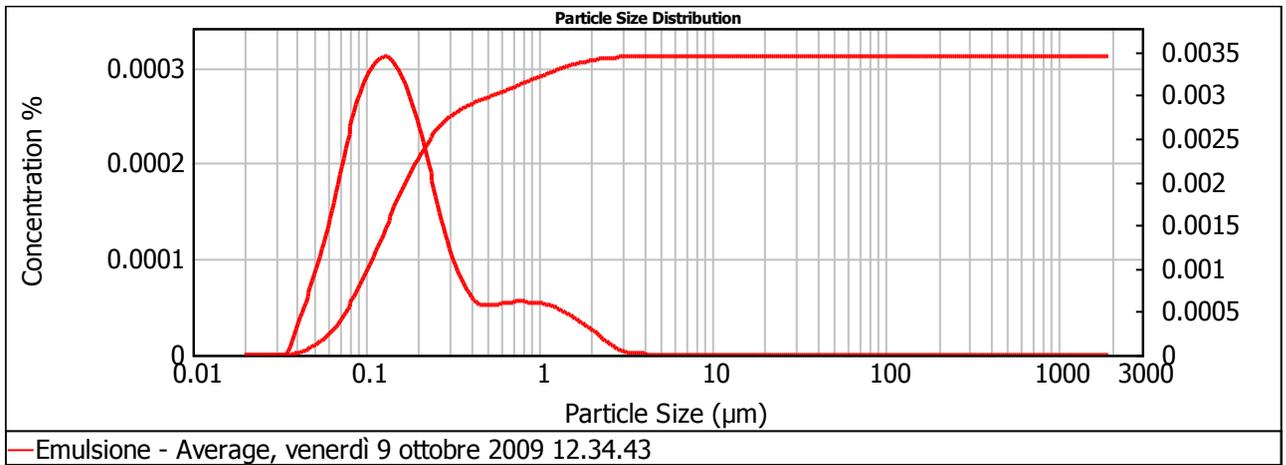
Serie di curve dimensionali ottenute nel sottodominio in rosso $20 < \mu E > 200$:

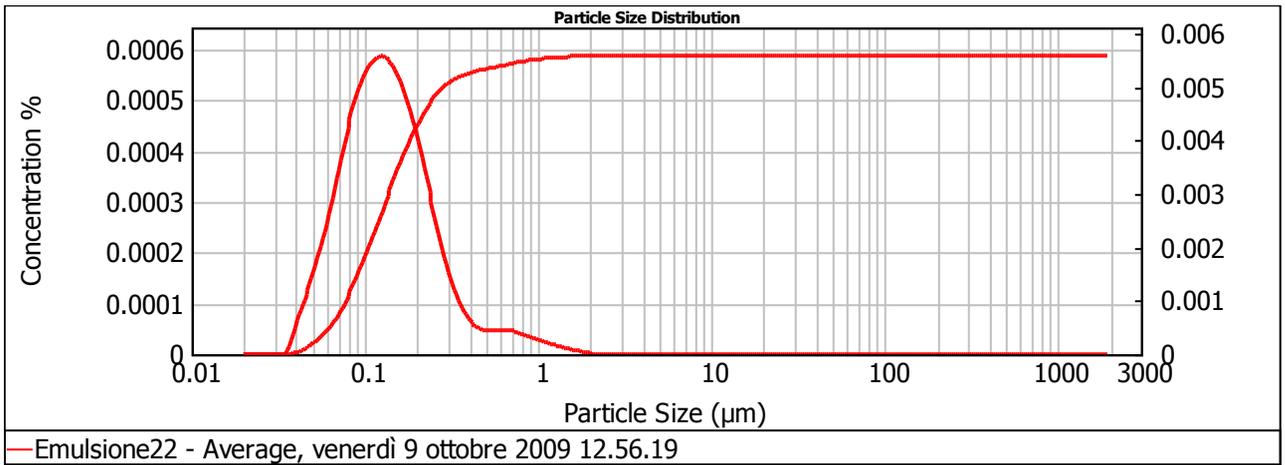




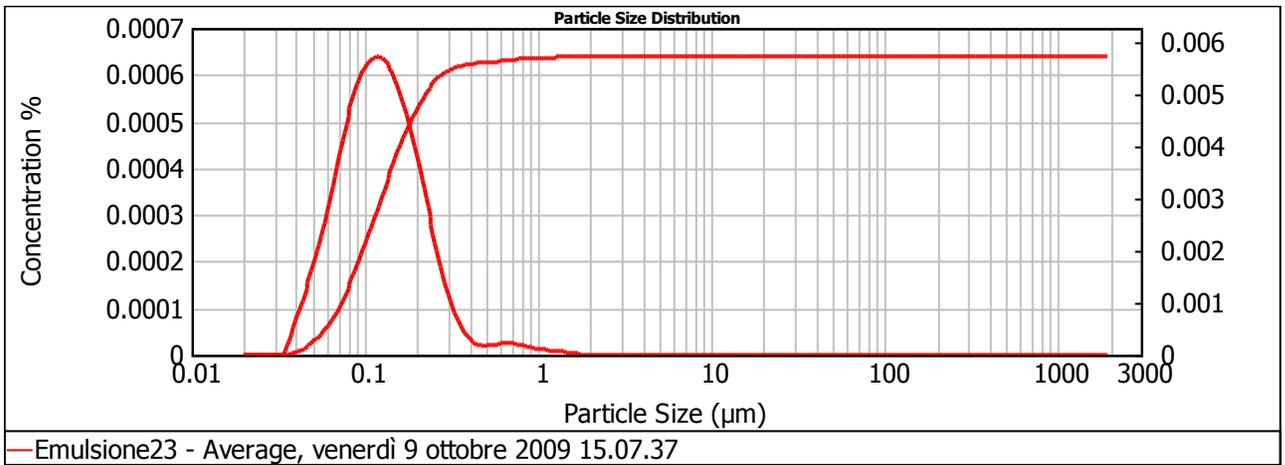
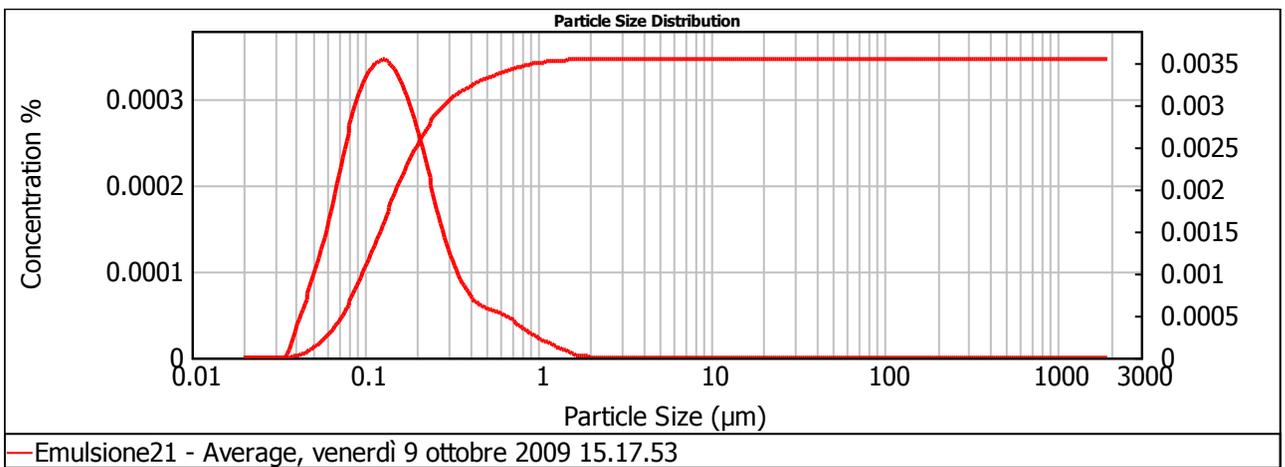


Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in arancio:





Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in verde:



Studio granulometrico HLB 12

E' possibile classificare le microemulsioni ad HLB 12 in diversi domini dimensionali, ciò è possibile utilizzando il sistema ternario IPM/Water+EtOH/Tween80/span80.

In particolare è possibile raggruppare l'intero dominio delle microemulsioni, che presentano stabilità ed isotropia, in tre diverse sottodomini, in cui la dimensione delle gocce risulta differente.

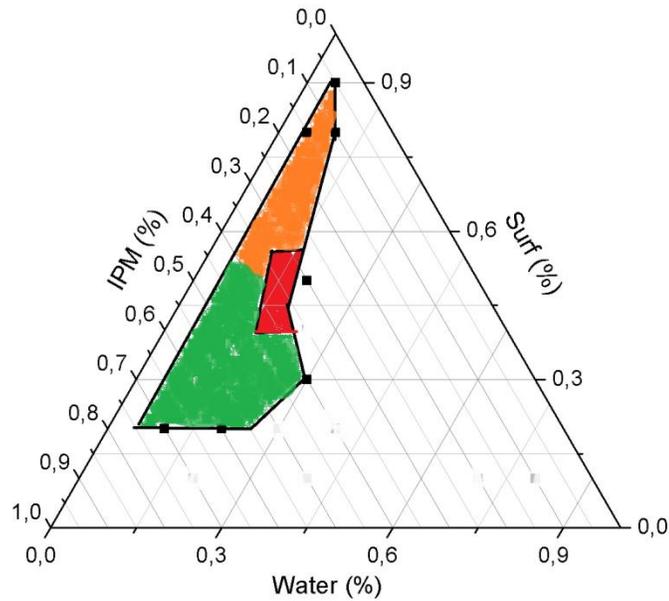
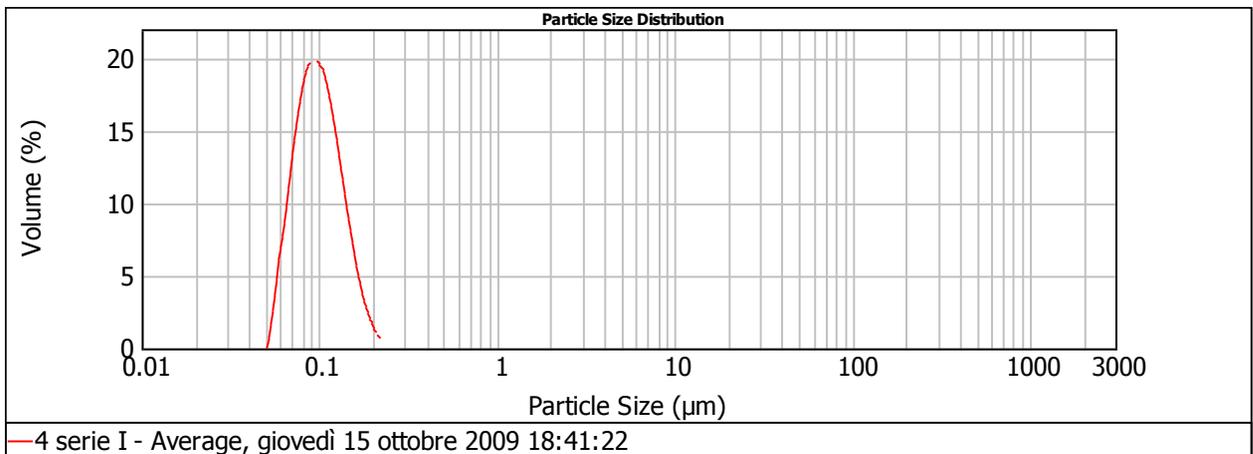
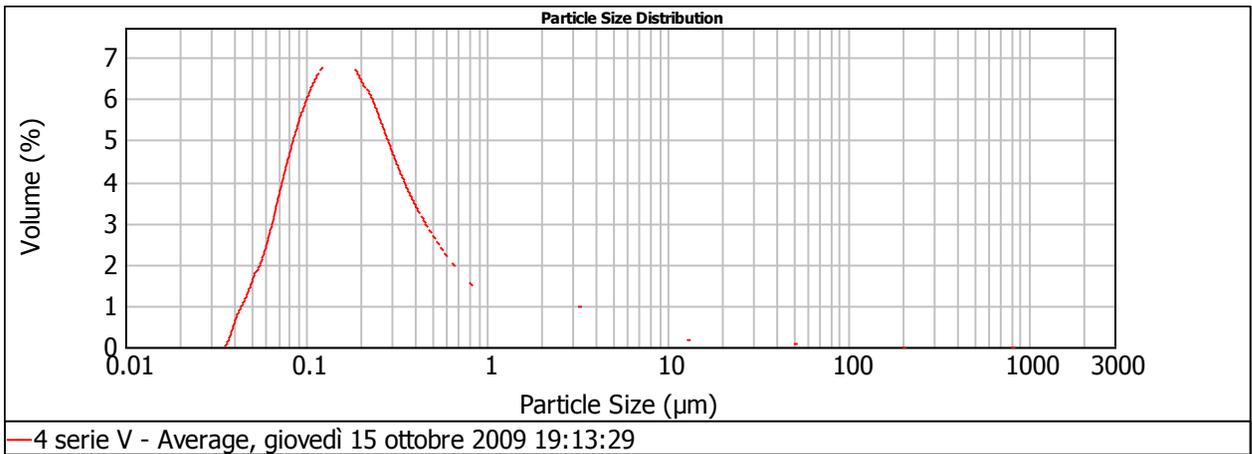
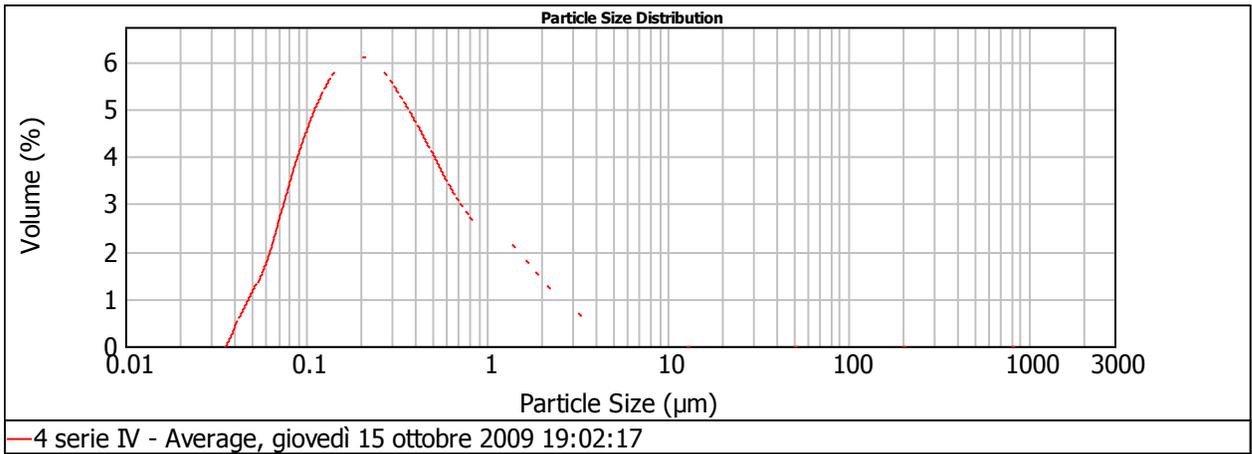
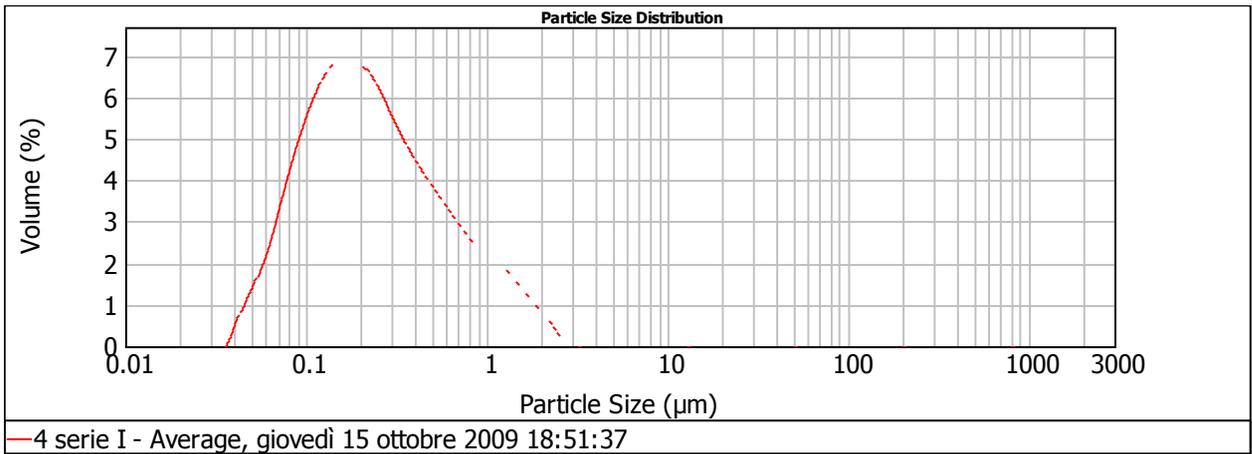


Figura 3 Ternario HLB 12, in rosso range $20 <uE> 200$; in arancio e verde polidispersione

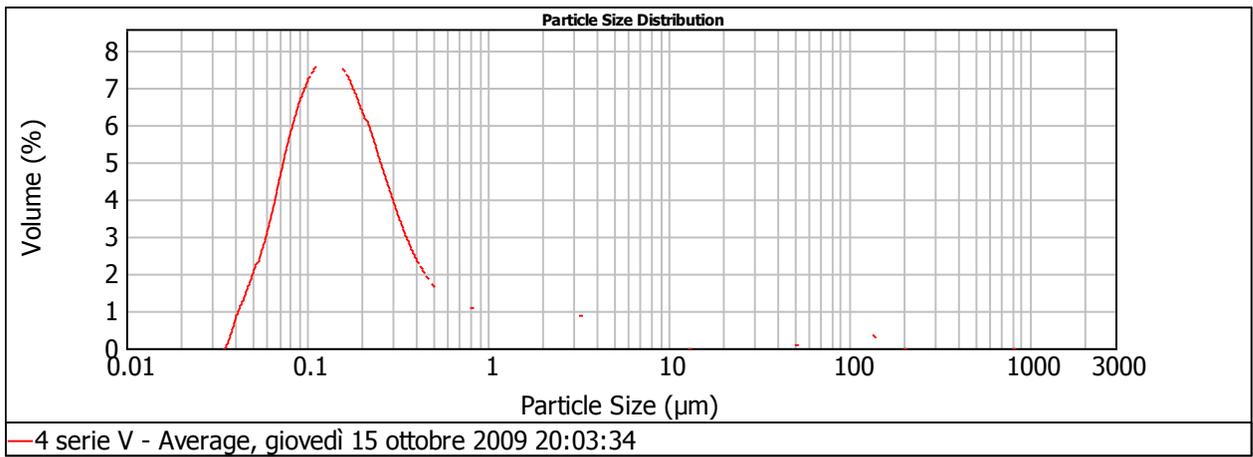
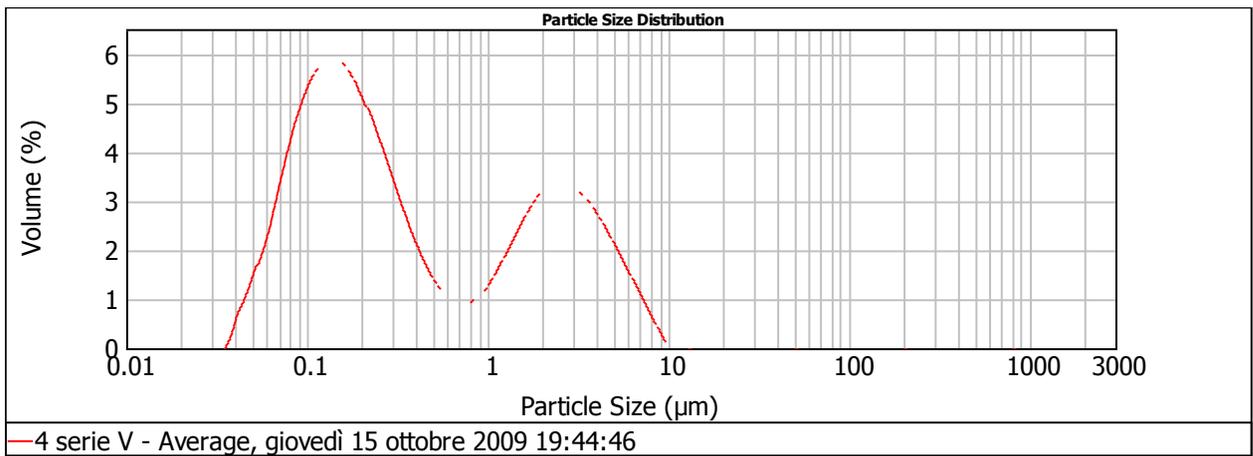
Curva caratteristica ottenute nel sottodominio in rosso $20 <uE> 200$:



Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in arancio:



Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in verde:



Studio granulometrico HLB 10

E' possibile classificare le microemulsioni ad HLB 10 in diversi domini dimensionali, ciò è possibile utilizzando il sistema ternario IPM/Water+EtOH/Tween80/span80.

In particolare è possibile raggruppare l'intero dominio delle microemulsioni, che presentano stabilità ed isotropia, in tre diverse sottodomini, in cui la dimensione delle gocce risulta differente.

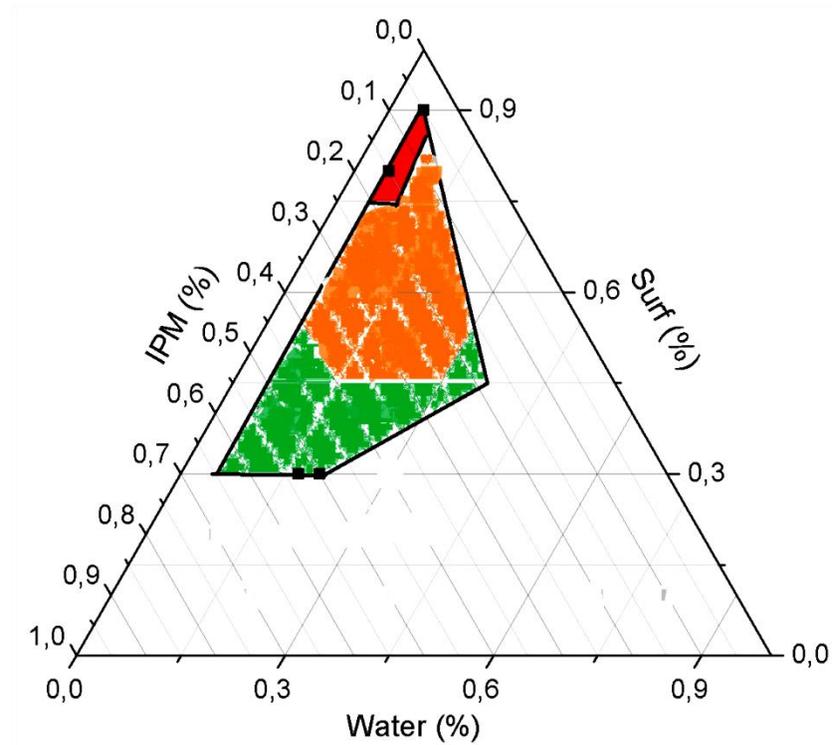
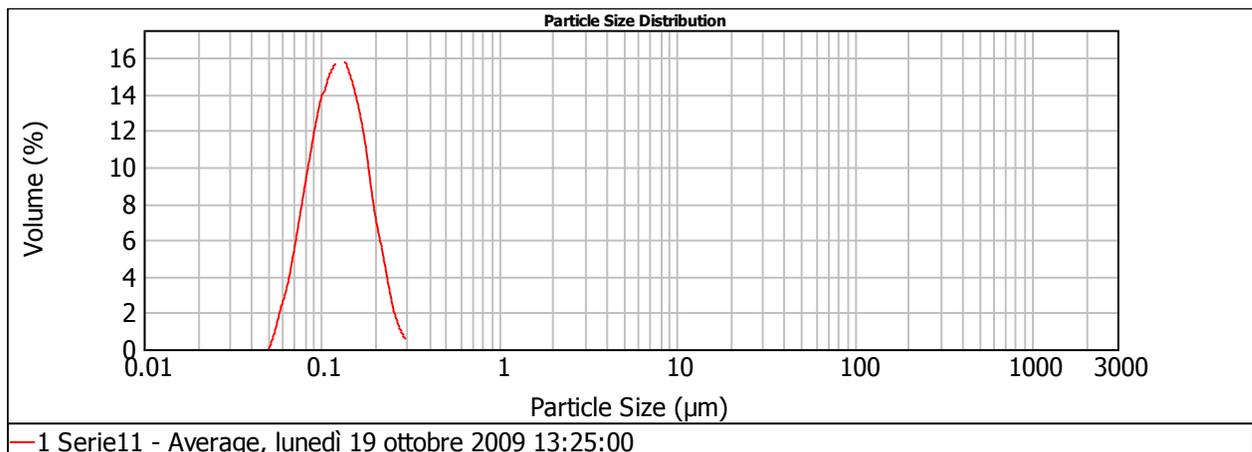
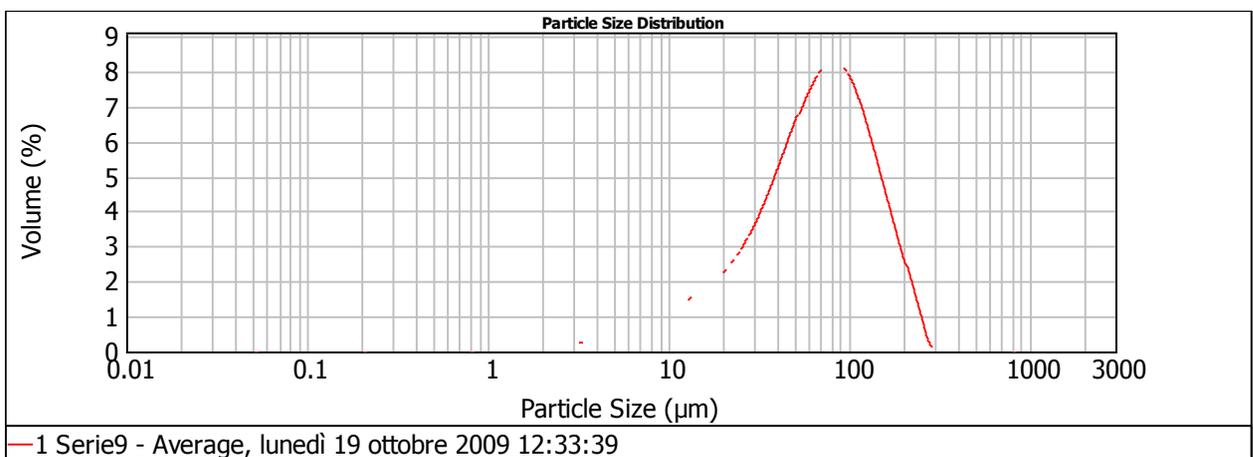
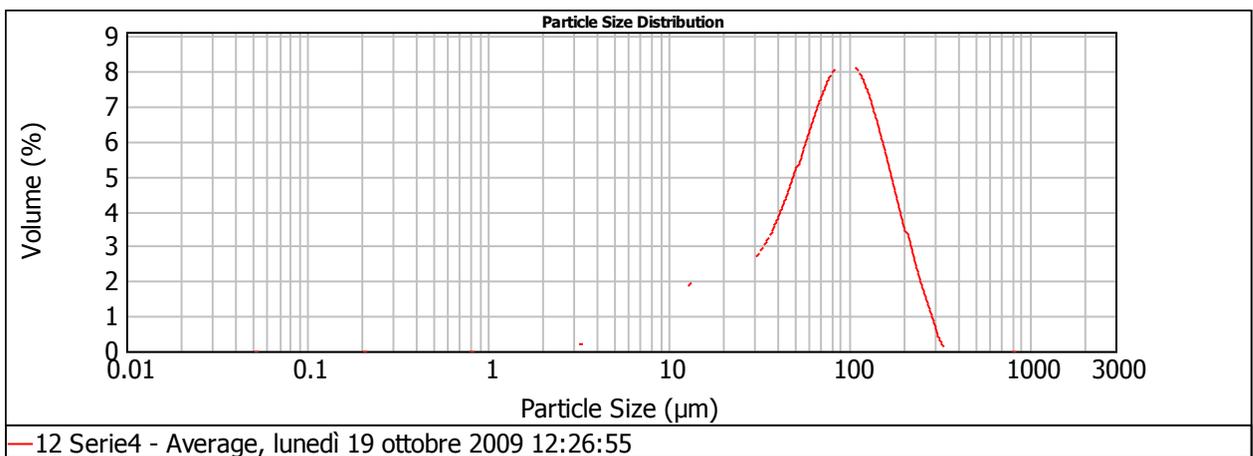
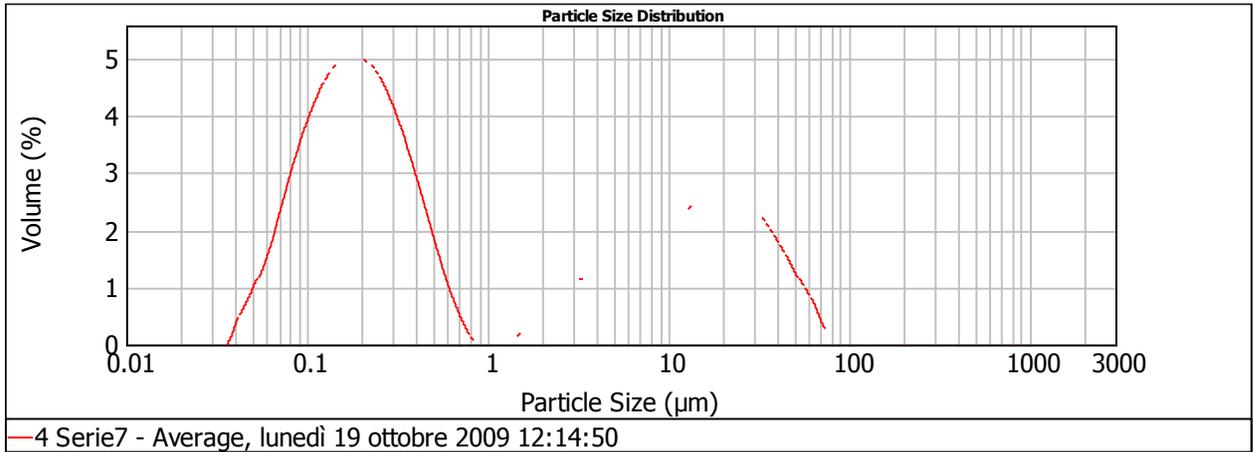


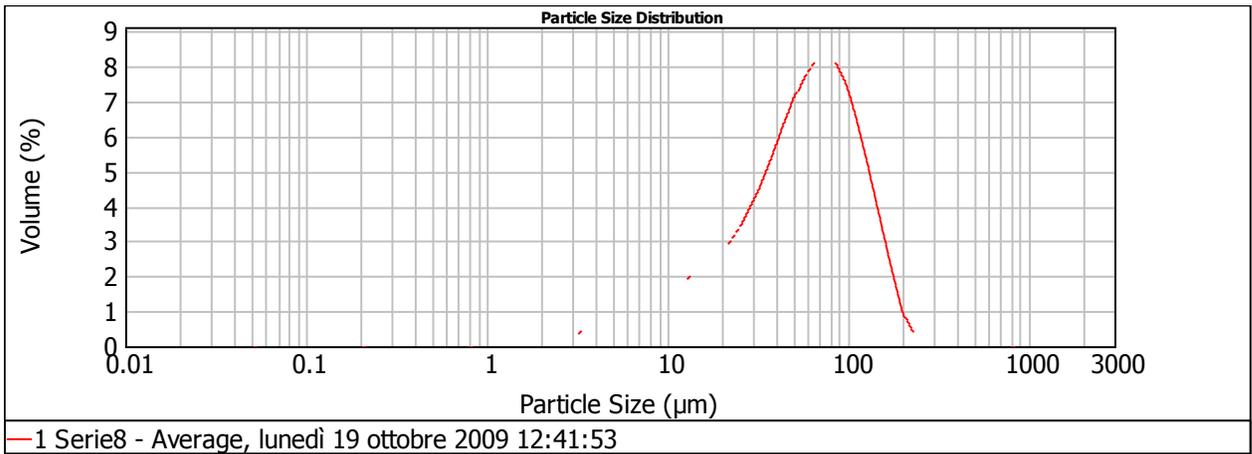
Figura 4 Ternario HLB 10, in rosso range $20 < \mu > 200$; in arancio e verde polidispersione

Curva caratteristica ottenuta nel sottodominio in rosso $20 < \mu > 200$:

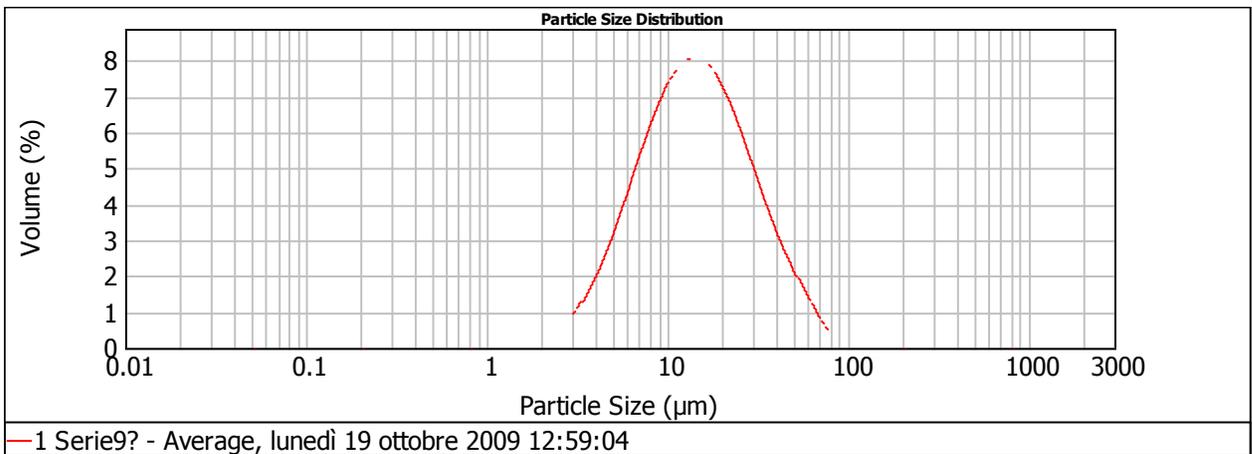
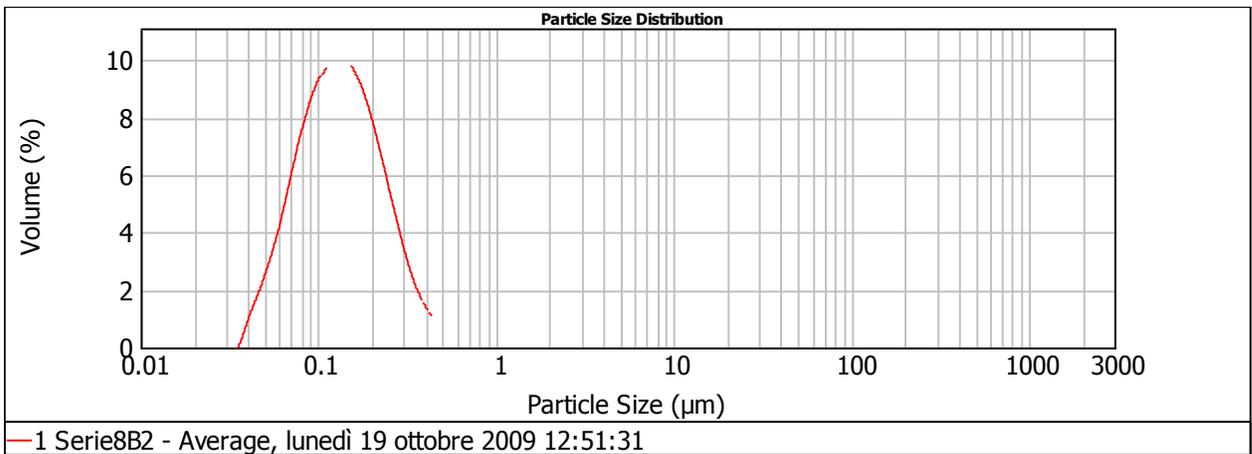


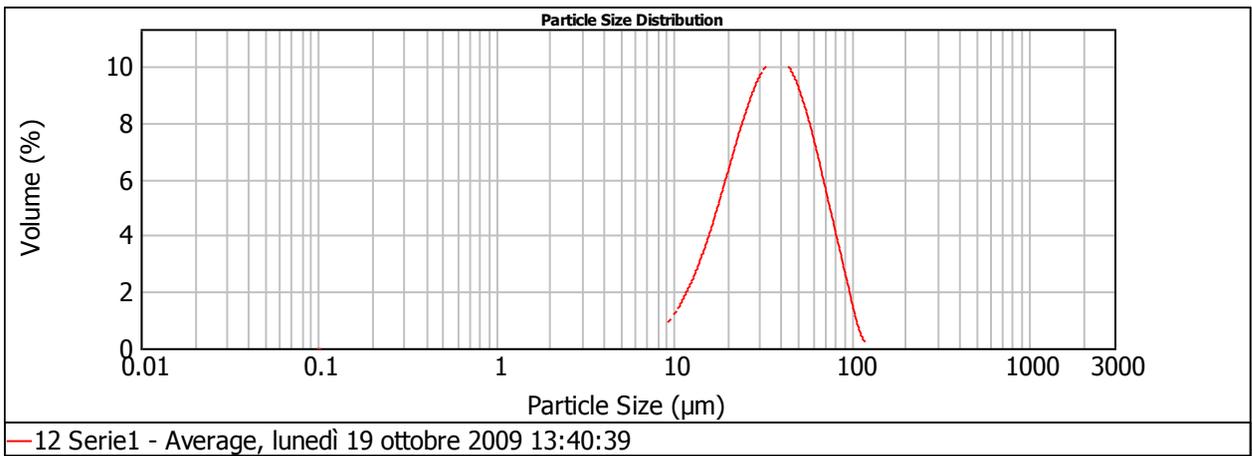
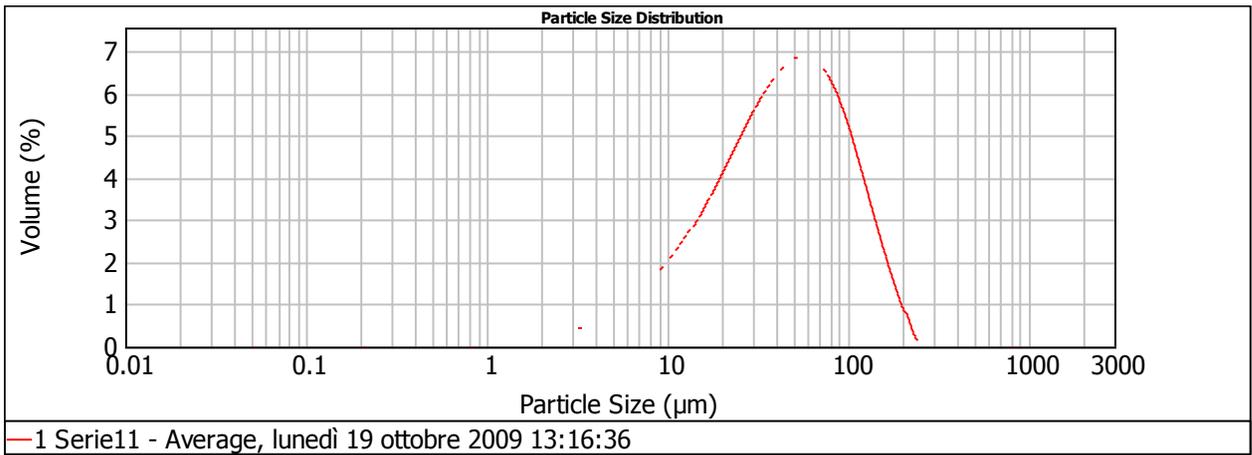
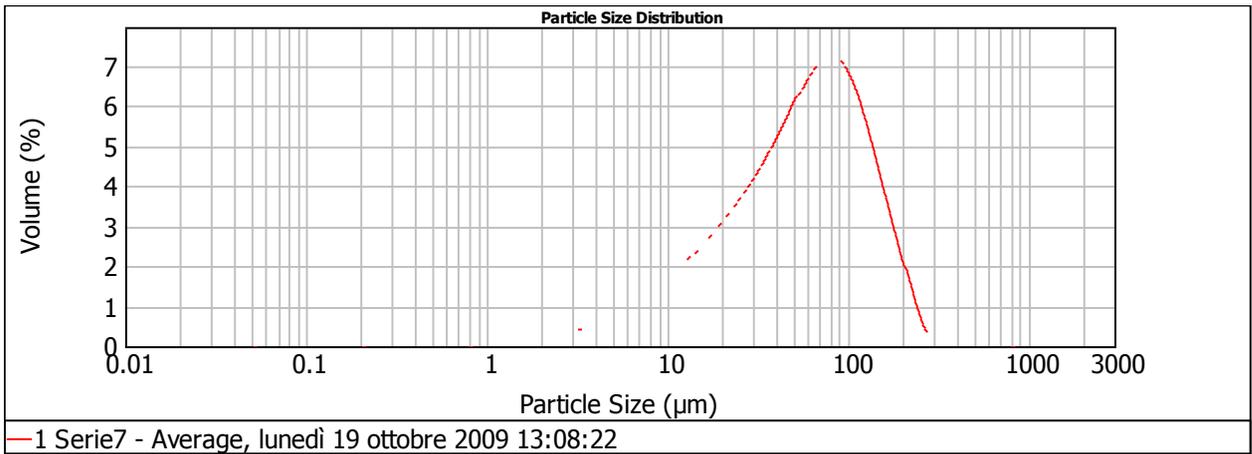
Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in arancio:





Curve dimensionali caratteristiche ottenute nel sottodominio in verde:





Studio granulometrico HLB 8

E' possibile classificare le microemulsioni ad HLB 8 in diversi domini dimensionali, ciò è possibile utilizzando il sistema ternario IPM/Water+EtOH/Tween80/span80.

Per questo HLB non si ha un range dimensionale idoneo a considerare tali sistemi di microemulsioni, in quanto la dispersione del sistema presenta dimensioni ben al di sopra dei 200nm, inoltre le formulazioni realizzate si presentano non del tutto isotropiche.

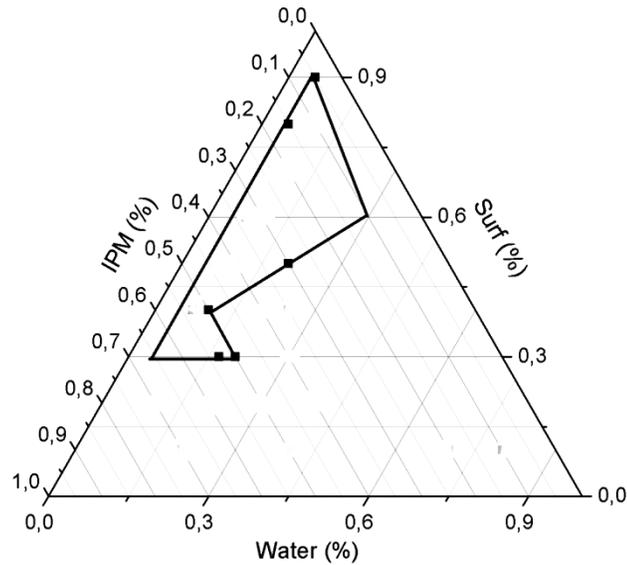
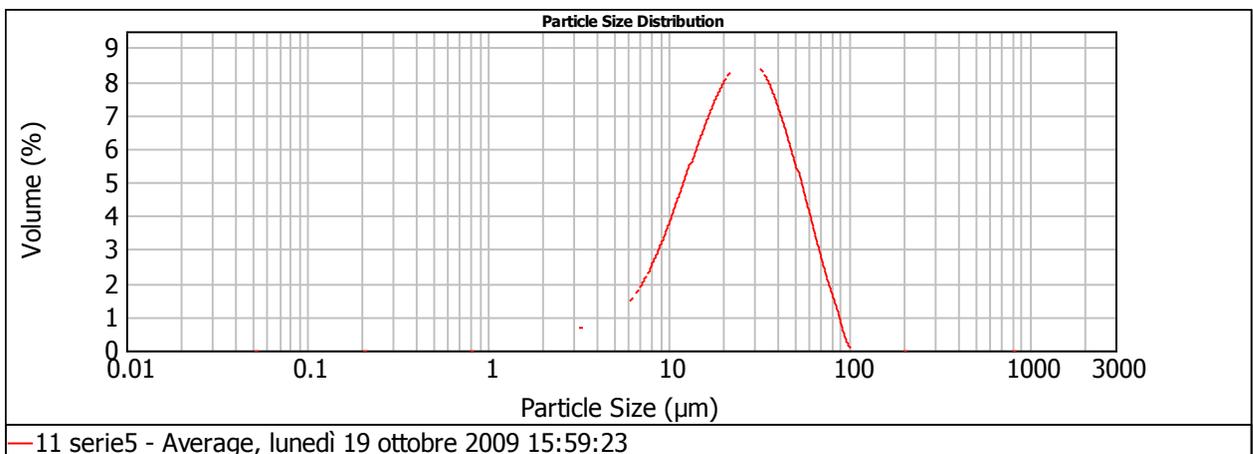
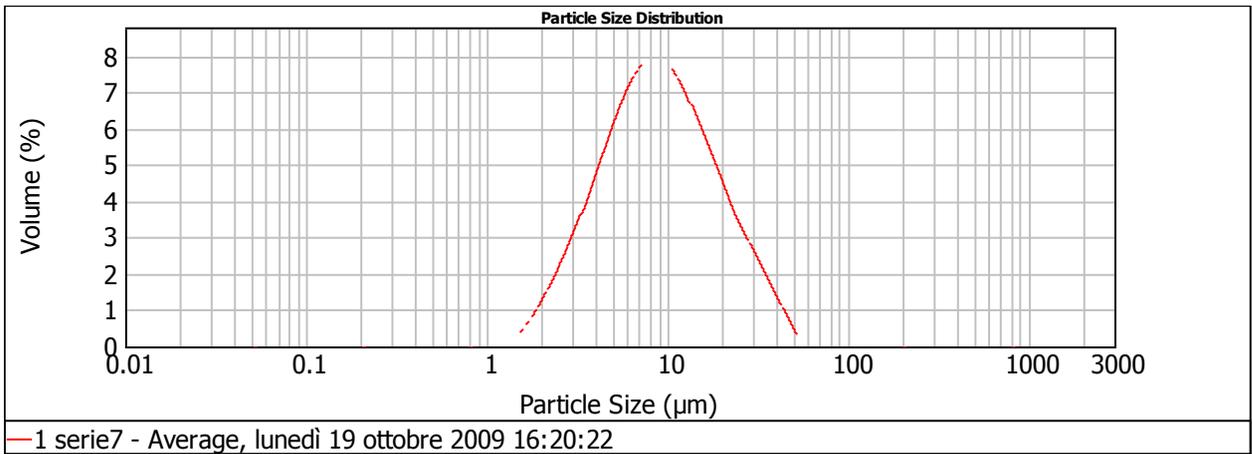
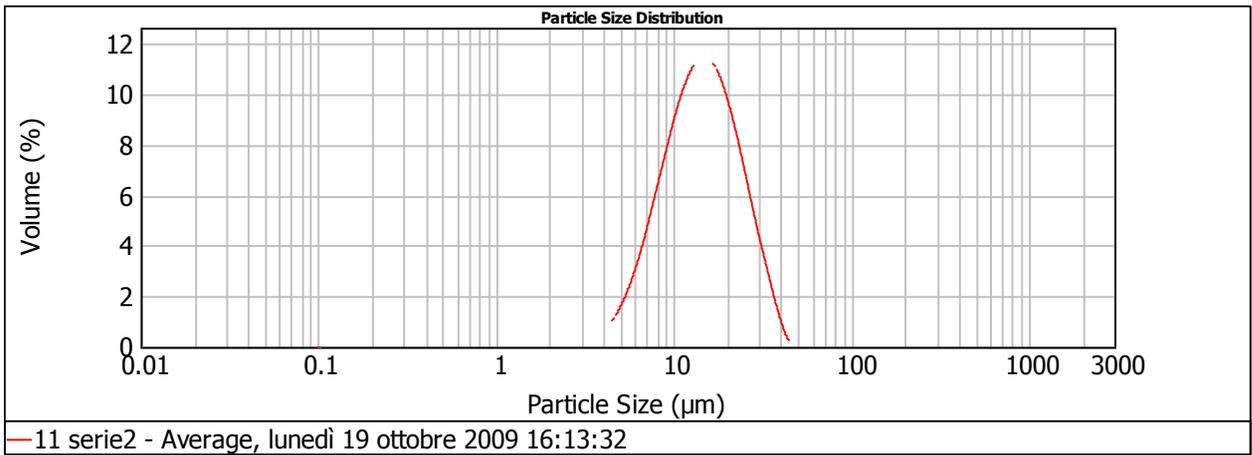
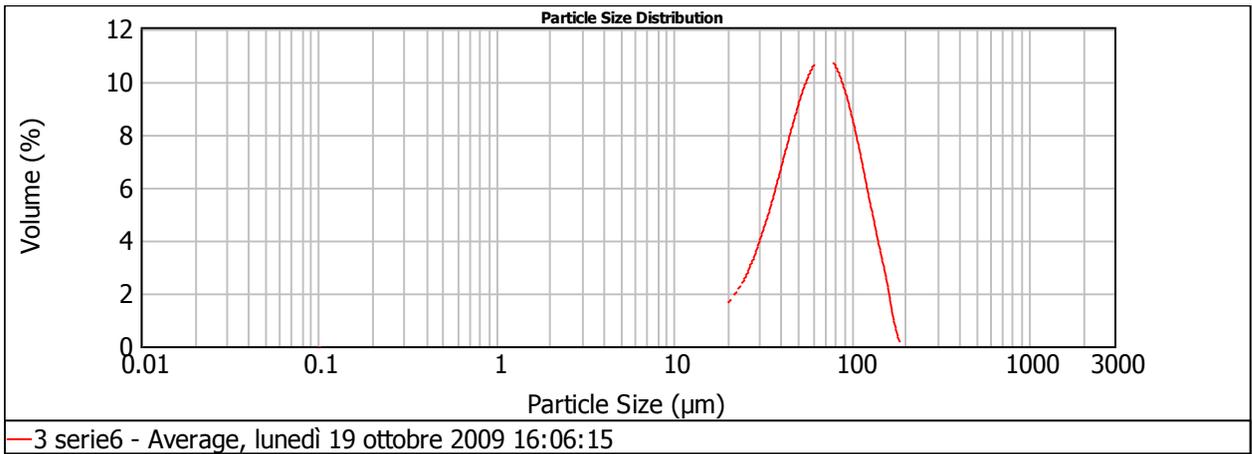
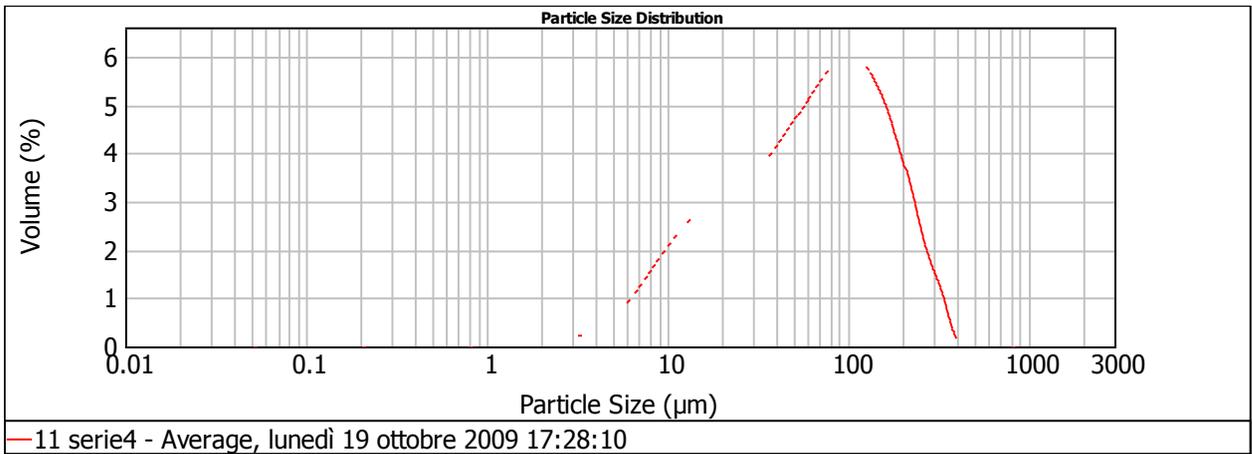
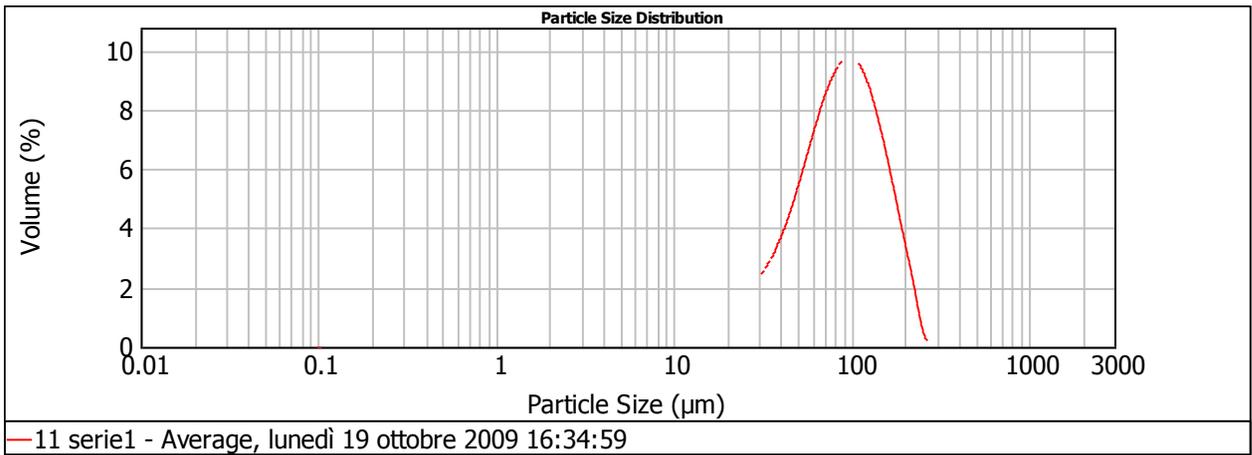
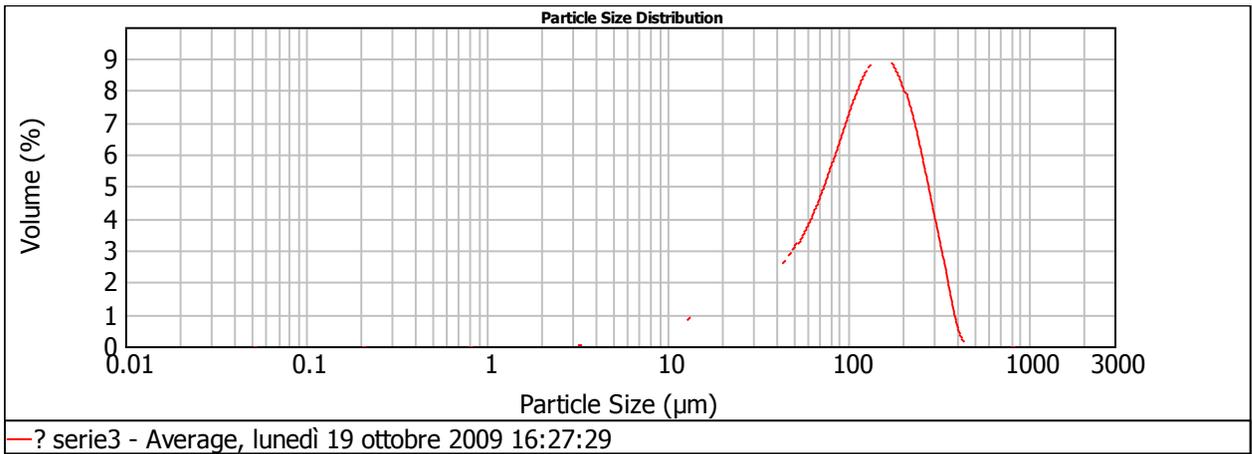


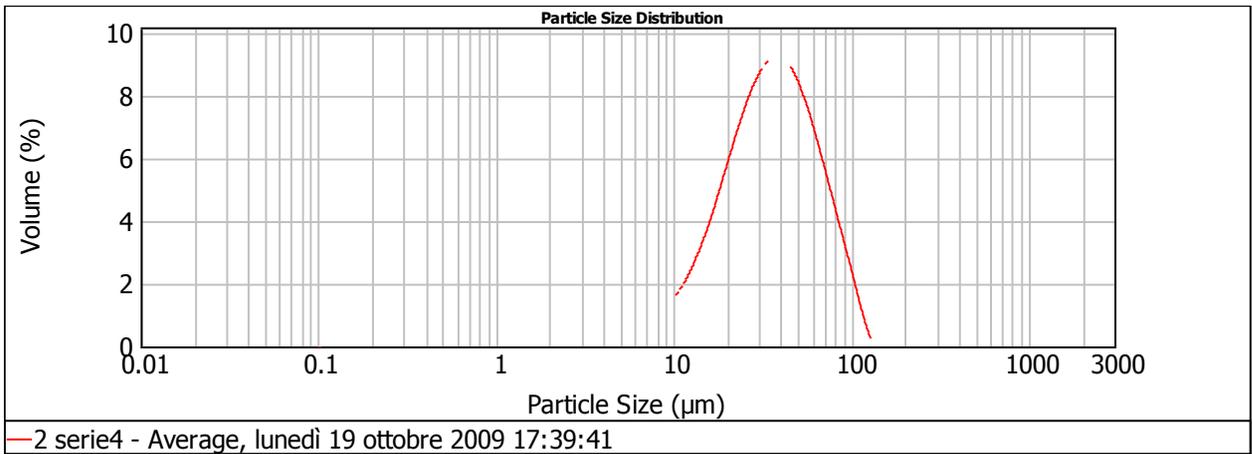
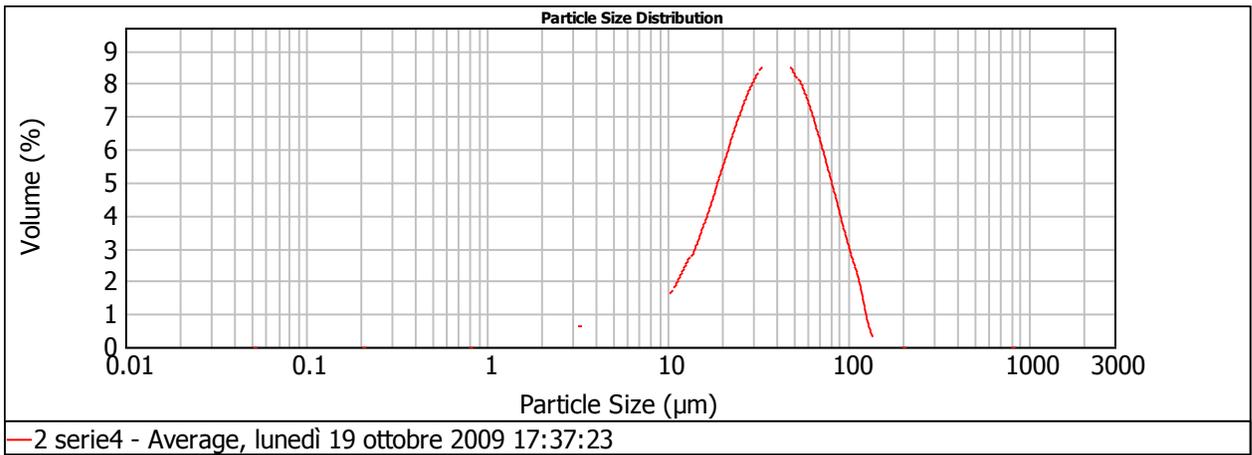
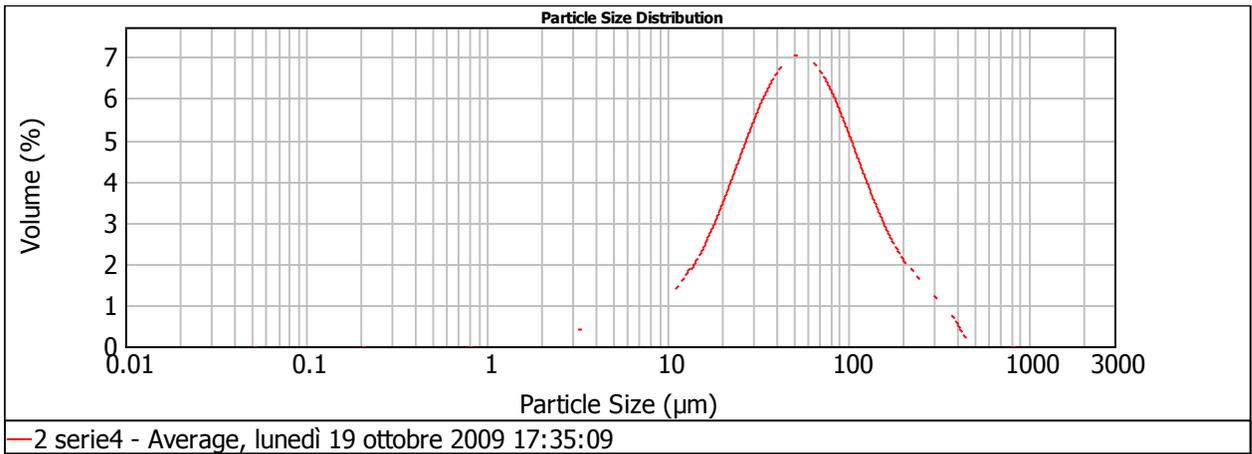
Figura 5 Ternario HLB 8, senza sottodominio delle microemulsioni

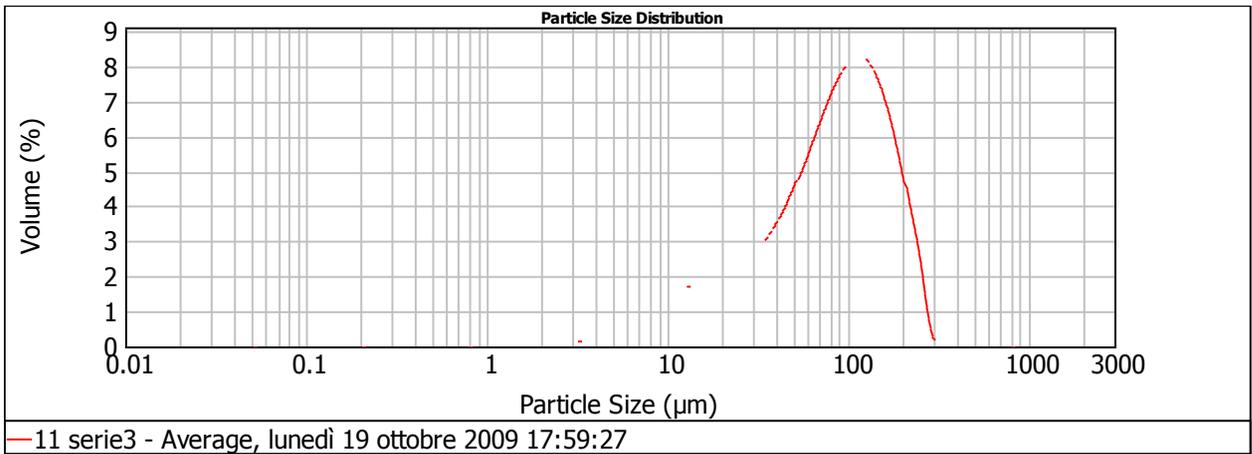
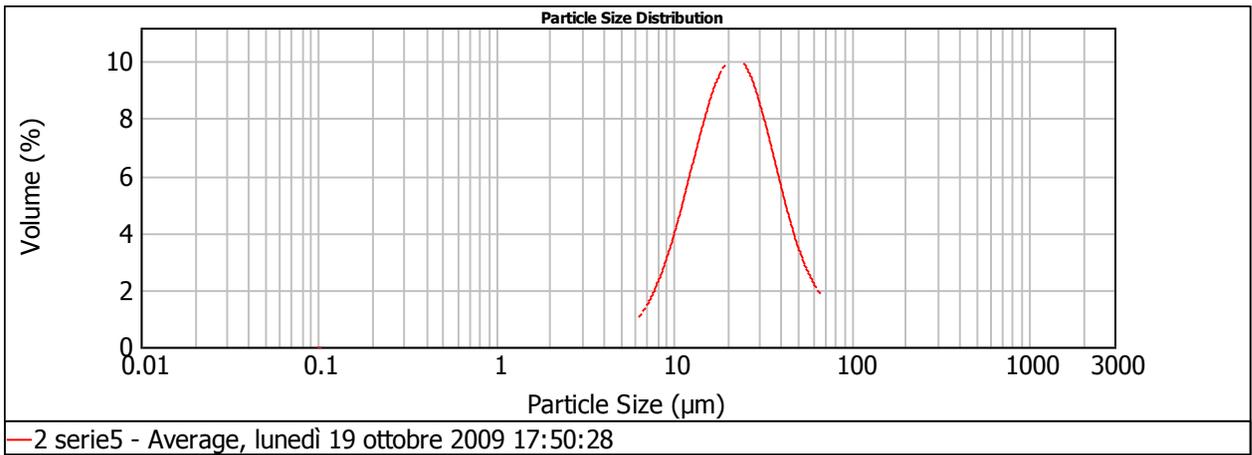
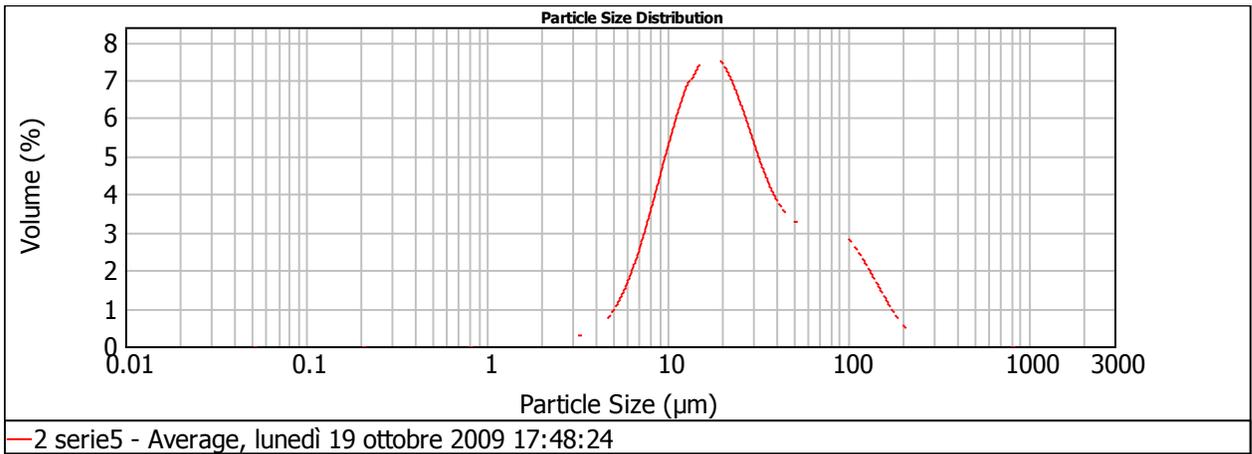
Curva caratteristiche ottenute:











Studio granulometrico HLB 6

E' possibile classificare le microemulsioni ad HLB 6 in diversi domini dimensionali, ciò è possibile utilizzando il sistema ternario IPM/Water+EtOH/Tween80/span80.

I sistemi formulati per questo HLB non sono presi in considerazione, poiché non presentano stabilità e non risultano isotropiche.

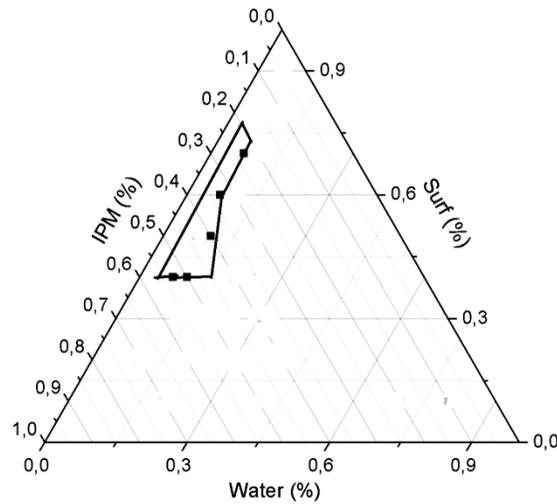


Figura 6 Ternario HLB 6, senza sottodominio delle microemulsioni

Viscosità dei sistemi

Lo studio delle viscosità alle 2 temperature si è reso necessario per verificare che i sistemi formulati avessero una bassa viscosità, in modo da poter essere dei sistemi in grado di ottimizzare la permeazione cutanea, verificata nel paragrafo successivo.

Lo studio è stato effettuato mediante la strumentazione descritta nel capitolo VI materiali e metodi, con shear rate $0,1 - 100 \text{ s}^{-1}$, i risultati sono di seguito riportati:

	$\eta \text{ [Pa} \cdot \text{s]}$	
	4° C	37° C
HLB 14	0,50	0,09
HLB 12	0,71	0,23
HLB 10	1,39	0,46

Figura 7 Viscosità Pa.s delle microemulsioni di base formulate

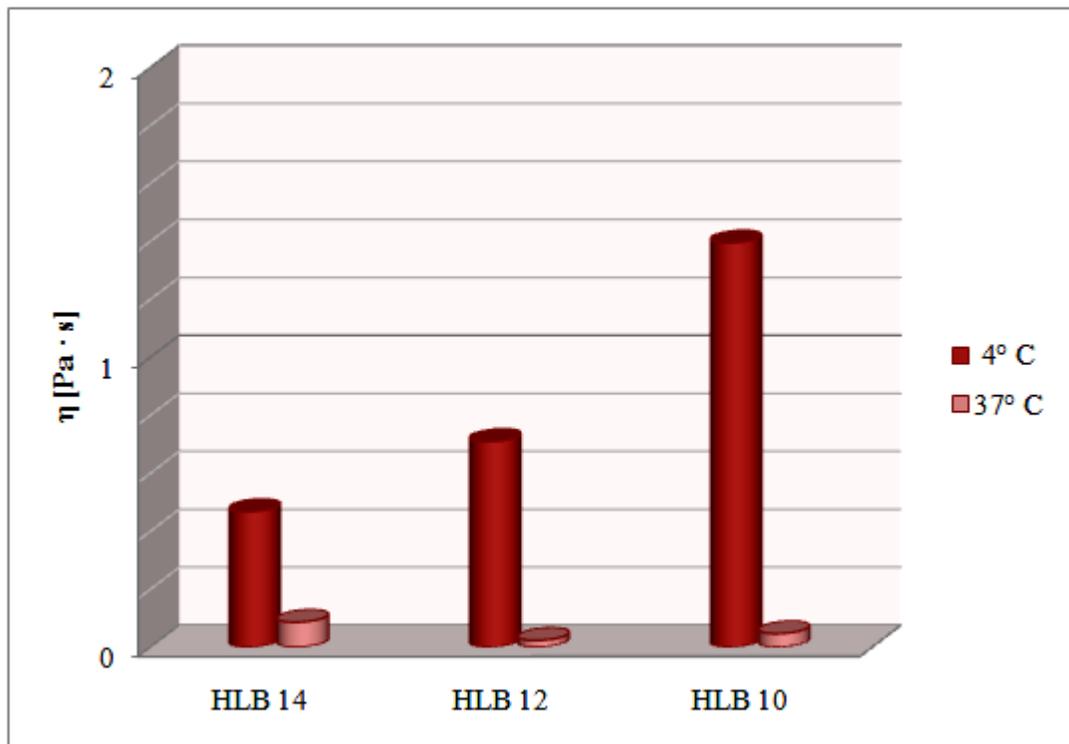


Figura 8 Viscosità Pa.s delle microemulsioni di base formulate

Le prove di viscosità sono state effettuate in triplo ed i tre sistemi studiati presentano un comportamento newtoniano.

Conducibilità elettrica dei sistemi

Lo studio delle conducibilità elettrica dei sistemi è un requisito importante, in quanto tale parametro ci dà l'indicazione sulla reale disposizione delle fasi all'interno dei nostri sistemi di microemulsioni, poiché l'olio, al contrario dell'acqua conduce la corrente elettrica in misura estremamente ridotta, è ovvio che solo le emulsioni di tipo O/W permetteranno il passaggio di corrente fra due elettrodi.

Dai dati ottenuti sui sistemi studiati si nota che tutte le emulsioni sono del tipo O/W ed anche includendo la Capsaicina nella fase oleosa, tale conducibilità non viene ridotta, per cui le microemulsioni presentano la stessa configurazione di fase anche dopo l'inclusione del principio attivo:

HLB	EI ($\mu\text{S/cm}$)	EI + Capsaicina ($\mu\text{S/cm}$)
14	0,8	1,1
12	1,6	1,7
10	3,1	3,5

Tabella 1 Conducibilità elettrica dei sistemi, con inclusione di Capsaicina allo 0,075%

Introduzione allo studio di permeazione in vitro

I sistemi formulati, selezionati secondo le caratteristiche descritte in precedenza hanno la seguente formulazione:

HLB	IPM	Water	Tween80/span80
14	53	7	40
12	40	20	40
10	10	20	70

Tabella 2 Formulazione dei sistemi studiati

La valutazione della permeazione cutanea in vitro, secondo il metodo descritto nel capitolo VI, sono stati paragonati ad un sistema idroalcolico al 40% di etanolo, così come la fase acquosa delle microemulsioni, con le stesse percentuali di capsaicina. Ciò a permesso di valutare se tali sistemi sono in grado di ritardare l'assorbimento della capsaicina per preparazioni topiche.

Il sistema idroalcolico presenta le seguenti percentuali di rilascio della capsaicina, agli stessi tempi di prelievo delle microemulsioni studiate:

t(h)	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
%	23	25	32	34	37	40	41	43	45	46	48	51

Studio di permeazione in vitro

La valutazione della permeazione cutanea in vitro permette di verificare se i sistemi di microemulsioni così formulati, sono in grado di ritardare l'assorbimento del principio attivo utilizzato nelle presente ricerca.

Dallo studio della permeazione in vitro si sono ricavati i seguenti risultati sperimentali:

Microemulsioni allo 0,075% di Capsaicina:

HLB 10 - 0,075% Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,095	0,037	0,0375	9,84E-05	5,41E-07	0,031843	3,75
0,11	0,083	0,0645	0,000169	9,31E-07	0,054771	6,45
0,127	0,102	0,1145	0,000301	1,65E-06	0,097229	11,45
0,135	0,122	0,1285	0,000337	1,85E-06	0,109117	12,85
0,145	0,135	0,14	0,000367	2,02E-06	0,118882	14
0,165	0,155	0,16	0,00042	2,31E-06	0,135865	16
0,179	0,181	0,18	0,000472	2,6E-06	0,152849	18
0,2	0,199	0,1995	0,000524	2,88E-06	0,169407	19,95
0,207	0,214	0,2105	0,000552	3,04E-06	0,178748	21,05
0,248	0,229	0,2385	0,000626	3,44E-06	0,202524	23,85
0,253	0,242	0,2475	0,00065	3,57E-06	0,210167	24,75
0,259	0,247	0,253	0,000664	3,65E-06	0,214837	25,3

HLB 12 0,075% Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,064	0,042	0,0245	6,43E-05	3,54E-07	0,020804	2,45
0,104	0,078	0,059	0,000155	8,52E-07	0,0501	5,9
0,148	0,118	0,133	0,000349	1,92E-06	0,112938	13,3
0,172	0,139	0,1555	0,000408	2,24E-06	0,132044	15,55
0,181	0,15	0,1655	0,000434	2,39E-06	0,140536	16,55
0,19	0,161	0,1755	0,000461	2,53E-06	0,149027	17,55
0,2	0,169	0,1845	0,000484	2,66E-06	0,15667	18,45
0,215	0,181	0,198	0,00052	2,86E-06	0,168133	19,8
0,23	0,19	0,21	0,000551	3,03E-06	0,178323	21
0,245	0,205	0,225	0,000591	3,25E-06	0,191061	22,5
0,255	0,218	0,2365	0,000621	3,41E-06	0,200826	23,65
0,272	0,23	0,251	0,000659	3,62E-06	0,213139	25,1

HLB 14 0,075% Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0031	0,0039	0,0035	9,19E-06	5,05E-08	0,002972	0,35
0,004	0,006	0,005	1,31E-05	7,22E-08	0,004246	0,5

0,099	0,097	0,098	0,000257	1,41E-06	0,083218	9,8
0,114	0,114	0,114	0,000299	1,65E-06	0,096804	11,4
0,114	0,12	0,117	0,000307	1,69E-06	0,099352	11,7
0,12	0,13	0,125	0,000328	1,8E-06	0,106145	12,5
0,132	0,14	0,136	0,000357	1,96E-06	0,115486	13,6
0,151	0,155	0,153	0,000402	2,21E-06	0,129921	15,3
0,17	0,172	0,171	0,000449	2,47E-06	0,145206	17,1
0,188	0,2	0,194	0,000509	2,8E-06	0,164737	19,4
0,21	0,226	0,218	0,000572	3,15E-06	0,185117	21,8
0,228	0,24	0,234	0,000614	3,38E-06	0,198703	23,4

Tabella 3 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,075% di Capsaicina

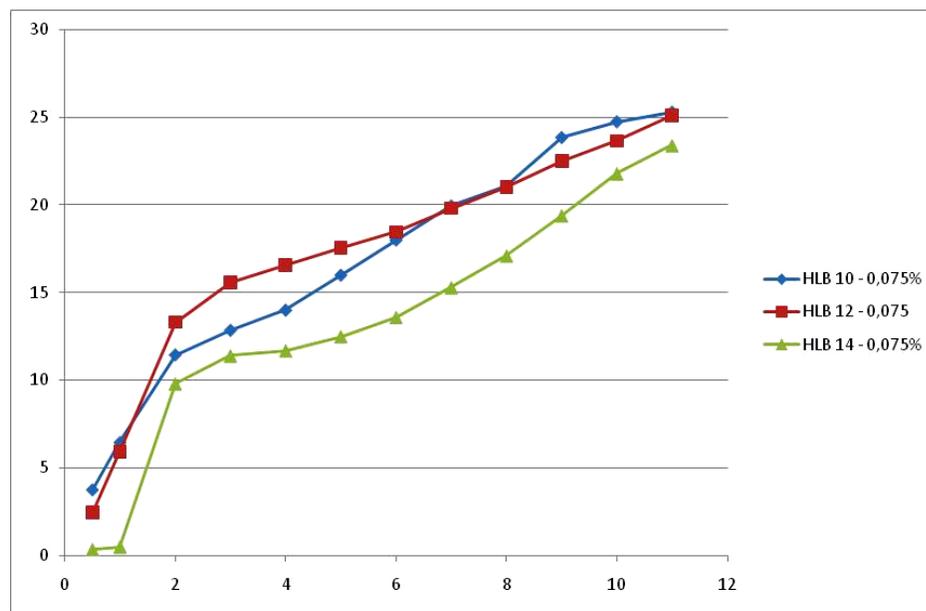


Figura 9 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,075% di Capsaicina

Microemulsioni allo 0,050% di Capsaicina:

HLB 10 0,05 Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0292	0,0256	0,0274	7,1916E-05	3,95538E-07	0,023266945	2,74
0,0441	0,0467	0,0454	0,00011916	6,55381E-07	0,038551799	4,54
0,0876	0,0912	0,0894	0,000234646	1,29055E-06	0,075914775	8,94
0,1042	0,1022	0,1032	0,000270866	1,48976E-06	0,087633164	10,32
0,1120	0,1280	0,1200	0,000314961	1,73228E-06	0,101899027	12
0,1240	0,1560	0,1400	0,000367454	2,021E-06	0,118882199	14
0,1500	0,1478	0,1489	0,000390814	2,14948E-06	0,12643971	14,89
0,1256	0,1734	0,1745	0,000458005	2,51903E-06	0,148178169	17,45
0,1902	0,1988	0,1945	0,000510499	2,80774E-06	0,16516134	19,45
0,2053	0,2011	0,2032	0,000533333	2,93333E-06	0,17254902	20,32

0,2080	0,2340	0,221	0,000580052	3,19029E-06	0,187664042	22,1
0,2190	0,2440	0,2300	0,000603675	3,32021E-06	0,195306469	23

HLB 12 0,05 Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0220	0,0180	0,0200	5,24934E-05	2,88714E-07	0,016983171	2
0,0314	0,0334	0,0324	8,50394E-05	4,67717E-07	0,027512737	3,24
0,0822	0,0802	0,0812	0,000213123	1,17218E-06	0,068951675	8,12
0,1101	0,1155	0,1123	0,000294751	1,62113E-06	0,095360506	11,23
0,1300	0,1500	0,1400	0,000367454	2,021E-06	0,118882199	14
0,1460	0,1540	0,1500	0,000393701	2,16535E-06	0,127373784	15
0,1600	0,1596	0,1598	0,000419423	2,30682E-06	0,135695538	15,98
0,1717	0,1755	0,1736	0,000455643	2,50604E-06	0,147413926	17,36
0,1700	0,2100	0,1900	0,000498688	2,74278E-06	0,161340127	19
0,2009	0,2055	0,2032	0,000533333	2,93333E-06	0,17254902	20,32
0,2110	0,2108	0,2109	0,000553543	3,04449E-06	0,179087541	21,09
0,2170	0,2230	0,2200	0,000577428	3,17585E-06	0,186814883	22

HLB 14 0,05 Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0018	0,0012	0,0015	3,93701E-06	2,16535E-08	0,001273738	0,15
0,0010	0,0050	0,0030	7,87402E-06	4,33071E-08	0,002547476	0,3
0,0445	0,0425	0,0435	0,000114173	6,27953E-07	0,036938397	4,35
0,0923	0,0901	0,0912	0,00023937	1,31654E-06	0,077443261	9,12
0,0700	0,1300	0,1000	0,000262467	1,44357E-06	0,084915856	10
0,1000	0,1200	0,1100	0,000288714	1,58793E-06	0,093407442	11
0,1152	0,1112	0,1132	0,000297113	1,63412E-06	0,096124749	11,32
0,1331	0,1379	0,1355	0,000355643	1,95604E-06	0,115060985	13,55
0,1542	0,1550	0,1546	0,000405774	2,23176E-06	0,131279914	15,46
0,1693	0,1698	0,1695	0,000444882	2,44685E-06	0,143932376	16,95
0,1865	0,1825	0,1845	0,000484252	2,66339E-06	0,156669755	18,45
0,1500	0,2500	0,2000	0,000524934	2,88714E-06	0,169831712	20

Tabella 4 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,050% di Capsaicina

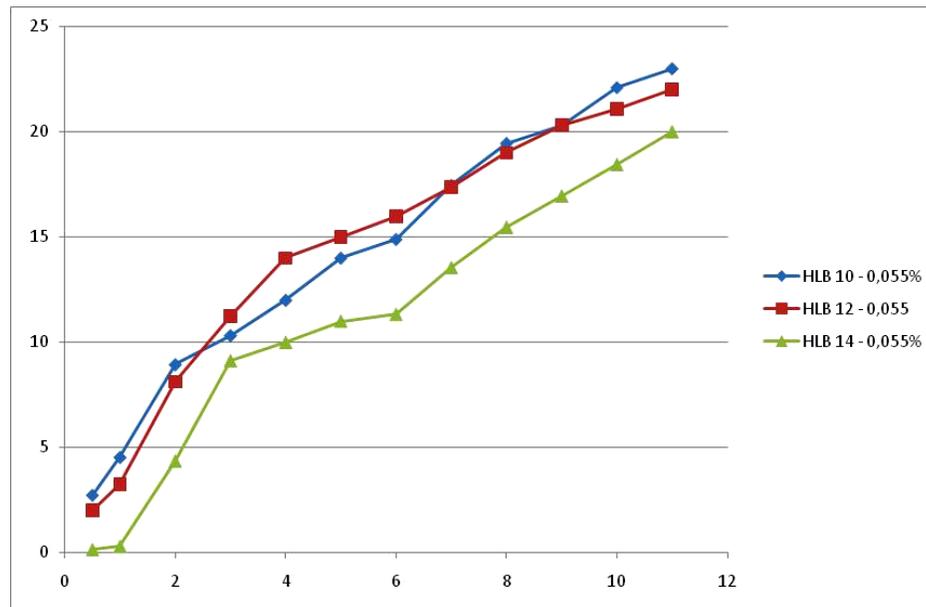


Figura 10 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,050% di Capsaicina

Microemulsioni allo 0,10% di Capsaicina:

HLB 10 0,10 Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0540	0,0340	0,0440	0,000115486	6,35171E-07	0,037363	4,4
0,0600	0,0688	0,0644	0,000169029	9,29659E-07	0,054686	6,44
0,1237	0,1250	0,1243	0,000326247	1,79436E-06	0,10555	12,43
0,1440	0,1428	0,1434	0,000376378	2,07008E-06	0,121769	14,34
0,1546	0,1540	0,1543	0,000404987	2,22743E-06	0,131025	15,43
0,1740	0,154 0	0,1640	0,000430446	2,36745E-06	0,139262	16,4
0,1790	0,1810	0,1800	0,000472441	2,59843E-06	0,152849	18
0,2050	0,2018	0,2034	0,000533858	2,93622E-06	0,172719	20,34
0,2150	0,2250	0,2200	0,000577428	3,17585E-06	0,186815	22
0,2420	0,2444	0,2432	0,00063832	3,51076E-06	0,206515	24,32
0,2564	0,2570	0,2567	0,000673753	3,70564E-06	0,217979	25,67
0,2565	0,2625	0,2595	0,000681102	3,74606E-06	0,220357	25,95

HLB 14 0,10 Capsaicina

a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0300	0,0380	0,0340	8,92388E-05	4,90814E-07	0,028871	3,4
0,0700	0,0500	0,0600	0,00015748	8,66142E-07	0,05095	6
0,1333	0,1353	0,1343	0,000352493	1,93871E-06	0,114042	13,43
0,1618	0,1650	0,1634	0,000428871	2,35879E-06	0,138753	16,34
0,1730	0,1756	0,1743	0,00045748	2,51614E-06	0,148008	17,43
0,1780	0,1900	0,1840	0,00048294	2,65617E-06	0,156245	18,4
0,1700	0,2100	0,1900	0,000498688	2,74278E-06	0,16134	19
0,2014	0,2054	0,2034	0,000533858	2,93622E-06	0,172719	20,34

0,1800	0,2600	0,2200	0,000577428	3,17585E-06	0,186815	22
0,2314	0,2350	0,2332	0,000612073	3,3664E-06	0,198024	23,32
0,2500	0,2434	0,2467	0,000647507	3,56129E-06	0,209487	24,67
0,2500	0,2490	0,2495	0,000654856	3,60171E-06	0,211865	24,95

HLB 14 0,10 Capsaicina						
a	b	media	C A/e	moli out	moli in	%
0,0140	0,0100	0,0120	3,14961E-05	1,73228E-07	0,01019	1,2
0,0210	0,0170	0,0190	4,98688E-05	2,74278E-07	0,016134	1,9
0,1263	0,1223	0,1243	0,000326247	1,79436E-06	0,10555	12,43
0,1350	0,1318	0,1334	0,000350131	1,92572E-06	0,113278	13,34
0,1413	0,1473	0,1443	0,00037874	2,08307E-06	0,122534	14,43
0,1645	0,1635	0,1640	0,000430446	2,36745E-06	0,139262	16,4
0,1700	0,1900	0,1800	0,000472441	2,59843E-06	0,152849	18
0,2011	0,2057	0,2034	0,000533858	2,93622E-06	0,172719	20,34
0,1900	0,2300	0,2100	0,000551181	3,0315E-06	0,178323	21
0,2142	0,2122	0,2132	0,00055958	3,07769E-06	0,181041	21,32
0,2264	0,2270	0,2267	0,000595013	3,27257E-06	0,192504	22,67
0,2540	0,2260	0,2400	0,000629921	3,46457E-06	0,203798	24

Tabella 5 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,10% di Capsaicina

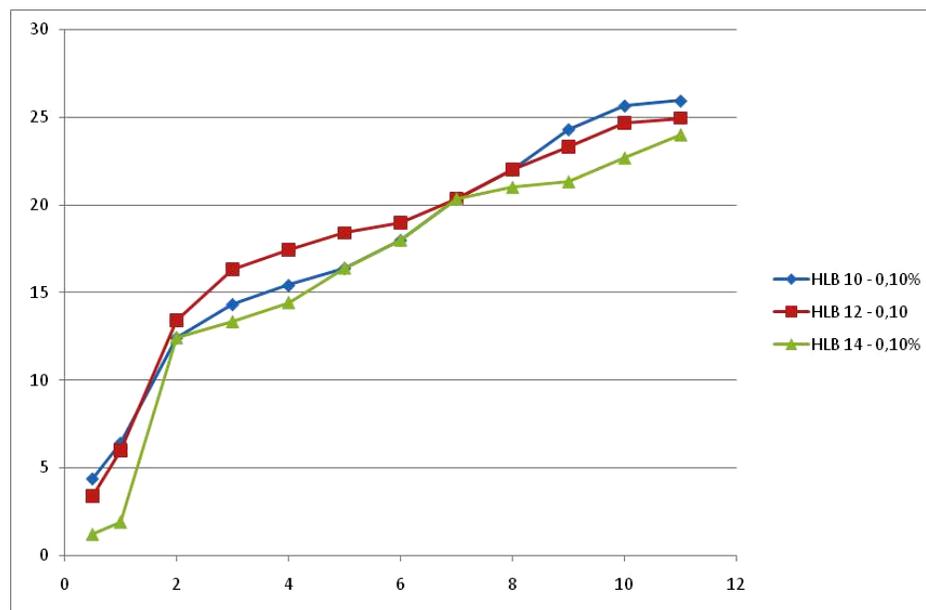


Figura 11 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ai diversi HLB allo 0,10% di Capsaicina

Grafici dello stesso HLB ella diverse % di Capsaicina

Verranno di seguito inseriti gli andamenti sulla permeazione dei sistemi formulati, tale rappresentazione mette in evidenza le diverse percentuali di principio attivo utilizzato nello stessa sistema di HLB:

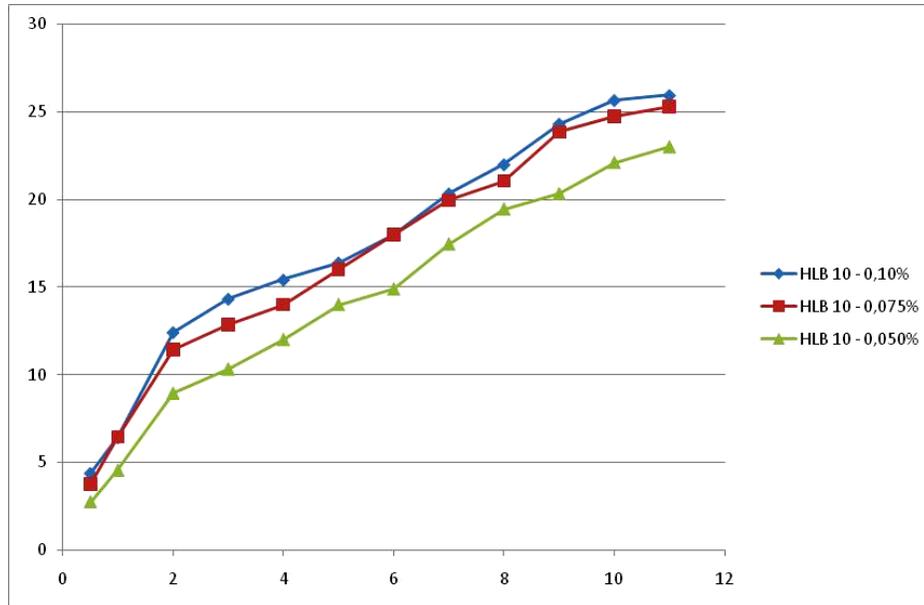


Figura 12 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ad HLB 10 con le diverse percentuali di Capsaicina

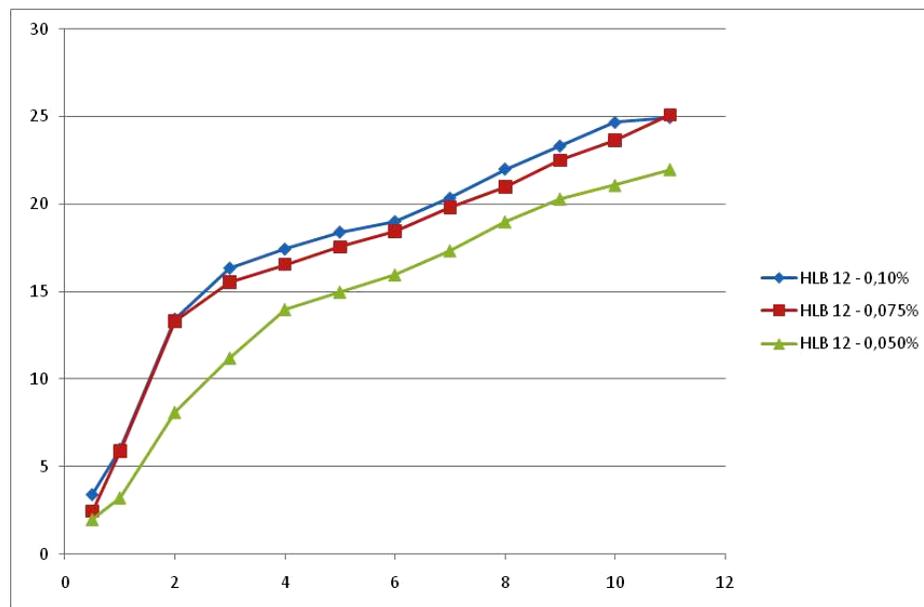


Figura 13 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ad HLB 12 con le diverse percentuali di Capsaicina

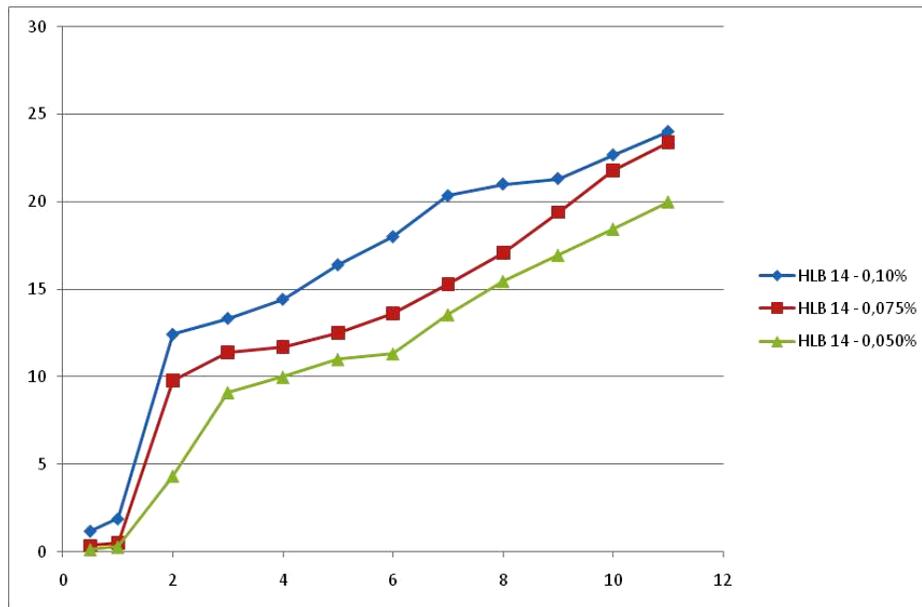


Figura 14 Dati ricavati, mediante le celle di Franz, sulla permeazione in vitro delle microemulsioni ad HLB 14 con le diverse percentuali di Capsaicina

I dati ottenuti nelle diverse fasi sperimentali, cioè nella fase di formulazione, di studio granulometrico dei sistemi formulati, di studio sulla viscosità e conducibilità dei sistemi e di permeazione in vitro, hanno permesso di elaborare le conclusioni del successivo capitolo, in particolare su quello che era stato l'approccio fenomenologico adottato nelle ipotesi iniziali. Poiché si è voluto adottare un approccio che prevedeva di elaborare dei sistemi di microemulsioni, fissando gli HLB dei sistemi e ricavando quelli che sono gli elementi sulla formulazione, il tutto finalizzato ad un preciso campo applicato delle microemulsioni così formulate.

Quadro riassuntivo

Di seguito sono inseriti i risultati ottenuti sui sistemi studiati, in particolare si pone l'attenzione sui dati di permeazione in vitro, dove si evidenziano le differenti percentuali di assorbimento del principio attivo utilizzato ai diversi HLB:

Sample ID	IPM %	Water %	Surf. %	Particle size (nm)	EC (uS/cm)	Viscosity 4° C [Pa · s]	Viscosity 37° C [Pa · s]	Permeazione % in vitro dopo 12h
HLB 14	53	7	40	< 200	0,8	0,5	0,09	
HLB 14 0,05	53	7	40	< 200				20
HLB 14 0,075	53	7	40	< 200	1,1			23,4
HLB 14 0,10	53	7	40	< 200				24
HLB 12	40	20	40	< 200	1,6	0,71	0,23	
HLB 12 0,05	40	20	40	< 200				22
HLB 12 0,075	40	20	40	< 200	1,7			25,1
HLB 12 0,10	40	20	40	< 200				25
HLB 10	10	20	70	< 200	3,1	1,39	0,46	
HLB 10 0,05	10	20	70	< 200				23
HLB 10 0,075	10	20	70	< 200	3,5			25,3
HLB 10 0,10	10	20	70	< 200				26

Tabella 6 Quadro riassuntivo dei risultati ottenuti

Conclusioni, applicazioni e sviluppi futuri

Per trovare nuove formulazioni, per aumentare la biodisponibilità di principi attivi con caratteristiche favorevoli, portando ad un aumento dell'efficacia, ad una diminuzione della tossicità ed ad un sistema in grado di ritardarne il rilascio, sono state impiegate le microemulsioni.

In questo lavoro di tesi è stato proposto e studiato un nuovo approccio fenomenologico basato sull'utilizzo di microemulsioni per la veicolazione di principi attivi di interesse, in contrapposizione con i metodi empirici normalmente usati nella pratica. Da un punto di vista teorico si sono scelte formulazioni che rispettassero dei requisiti funzionali per cui il modello risultante ha caratteristiche predittive. I sistemi così ottenuti hanno buone probabilità di successo in quanto la microstruttura della fase offre un'alta superficie attiva costituita dalle teste polari del tensioattivo affacciate sui domini acquosi. La microemulsione è stata caratterizzata in termini di capacità, di dimensionalità e permeazione.

I valori ottenuti hanno mostrato un deciso miglioramento quando comparati con altri risultati ottenuti per sistemi simili e con soluzioni idroalcoliche caricate con la stessa concentrazione di capsaicina.

Partendo dalle proprietà intrinseche delle microemulsioni, si sono ottenute diverse formulazioni che hanno permesso di valutare su sistemi ternari, ciascuno relativo ad ogni HLB fissato, i domini di esistenza delle microemulsioni. I punti chiave che sono stati fissati sono le loro caratteristiche di base, ed in particolare stabilità, isotropia e granulometria. Quest'ultima è stata dimostrata essere indipendente dalla presenza della capsaicina nel sistema. Inoltre lo studio della conducibilità, utilizzata per stabilire l'ordine delle fasi, ha messo in evidenza che tali sistemi non risentono in alcun modo del principio attivo utilizzato, per cui la distribuzione delle fasi delle microemulsioni rimane invariata e di tipo O/W.

La viscosità dei sistemi si è rivelata idonea per l'applicazione a cui tali sistemi sono destinati, per cui si può concludere che reologicamente tali sistemi favoriscono un'ottima penetrazione cutanea.

Successivamente i sistemi così definiti sono stati valutati in termini di efficienza di permeazione cutanea in vitro, mediante le celle di Franz.

Il sistema si è dimostrato molto efficiente anche alle basse concentrazioni. Dalle prove di permeazione si evince che risulta possibile raggiungere un'efficienza di permeazione grossomodo simili, anche utilizzando concentrazioni diverse di capsaicina, da ciò si deduce che per la permeazione non può essere utilizzata una semplice legge diffusiva di Fick, in

quanto non tiene conto della complessa struttura dello strato corneo e dei fenomeni biofarmacologici che avvengono nei sistemi modello usati.

I tre sistemi studiati hanno dimostrato che l'unica influenza è data dal diverso HLB e, di conseguenza, dalla formulazione differente dei sistemi. In particolare l'aumento della viscosità del sistema, dipendente dalla concentrazione di doppio emulsionante, ha favorito il fenomeno della permeazione cutanea della microemulsione ad HLB 10.

Il nuovo approccio sviluppato nel presente lavoro di tesi, si è rilevato, come confortato dai dati sperimentali, molto utile per la formulazione di questi sistemi in accordo con l'applicazione desiderata.

Per ciò che concerne gli sviluppi legati a questo lavoro, occorre, per il futuro, ottimizzare le condizioni sperimentali; in particolare occorrerebbe ottimizzare le formulazioni per aumentare il caricamento di principi attivi con diversi gradi di lipofilia. Questo porterebbe ad una valutazione più solida dei sistemi ternari proposti, alla stima della capacità massima a saturazione e alla minimizzazione dell'eventuale degradazione della microemulsione.

Interessanti sviluppi potrebbero essere finalizzati ad approfondire l'effetto della composizione della microemulsione sulle proprietà di scambio del sistema, ed in particolare il reale effetto della quantità di tensioattivo sulla capacità di veicolazione del principio attivo incapsulato nella fase oleosa.

In conclusione, si può affermare che l'applicazione delle microemulsioni per la veicolazione della capsaicina, sembra essere una soluzione promettente e potrebbe costituire un metodo innovativo ed economicamente vantaggioso da affiancare alle attuali applicazioni farmacologiche, comprendenti anche altri sistemi di microemulsioni o altri preparati topici. L'approccio adottato risulta idoneo per creare tali sistemi complessi, senza dover ricorrere a lunghi e spesso infruttiferi tentativi.

La caratteristica più invitante di questo approccio fenomenologico è la possibilità di creare una microemulsione mirata ad una determinata applicazione, facilmente formulabile, omogenea, termodinamicamente stabile e di facile preparazione; utilizzabile in modo semplice ed economico.