



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PREPARACIÓN DE NANODISPERSIONES DE USO FARMACÉUTICO POR
DIFUSIÓN O REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN USANDO EL PRINCIPIO DEL
TUBO VENTURI

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. GILBERTO GARCÍA SALAZAR

TUTOR

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
FES CUAUTITLAN

CIUDAD DE MEXICO JUNIO DEL 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

**Preparación de nanodispersiones de uso farmacéutico por difusión o
reacción de saponificación usando el principio del tubo Venturi**

T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Gilberto García Salazar

Tutor: Dr. David Quintanar Guerrero



Ciudad de México, Junio del 2019.

JURADO ASIGNADO

Dr. Jesús Gracia Fadrique
(Facultad de Química, UNAM)

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira
(FES-Cuautitlán, UNAM)

Dr. Francisco Hernández Luis
(Facultad de Química, UNAM)

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda
(UAM-Xochimilco)

Dra. María Josefa Bernad Bernad
(Facultad de Química, UNAM)

Tutor: Dr. David Quintanar Guerrero

Comité tutor: Dra. Luz María Melgoza Contreras
Dra. Helgi Helene Jung Cook

Lugar donde se realizó la tesis

Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-323),
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1, UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por la formación educativa que recibí desde la Licenciatura hasta el Doctorado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por la beca recibida durante el Posgrado, número de becario 240062.

A los proyectos **PAPIIT 2019143, CONACYT CB 221629, CONACYT INFRA 251940, PIAPI 001.**

A el **Técnico Draucin Jiménez** del Taller de Soplado de Vidrio de la FES Cuautitlán, por la manufactura del sistema de tubo Venturi para preparar dispersiones y emulsiones en este proyecto.

Al **Dr. David Quintanar Guerrero** por brindar su guía durante mi estancia en el proyecto de Posgrado.

A los miembros de mi comité tutor la **Dra. Luz María Melgoza Contreras** y la **Dra. Helgi Helene Jung Cook** por sus valiosas aportaciones al proyecto.

A mis compañeros del **laboratorio L-323** Eduardo Serrano, Mauricio Hernández, Lysette Corona, Abraham Ramírez, Violeta Toledo, Diana Contreras, Gustavo Vidal Lisbeth Martínez, Oscar Escalona, Paulina Fuentes, Citlalli Alonso, Sararí Melgar, Armando Soto, Guillermo Aguas ya que su amistad me hizo más agradable mi estancia.

DEDICATORIA

Agradezco a mi esposa Paulina por su apoyo incondicional durante la realización del proyecto.

A mis mayores tesoros mi hija Victoria Itzel y mi hijo Sebastián Iktan.

A mis padres Margarito y Margarita por ser ejemplo de fortaleza ante las grandes adversidades

A Dios que es una fuerza divina que me impulsa a continuar y terminar mis proyectos.

HECHO EN FESC, UNAM, 2014-2018

Newton first believes something then tests that belief and finally learns if it is true or not

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES EN CONGRESOS DERIVADOS DEL PROYECTO DE DOCTORADO

Presentación en Congresos

1. International Congress on Transdisciplinary Nanoscience & Nanotechnology, Octubre 2018, Ciudad de México, Modalidad Cartel.
2. Annual Meeting & Exposition of American Association of Pharmaceutical Scientists, Noviembre 2016, Denver Colorado, USA, Modalidad Cartel.

Publicaciones

1. Gilberto Garcia-Salazar, Maria de la Luz Zambrano-Zaragoza, David Quintanar-Guerrero, (2018), "Preparation of nanodispersions by solvent displacement using the Venturi tube", International Journal of Pharmaceutics 545 (2018) 254–260.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	i
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIACIONES	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Nanopartículas poliméricas	4
2.1.1 Clasificación de nanopartículas poliméricas	4
2.1.2 Métodos de preparación para nanopartículas poliméricas	5
2.1.3 Poli- ϵ -caprolactona	6
2.2 Nanopartículas lipídicas sólidas.....	7
2.2.1 Estructura de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas.....	8
2.2.2 Métodos de preparación de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas	9
2.2.3 Monoleato de glicerilo (monoleína).....	11
2.3 Nanopartículas por técnicas de precipitación.....	12
2.3.1. Desplazamiento de disolvente.....	12
2.3.2. Mecanismo de formación	14
2.3.3. Aplicación de la técnica de desplazamiento de disolvente	15
2.4 Tubo Venturi	16
2.4.1 Principio de operación	17

2.4.2	Diseño del tubo Venturi	17
2.4.3	Aplicaciones del tubo Venturi	18
2.5	Dinámica de fluidos	19
2.5.1.	Tipo de fluidos	19
2.5.1.1	Flujo laminar	20
2.5.1.2	Flujo turbulento.....	20
2.5.2	Número de Reynolds (Re).....	20
2.6	Reacciones de saponificación	21
2.7	Diseño de experimentos	24
2.7.1	Directrices para el diseño de experimentos.....	25
2.7.2	Etapa de barrido o escrutinio.....	27
2.7.3	Etapa de optimización	27
3.	JUSTIFICACIÓN.....	29
4.	HIPÓTESIS.....	30
5.	OBJETIVOS.....	31
5.1	Objetivo general	31
5.2	Objetivos particulares.....	31
6.	METODOLOGÍA	33
6.1	Diagrama de flujo experimental	33
PREPARACION DE NANOPARTÍCULAS POR DESPLAZAMIENTO DE		
DISOLVENTE Y TUBO VENTURI		34

6.2 Preparación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente (método convencional)	34
6.3 Preparación de nanopartículas por tubo Venturi	35
6.3.1 Diseño experimental para preparar nanopartículas poliméricas de poli- ε-caprolactona por el tubo Venturi	36
6.3.2 Diseño experimental para nanopartículas lipídicas de monoleína por el tubo Venturi	37
6.4 Caracterización	38
6.4.1 Tamaño de partícula e índice de polidispersidad	38
6.4.2 Potencial zeta	38
6.4.3 Eficiencia de proceso	38
6.5 Número de Reynolds	39
6.6 Análisis estadísticos de los resultados	40
6.7 Optimización de la metodología del tubo Venturi	41
6.8 Repetitividad de lote a lote y versatilidad del método	41
6.9 Preparación de emulsiones por el método de inyección-agitación utilizando disolventes orgánicos	42
6.10 Preparación de emulsiones por el tubo Venturi	43
6.11 Caracterización de emulsiones	44
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
7.1 Desarrollo de la metodología del tubo Venturi	45
7.2 Obtención del número de Reynolds	46

7.3 Selección de materiales para la preparación de nanopartículas poliméricas	47
7.4 Comparación de la metodología de desplazamiento de disolvente vs tubo Venturi para nanopartículas de poli-ϵ-caprolactona	48
7.5 Mecanismo de formación de nanopartículas poliméricas de poli-ϵ-caprolactona por el tubo Venturi	49
7.6 Preparación de nanopartículas poliméricas de poli-ϵ-caprolactona por el tubo Venturi	50
7.6.1 Eficiencia de proceso	53
7.6.2 Tamaño de partícula.....	55
7.6.3 Índice de polidispersión	55
7.6.4 Optimización y versatilidad del método del tubo Venturi para nanopartículas poliméricas	58
7.7 Selección de materiales para la preparación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas	60
7.8 Comparación de la metodología de desplazamiento de disolvente contra tubo Venturi para preparar Nanopartículas Lipídicas Sólidas	61
7.9 Preparación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas por el tubo Venturi mediante un diseño Box-Behnken.....	62
7.9.1 Eficiencia de proceso	66
7.9.2 Tamaño de partícula.....	66
7.9.3 Índice de polidispersidad	69
7.9.4 Potencial zeta.....	69
7.9.5 Optimización y versatilidad del método del tubo Venturi	72

7.10 Selección de materiales para preparar emulsiones mediante el uso de disolventes orgánicos por inyección-agitación	77
7.11 Preparación de emulsiones por medio del tubo Venturi	80
8. CONCLUSIONES	83
9. PERSPECTIVAS	86
10. BIBLIOGRAFÍA	87
11. ANEXOS	96
ANEXO I. Publicaciones.....	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Métodos para preparar nanopartículas poliméricas.....	5
Tabla 2	Ventajas y desventajas de las NLS.....	7
Tabla 3	Lípidos más comunes para preparar NLS.....	8
Tabla 4	Ejemplos de nanopartículas obtenidos por desplazamiento de disolvente.....	16
Tabla 5	Aplicaciones del tubo Venturi.....	19
Tabla 6	Ventajas de los diseños de experimentos.....	24
Tabla 7	Variables independientes sin codificar del DCC para la preparación de nanopartículas de poli-ε-caprolactona por el tubo Venturi.....	37
Tabla 8	Variables independientes sin codificar del diseño Box-Behnken para preparar nanopartículas de monoleína con el tubo Venturi.....	37
Tabla 9	Materiales utilizados para garantizar la versatilidad de la metodología del tubo Venturi	41
Tabla 10	Formulación de una emulsión por el método de inyección-agitación.....	42
Tabla 11	Formulación de una emulsión cosmética por el método del tubo Venturi	43
Tabla 12	Caracterización de las emulsiones.....	44
Tabla 13	Resultados del número de Reynolds en el tubo Venturi.....	47
Tabla 14	Matriz codificada para el DCC del tubo Venturi.....	51
Tabla 15	ANOVA y coeficientes de regresión sobre las variables de respuesta respecto a los factores estudiados para nanopartículas poliméricas.....	52
Tabla 16	Versatilidad del tubo Venturi para preparar nanopartículas poliméricas con diferentes polímeros y estabilizantes.....	59

Tabla 17	Resultados de la preparación de NLS de monoleína por el método convencional y el tubo Venturi	62
Tabla 18	Matriz codificada para el Diseño Box-Behnken para NLS de monoleína por tubo Venturi	63
Tabla 19	ANOVA y coeficientes de regresión sobre las variables de respuesta respecto a los factores estudiados de las nanopartículas lipídicas de monoleína.....	64
Tabla 20	Comparación de los resultados obtenidos por el programa estadístico (en función de <i>D</i>) y experimental.....	73
Tabla 21	Preparación de NLS mediante la metodología del tubo Venturi con diferentes lípidos y estabilizantes.....	74
Tabla 22	Evaluaciones de las emulsiones preparadas por el método de inyección-agitación con diferentes disolventes orgánicos	79
Tabla 23	Evaluaciones de las emulsiones preparadas con el tubo Venturi.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Morfología de las nanopartículas.....	4
Figura 2	Estructura de la poli- ϵ -caprolactona.....	6
Figura 3	Estructura de las NLS.....	9
Figura 4	Métodos de preparación de NLS sin el uso de disolventes orgánicos.....	10
Figura 5	Métodos de preparación de NLS con el uso de disolventes orgánicos.....	10
Figura 6	Estructura de la monoleína.....	11
Figura 7	Representación esquemática del método de desplazamiento de disolvente para preparar nanopartículas poliméricas y lipídicas	13
Figura 8	Mecanismo de formación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente.....	14
Figura 9	Tubo Venturi.....	18
Figura 10	Tipos de flujos en un tubo circular.....	21
Figura 11	Reacción de saponificación.....	22
Figura 12	Optimización de un proceso con diseños de experimentos.....	28
Figura 13	Diagrama general de las etapas del proyecto de investigación.....	33
Figura 14	Preparación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente.....	34
Figura 15	Preparación de nanopartículas por el tubo Venturi.....	35
Figura 16	Puntos de medición del número de Re en el tubo Venturi...	39
Figura 17	Fotografía de la metodología diseñada para preparar nanodispersiones por el tubo Venturi	46

Figura 18	a) Comparación del TP por la metodología del TV y MCDD; b) Comparación de la EP por la metodología del TV y MCDD; donde 2.5 L/min, 3.5 L/min y 7.5 L/min son las velocidades de recirculación utilizadas en el TV. Donde TV: tubo Venturi; MCDD: Método convencional de desplazamiento de disolvente.....	48
Figura 19	Gráficas de superficie de respuesta para la EP en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde EP: eficiencia de proceso; PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.....	54
Figura 20	Gráficas de superficie de respuesta para el TP en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde, TP: tamaño de partícula, PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.....	56
Figura 21	Gráficas de superficie de respuesta para el IPD en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde, IPD: Índice de polidispersidad; PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.....	57
Figura 22	Diagramas de Pareto Estandarizado: a) Eficiencia de proceso, b) Tamaño de partícula, c) Índice de polidispersidad, d) Potencial zeta. Donde A: velocidad de inyección, B: velocidad de recirculación, C: Concentración del estabilizante.....	65
Figura 23	Gráficas de superficie de respuesta de la EP en función de: a) velocidad de recirculación y PVA, b) velocidad de inyección y PVA y c) velocidad de inyección y velocidad de	

	recirculación. Donde EP: Eficiencia de proceso y PVA: Alcohol polivinílico.....	67
Figura 24	Gráficas de superficie de respuesta del TP en función de: a) velocidad de recirculación y PVA, b) velocidad de inyección y PVA, c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde TP: tamaño de partícula y PVA: alcohol polivinílico.....	68
Figura 25	Gráficas de superficie de respuesta del IPD en función de: a) velocidad de recirculación y monoleína, b) velocidad de inyección y monoleína y c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde IPD: Índice de polidispersidad	70
Figura 26	Gráficas de superficie de respuesta del PZ en función de: a) velocidad de recirculación y monoleína, b) velocidad de inyección y monoleína y c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde PZ: Potencial zeta.....	71
Figura 27	Gráfica de contornos de superficie donde se relacionan los factores: velocidad de inyección y recirculación a una concentración fija de estabilizante al 1.0 p/v.....	72

LISTA DE ABREVIACIONES

AE	Ácido esteárico
CAP	Acetato ftalato de celulosa
D	Índice de deseabilidad
DCC	Diseño compuesto Central
EP	Eficiencia de proceso
GRAS	Generalmente reconocidos como seguros
HAP	Homogenización a alta presión
IPD	Índice de polidispersidad
LSS	Lauril sulfato de sodio
MCDD	Método convencional por desplazamiento de disolvente
Mon	Monoleína
MSG	Monoestearato de glicerilo
NLS	Nanopartículas lipídicas sólidas
PCL	Poli- ϵ -caprolactona
PLA	Ácido poliláctico
PLGA	Ácido poli(láctico-co-glicólico)
PLX	Poloxámero 188
PVA	Alcohol polivinílico
PZ	Potencial zeta
Re	Número de Reynolds
T80	Tween® 80
TEA	Trietanolamina
TP	Tamaño de partícula
TV	Tubo Venturi

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se concibió al tubo Venturi como mezclador estático para preparar nanodispersiones poliméricas, lipídicas y emulsiones cosméticas. La primera parte del proyecto se diseñó una metodología que incluye al tubo Venturi en un sistema de recirculación. Donde una fase acuosa con el o los estabilizantes están en constante recirculación y una fase orgánica que puede estar constituida por el polímero o lípido en un disolvente orgánico es inyectada en la garganta del tubo Venturi. Ambas fases son mezcladas por la turbulencia que se forma dentro del dispositivo de mezclado formando nanodispersiones. Posteriormente, se prepararon nanopartículas poliméricas de poli- ϵ -caprolactona y lipídicas de monooleato de glicerilo por medio de un diseño de experimentos de cribado para saber qué factores (velocidad de inyección y recirculación, concentración del polímero/lípido y estabilizante, tipo de aguja), tenían impacto sobre las variables de respuesta: tamaño de partícula (TP), índice de polidispersidad (IPD), potencial zeta (PZ) y eficiencia de proceso (EP). Después de conocer que factores afectaban a cada metodología, se utilizaron diseños de superficie respuesta para su optimización. Para nanopartículas poliméricas se utilizó un diseño Compuesto Central y Box-Behnken para las nanopartículas lipídicas. Las nanopartículas obtenidas fueron caracterizadas por dispersión dinámica de luz para medir el TP e IPD, el PZ se midió por dispersión de luz electroforética, además de calcular la EP. Nuestros resultados mostraron que el número de Reynolds tenía un fuerte efecto sobre el TP y eficiencia del proceso, relacionado a un flujo turbulento, que es llave para una eficiente formación de nanopartículas. Las condiciones óptimas para preparar nanopartículas poliméricas fueron obtenidas de la optimización por medio de una función de deseabilidad (D): concentración de polímero, 1.6 % (p/v); velocidad de recirculación, 4.8 L/min; concentración de estabilizante, 1.1 % (p/v), con los siguientes resultados predictivos: TP, 333 nm; IPD, 0.2 y EP, 99.7 %. Además, se comprobó la versatilidad del método con los

siguientes polímeros: acetato ftalato de celulosa, ácido poli(láctico-co-glicólico) y poloxámero 188 como estabilizador, obteniendo nanopartículas con TP menores a 500 nm y una EP cercana al 100.0 %. Para nanopartículas lipídicas, los valores en función de *D* fueron: velocidad de inyección, 1.6 mL/min; velocidad de recirculación, 4.2 L/min; concentración del estabilizante, 1.0 % (p/v). Los valores predictivos fueron: TP, 212 nm; IPD, 0.21; PZ, -19.9 mV y EP, 96.0%. La versatilidad del método se comprobó con los siguientes lípidos: ácido esteárico, monoestearato de glicerilo y como estabilizador Tween® 80, obteniendo nanopartículas con TP menor a 500.0 nm y EP mayor al 85.0 %. La segunda parte del proyecto fue la preparación de emulsiones cosméticas (cremas líquidas) por medio de la reacción de saponificación a una temperatura de 35°C a 45°C mediante la disolución del lípido con una cantidad mínima de acetato de etilo y trietanolamina como álcali para formar emulsiones mediante la metodología del tubo Venturi. Para la elaboración de estas cremas líquidas se tienen dos fases: una fase oleosa que contiene el ácido esteárico, alcohol cetílico, lanolina y aceite mineral, conservador y una fase acuosa con trietanolamina, glicerina, más preservativo. Los resultados fueron los siguientes: las propiedades organolépticas tenían características de una crema líquida en cuestión de color y olor, la apariencia fue perlada y su textura evanescente. Las propiedades fisicoquímicas fueron: viscosidad, 866 ± 132 cps, tamaño de glóbulo, 2.2 ± 0.56 μ m y pH, 8.2 ± 0.15 . Con esta metodología se obtuvo una emulsión estable ya que no mostró separación de fases. Nuestros resultados muestran que el tubo Venturi es un dispositivo capaz de reproducir nanopartículas y emulsiones cosméticas. Esto abre un área de oportunidad para desarrollar nuevas metodologías mediante el uso del tubo Venturi con la opción a ser escalable a nivel industrial.

ABSTRACT

In this researching work, the Venturi tube was conceived as a static mixer in order to prepare polymeric, lipid and cosmetic emulsions. Firstly, we designed a methodology that includes to Venturi tube in a recirculation system, where an aqueous phase is in a constant flow recirculate and an organic phase is injected to Venturi's throat. Both phases are mixed by turbulence that is formed inside of Venturi tube, so nanodispersions and emulsions are obtained by displacement solvent. After that, polymeric nanoparticles of poly- ϵ -caprolactone and lipid nanoparticles of monoolein was prepared by a Design Screening Experiment in order to know what kind of factors (injection rate, recirculation rate, polymer concentration, lipid concentration, stabilizer and kind of needle) had impact on response variable: particle size (PS), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP) and process yield (PY). So, we could identify what kind of factors affects the methodologies. For polymeric nanoparticles, a Central Composite Design was occupied and Box-Behnken Design for lipid nanoparticles. Nanoparticles obtained was characterized by dynamic dispersion light for measuring PS and PDI, and the electrophoretic light dispersion was occupied for measuring ZP, also PY was determined. Our results showed that Reynolds number had a strong effect over two response variables: PS and PY, it was related to turbulent flow that is key for an efficient nanoparticle formation. The optimum condition for polymeric nanoparticles as a result of optimization thorough desirability function (D) was: polymer concentration, 1.6 % (w/v); recirculation rate, 4.8 l/min; stabilizer concentration, 1.1 % (w/v), with the next predictive results: PS, 333 nm; PDI, 0.2; PY, 99.7 %. Also, the versatility of the method was verified with the next polymers: Cellulose Acetate Phthalate, poly(lactic-co-glycolic) acid and as stabilizer Poloxámero 188. So, nanoparticles with PS less a 500 nm and PY approached 100 % were obtained. In the case of lipid nanoparticles, the values obtained for D were: injection rate, 1.6 ml/min, recirculation rate, 4.2, l/min; and stabilizer concentration, 1.0 % (w/v). The predictive values were: PS, 212

nm; PDI, 0.21; ZP, -19.0 mV; PY, 96 %. Versatility method was tested with the next lipid: stearic acid, glyceryl monostearate, as stabilizer Tween® 80. So, nanoparticles with a size less 500nm and PY up 85.0 % were obtained. The second part of the project was the preparation of cosmetic emulsions (liquid cream) through saponification reaction a temperature of 40 °C – 45 °C through of dissolution of lipid with a small quantity of ethyl acetate, the triethanolamine was used as alkali in order to formed emulsions through of Tube Venturi Methodology. These kinds of creams have two phases: lipid phase with stearic acid, cetyl alcohol, lanoline, mineral oil and aqueous phase with triethanolamine, glycerin plus conservative. The results obtained were organoleptic properties like a cream liquid in color and odor, with pearl appearance and texture evanescent. The physicochemical properties were: viscosity, 866 ± 132 cps; globule size, 2.2 ± 0.56 μm ; pH, 8.2 ± 0.15 . With this methodology, a stable emulsion was obtained because it not showed phases separation. Our results showed that Venturi tube is a device able to reproduce nanoparticles and cosmetic emulsion, also to demonstrate its versatility. This opens new ways in order to develop new methodologies through of Venturi tube with the opportunity of industrial applications.

1. INTRODUCCIÓN

La preparación de sistemas dispersos se puede dar de dos formas: a) forma espontánea, al contactar sus fases (por ejemplo, desplazamiento de disolvente o nanoprecipitación); b) por medio de dispersión física mediante diferentes formas de homogenización por medio de molinos coloidales, dispersores de alta presión, sistemas rotor-estator, dispositivos ultrasónicos, etc. Para este proyecto se planteó preparar nanopartículas utilizando la nanoprecipitación, proceso descrito y patentado por Fessi et al. 1989. Este método es uno de los más aprovechados por su simplicidad; consiste en inyectar una solución orgánica formada por el o los principios activos y el o los polímeros y/o lípidos en un disolvente polar, dentro una solución acuosa que contiene un estabilizante que se encuentra en agitación mecánica moderada, las nanopartículas se forman instantáneamente por una rápida difusión debido a las turbulencias interfaciales que se generan durante la agitación (Quintanar-Guerrero, Allémann, et al. 1998).

Otra vía para preparar dispersiones es mediante el uso de mezcladores estáticos, los cuales utilizan la energía del flujo de un fluido para promover la homogeneización. Estos mezcladores están formados por una serie de elementos fijos, por lo general helicoidales, incluidos dentro de una carcasa tubular. Cuando una mezcla de dos o más fluidos pasan a través de la carcasa, esta se particiona y se recombina constantemente, hasta obtener un fluido homogéneo. Dichos mezcladores ofrecen ciertas ventajas en comparación con el mezclado mediante agitación mecánica como: menor espacio para equipos, bajo costo de mantenimiento, disminución en equipos de operación, entre otros (Ghanem et al. 2014), los cuales son usados en diferentes áreas de proceso industrial como: Química, Papelera, Farmacéutica, entre otras.

En este proyecto proponemos utilizar el tubo Venturi como un dispositivo de mezclado para preparar emulsiones y nanopartículas. El tubo Venturi está compuesto por una sección de entrada cónica que conduce a una sección de garganta, y ésta a un largo cono de descarga. La entrada del tubo Venturi tiene un flujo laminar debido a que tiene un diámetro uniforme, cuando el flujo pasa a través del cono de entrada y la garganta, se forma un flujo turbulento, el cual consiste en un conjunto de remolinos de varios tamaños que coexisten en la corriente del flujo (McCabe, Smith, and Harriot 2007).

En el presente proyecto pretendemos aprovechar las diferencias de presión y flujo que producen turbulencia dentro del tubo Venturi y aplicarlo a operaciones unitarias como dispersión y emulsificación para producir nanodispersiones y emulsiones. Por lo cual se desarrolló una metodología que incluye al tubo Venturi en un sistema de recirculación, donde una fase acuosa que contiene un estabilizante o un álcali en constante recirculación y una fase orgánica con un lípido y/o polímero se inyecta en la garganta del tubo Venturi para formar emulsiones o nanodispersiones. El flujo turbulento dentro del tubo Venturi actúa como un agitador mecánico el cual mezcla todos los componentes de la formulación para obtener nanodispersiones y/o emulsiones.

En la actualidad no hay reportes de nanopartículas y emulsiones preparadas utilizando el tubo Venturi como dispositivo principal; la inclusión de este dispositivo se ha incluido para la reducción del tamaño de las gotas de los precursores, y su posterior introducción a una cámara, para la obtención de nanoestructuras inorgánicas (Lashmore, Chafee, and Schurer 2008). Por lo que esta investigación abre un área de oportunidad para utilizar el tubo Venturi como dispositivo de mezclado para la obtención de diferentes sistemas dispersos.

2. MARCO TEÓRICO

Richard Feynman es considerado uno de los pioneros en presentar una visión tecnológica sobre la miniaturización, manipulación y control de materiales y fue Norio Taniguchi quien denominó a las aplicaciones tecnológicas de esta ciencia, nanotecnología (Taniguchi 1974) siendo útil para construir nano-objetos átomo por átomo y/o molécula por molécula (Ochekpe, Olorunfemi, and Ngwuluka 2009).

La nanotecnología es un área derivada de la nanociencia, la cual desarrolla objetos que se ubican en una talla intermedia entre las grandes moléculas y pequeñas estructuras que se encuentran en un rango de 1-1000 nm. Su aplicación es amplia e interdisciplinaria, como la Física, Química y Biología. Por ejemplo, en el área de la Química se han desarrollado coloides, micelas y moléculas poliméricas (Whitesides 2005); estos materiales, producidos en tamaño microscópico tienen propiedades físicas y químicas diferentes a los materiales a nivel macroscópico. Para ilustrar lo anterior podemos mencionar las propiedades del oro; dependiendo del tamaño de partícula, varía su punto de fusión de 200 a 1068 °C con una relación directa entre ambas características, ya que al disminuir el tamaño de partícula disminuye el punto de fusión (Cortie and Lingen 2002), además de sus propiedades fisicoquímicas como: magnetismo, óptica, conductividad térmica y eléctrica, entre otras.

En este proyecto nos enfocamos en la preparación de nanopartículas poliméricas y lipídicas para su uso potencial en áreas como la farmacéutica, alimentos, cosmética entre otras. Las nanopartículas son definidas como partículas coloidales con talla submicrónica de 1-1000 nm (Pinto Reis et al. 2006), generalmente formadas por materiales de naturaleza polimérica, lipídica o materiales inorgánicos, las cuales pueden ser biodegradables o biocompatibles. Su naturaleza permite incorporar fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos a través de la conjugación, adsorción o

entrapamiento, además de ser biodegradables y tener baja toxicidad (Escalona-Rayo et al. 2017).

2.1 Nanopartículas poliméricas

En los años 70 las nanopartículas poliméricas fueron materiales novedosos gracias a su diminuto tamaño. Su aplicación como acarreadores farmacéuticos le confiere la característica de que el fármaco esté asociado eficientemente dentro o fuera de las nanopartículas (Kreuter 2007). Otra particularidad es que los componentes de su formulación le puedan proporcionar protección en su transporte *in vivo* para llegar al sitio de acción.

2.1.1 Clasificación de nanopartículas poliméricas

Las nanopartículas pueden ser clasificadas como nanocápsulas y nanoesferas. La diferencia entre estas dos estructuras está ligada a su morfología y arquitectura como se indica en la figura 1.

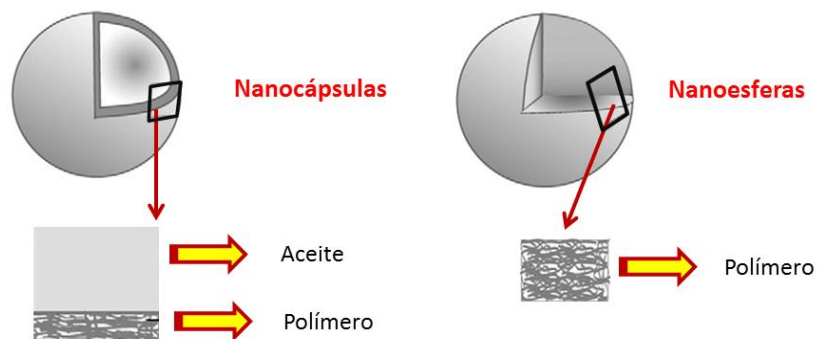


Figura 1. Morfología de las nanopartículas.

Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en donde el fármaco en solución acuosa u oleosa está confinado en el centro de la partícula rodeado por una

membrana polimérica; de modo que las nanocápsulas también puede ser considerados como un sistema reservorio. Las nanoesferas en cambio son sistemas matriciales, donde el fármaco se encuentra dispersado a través de toda la partícula (Pinto Reis et al. 2006). En este trabajo se usará el término nanopartícula para incluir ambas estructuras, tanto a nanoesferas como a nanocápsulas.

2.1.2 Métodos de preparación para nanopartículas poliméricas

Los principales métodos para preparar nanopartículas poliméricas son: a) reacción de polimerización de monómeros dispersos y b) dispersión de polímeros preformados o sintéticos. En la tabla 1 se muestra de manera general los diferentes métodos de obtención de nanodispersiones (Pinto Reis et al. 2006, Vauthier and Bouchemal 2009, Nagavarma et al. 2012).

Tabla 1. Métodos para preparar nanopartículas poliméricas.

Método	Clasificación	Polímeros
Polimerización de monómeros	Emulsión	Poliacrilatos, Poliacrilamidas, Poliestirenos, Poliamidas, Poliésteres, Poliuretanos
	Miniemulsión	
	Microemulsión	
	Interfacial	
Dispersión de polímeros preformados	Emulsificación - difusión	<u>Polímeros sintéticos:</u> Polilácticos, Policaprolactonas, Polietilenglicoles <u>Polímeros naturales:</u> Albúmina, Chitosán, Alginatos <u>Copolímeros:</u> Ácido poliláctico – poli-ε-caprolactona Ácido poli(láctico-co-glicólico) – polietilenglicol Poli-ε-caprolactona - Polietilenglicol
	Emulsificación – evaporación	
	Salting-out	
	Desplazamiento de disolvente	
	Diálisis	
	Fluidos supercríticos	

2.1.3 Poli-ε-caprolactona

En este trabajo, para la preparación de nanopartículas poliméricas se utilizó la poli-ε-caprolactona como polímero modelo; el cual es altamente hidrófobo y parcialmente cristalino, su cristalinidad se incrementa conforme disminuye el peso molecular, tiene una temperatura de transición vítrea (Tg) de -60 °C y una temperatura de fusión de 59°C - 64°C dependiente de su naturaleza cristalina. Su estructura se puede ver en la figura 2.

La poli-ε-caprolactona se degrada en el cuerpo vía hidrolisis por medio de los intermediarios ácido 6-hidroxi capróico y la acetil coenzima A, que a su vez entran al ciclo del ácido cítrico para su posterior eliminación del cuerpo (Woodruff and Hutmacher 2010). Este polímero y sus copolímeros se han utilizado en sistemas de liberación de fármacos debido a que son biodegradables y biocompatibles, además en sistemas como: matrices, microesferas, nanoesferas, pellets, etc. Con la finalidad de optimizar y controlar la permeabilidad en sistemas liberación (Sinha et al. 2004). Otras aplicaciones de este polímero son: material de sutura, gasas, dispositivos anticonceptivos e ingeniería tisular, entre otros (Woodruff and Hutmacher 2010).

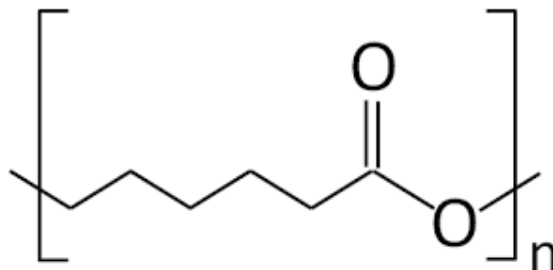


Figura 2. Estructura de la poli-ε-caprolactona.

2.2 Nanopartículas lipídicas sólidas

Las nanoemulsiones lipídicas fueron introducidas en los años 50 con el propósito de usarlas en nutrición parenteral. Estas contenían una fase lipídica a base de aceites vegetales o triglicéridos, además estabilizadores (fosfolípidos) y reguladores de osmolaridad (glicerol) (Mehnert and Mader 2001). Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) en la década de los 90 fueron una alternativa a sistemas coloidales tradicionales como: emulsiones, liposomas, micro- y nanopartículas poliméricas, teniendo aplicación en el área farmacéutica como acarreadores de fármacos.

El uso de lípidos sólidos en vez de líquidos para formar NLS fue una novedosa idea para lograr una liberación controlada de fármacos, debido a la baja movilidad de las moléculas a activar fármacos en una matriz sólida (Mehnert and Mader 2001). Algunas ventajas y desventajas de las NLS se enumeran en la tabla 2 (Üner 2006).

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las NLS.

Ventajas	Desventajas
Son menos tóxicas que las nanopartículas poliméricas	Limitada capacidad de carga de fármacos dependiendo las solubilidades del fármaco en el lípido sólido
Lípidos y surfactantes usados son generalmente reconocidos como seguros (GRAS)	Pérdida de fármaco durante su almacenamiento debido a la recristalización del lípido hacia la forma β u otra estructura polimórfica
Formulaciones son estables por largos periodos	Alto contenido de agua
Los métodos son reproducibles	Tendencia a la gelatinización
Algunos métodos no usan disolventes orgánicos	
Pueden ser aplicados por vía intravenosa, dérmica o tópica	

Otra característica de las NLS es que presentan una mejor biodisponibilidad, protegen las moléculas de fármacos susceptibles a degradarse bajo la influencia de agentes externos como la luz y el agua; asimismo, son un medio para la liberación prolongada de sustancias activas poco solubles incorporadas en una matriz lipídica sólida (Jores et al. 2003). En la tabla 3 se muestran algunos lípidos usados para preparar NLS (Villafuerte et al. 2008).

Tabla 3. Lípidos más comunes para preparar NLS.

Lípidos	Ejemplos
Triglicéridos	Tricarprina, Trilaurina, Trimistina, Tripalmitina, Triesterina
Acilgliceroles	Monoestearato de glicerol, Behenato de glicerol, Palmitato-estearato de glicerol
Ácidos grasos	Ácido esteárico, palmítico, decanóico y behénico
Ceras	Palmitato de cetilo
Tensoactivos	Ejemplos
Copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno	Poloxámero 188, Poloxámero 182, Poloxámero 407, Poloxamina 908
Copolímeros de óxido de etileno y sorbitan/óxido de propileno	Polisorbato 20, Polisorbato 60, Polisorbato 80
Polímeros poliéteres de alcohol alquil-arílico	Tyloxapol
Sales biliares	Colato de sodio, Glicolato de sodio, Taurocolato de sodio y Tauro-deoxicolato de sodio

2.2.1 Estructura de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Las NLS son matrices formadas por lípidos solidificados con patrones cristalinos específicos y estabilizados por tensoactivos o polímeros hidrofílicos. La talla de

partícula de las NLS dependerá de su composición y método de preparación, siempre buscando sea menor a 1 μm (Rohan et al. 2015) .

Las NLS se pueden clasificar de acuerdo con los diferentes modelos de incorporación de fármacos: a) matriz homogénea de lípidos con fármaco dispersado a través de toda la nanopartícula; b) centro lipídico con una cubierta de fármaco; c) fármaco en el núcleo con una cobertura lipídica (tipo capsula), como se observa en la figura 3. La estructura de las NLS dependen de la naturaleza química del fármaco y excipientes, así como de su interacción, además, esta puede estar determinada por las condiciones de preparación (Rajabi and Mousa 2016). Se han incorporado diferentes tipos de fármacos en las NLS, incluyendo lipofílicos e hidrofílicos.

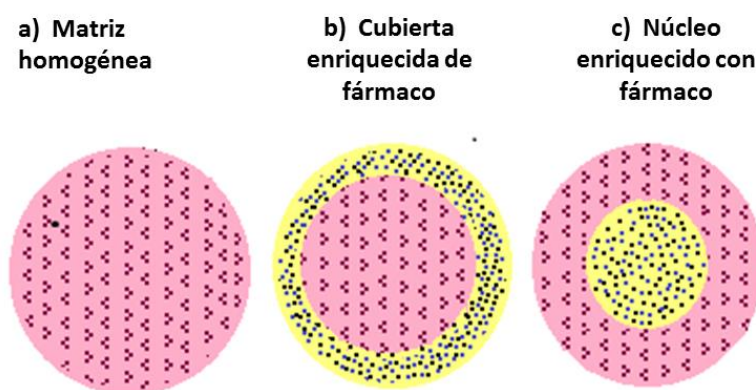


Figura 3. Estructura de las NLS.

2.2.2 Métodos de preparación de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Los métodos para preparar las NLS incluyen generalmente los que requieren el uso de disolventes orgánicos para solubilizar los materiales lipídicos y los que son libres de éstos. En las figuras 4 y 5 se muestran esquemas generales para preparar NLS por los métodos antes mencionados.

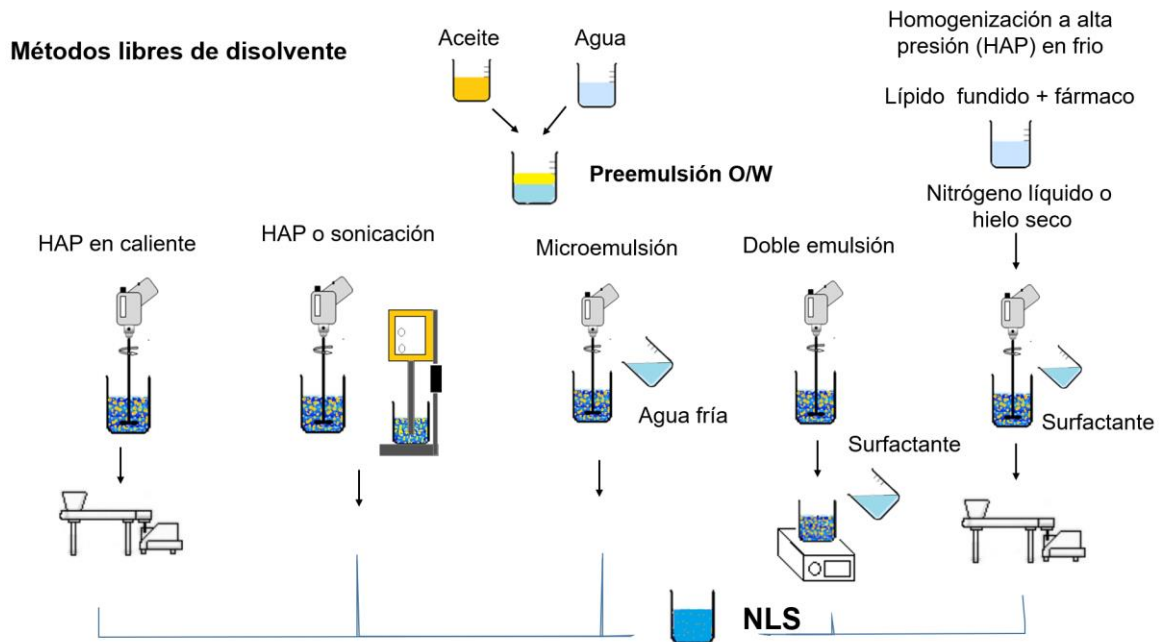


Figura 4. Métodos de preparación de NLS sin el uso de disolventes orgánicos (Souto, Fangueiro, and Müller 2013).

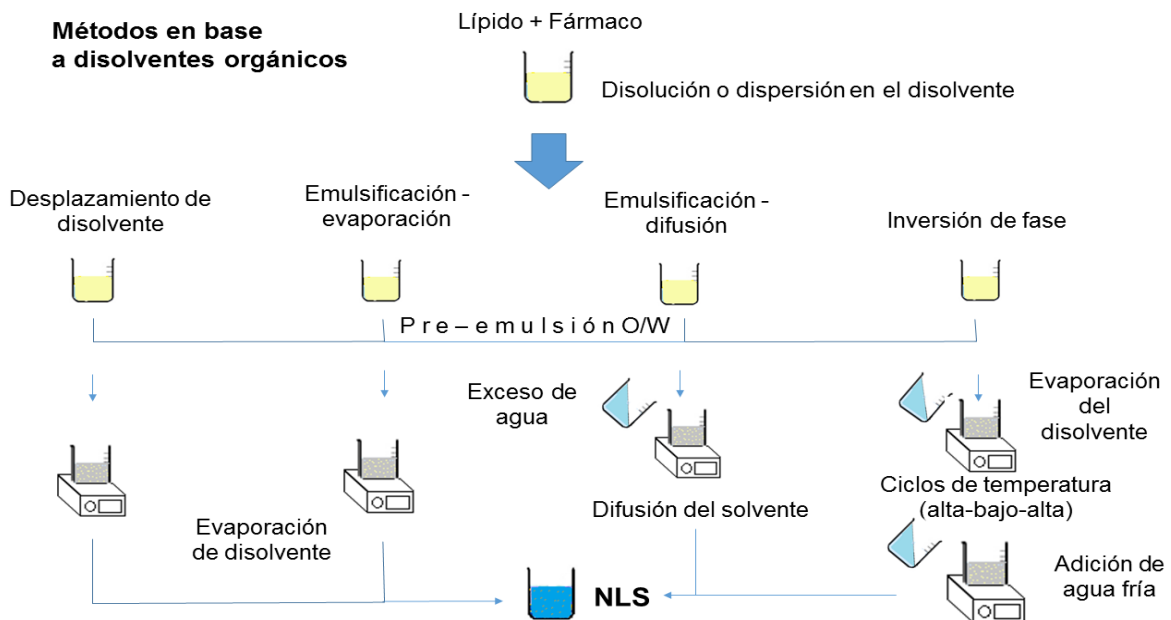


Figura 5. Métodos de preparación de NLS con el uso de disolventes orgánicos (Souto, Fangueiro, and Müller 2013).

2.2.3 Monoleato de glicerilo (monoleína)

En el presente proyecto se seleccionó el monoleato de glicerilo o monoleína como lípido modelo para preparar NLS. La monoleína es un lípido compuesto de una cadena hidrocarbonada unida a un grupo glicerol por un enlace éster. Los dos grupos hidroxilo del glicerol le confieren carácter hidrofílico a esta parte de la molécula (cabeza) como se observa en la figura 6, formando puentes de hidrógeno en soluciones acuosas. En contraste la cadena hidrocarbonada (cola) presenta un enlace doble cis en la posición 9 y 10, con carácter hidrofóbico. Dicho lo anterior, la monoleína tiene un carácter anfifílico con un HLB = 3.8 (Kulkarni et al. 2011).

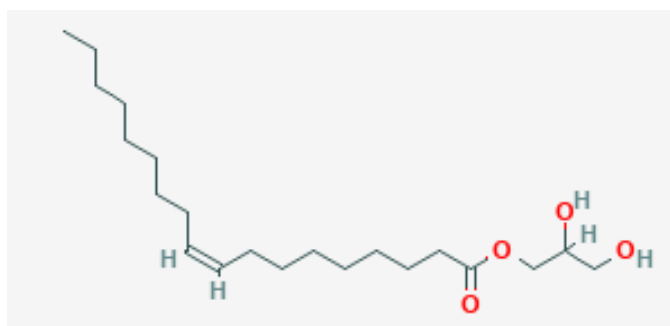


Figura 6. Estructura de la monoleína.

La monoleína es considerada un excipiente no tóxico, biodegradable y biocompatible, el cual se clasifica como un material GRAS , además está incluido en la guía de ingredientes inactivos de la Food and Drug Administration (FDA) (Tamayo-Esquivel 2005). Este lípido tiene diversas aplicaciones como: emulsificador, bioadhesivo y potenciador de absorción, además se ha aplicado en sistemas de liberación de fármacos por vía oral, parenteral, vaginal, periodontal, entre otros (Ganem-Quintanar, Quintanar-Guerrero, and Buri 2000).

Se han mencionado una gran cantidad de métodos para preparar nanopartículas poliméricas o lipídicas donde su clasificación depende de las condiciones de partida para su preparación, por ejemplo: a) número de pasos del proceso, algunos autores mencionan como primer paso la preparación de un sistema emulsificado y la formación de las nanopartículas como el segundo (Vauthier and Bouchemal 2009); b) tipo de material: proteínas, polisacáridos, polímeros (Rangasamy 2011); c) *Top Down* y *Bottom up* llamadas técnicas ascendentes y descendentes (Joye and McClements 2014), entre otras. Las metodologías antes mencionadas han producido una gran cantidad información que se ha plasmado en artículos y patentes con aplicación terapéutica, cosmética, alimenticia, etc. Numerosos agentes terapéuticos por ejemplo: Rapamune® (inmunosupresor), Emend® (quimioterapia), Doxil® (cáncer) (Bavna, Ali M., Baboota S. 2008) fueron formulados mediante alguna metodología descrita para preparar nanodispersiones biodegradables aprobadas por FDA. Esto nos motiva a continuar con la investigación de nuevas técnicas para preparar sistemas submicrónicos por medio de metodologías simplificadas y económicas, además que sean amigables con el medio ambiente y con la posibilidad de un escalamiento industrial.

2.3 Nanopartículas por técnicas de precipitación

La mayoría de los métodos requieren de equipos costosos y personal especializado. Hoy en día se buscan procesos simples y productivos, los cuales puedan encapsular activos de diferente naturaleza química, al mismo tiempo que sean robustos, versátiles y económicos. El método de nanoprecipitación (desplazamiento de disolvente) se ajusta a los requerimientos antes mencionados.

2.3.1. Desplazamiento de disolvente

Para este proyecto se utilizó el método de desplazamiento de disolvente el cual nos permitió la obtención de nanopartículas poliméricas y lipídicas. La figura 7

esquematiza el proceso de obtención de nanopartículas por este método. Involucra el uso de un disolvente orgánico que es completamente miscible con la fase acuosa. Esta técnica es una de las más utilizadas por su simplicidad; consiste en inyectar una solución orgánica formada por el o los principios activos y el o los polímeros en un disolvente polar, dentro de una solución acuosa que contiene el o los estabilizantes que se encuentran en agitación mecánica moderada y las nanopartículas se forman instantáneamente por una rápida difusión debido a las turbulencias interfaciales que se generan durante el mezclado (Quintanar-Guerrero, Allémann, et al. 1998). Después de la formación de las nanopartículas, el disolvente orgánico es removido a presión reducida. La aplicación de este método es para fármacos que son solubles en disolventes polares, pero ligeramente solubles en agua para evitar pérdida de fármaco durante la difusión del disolvente. Una de las limitantes de este método es el uso de bajas concentraciones de polímero en la fase orgánica, ya que al aumentar la concentración del polímero se forman agregados y se tienen bajos rendimientos.

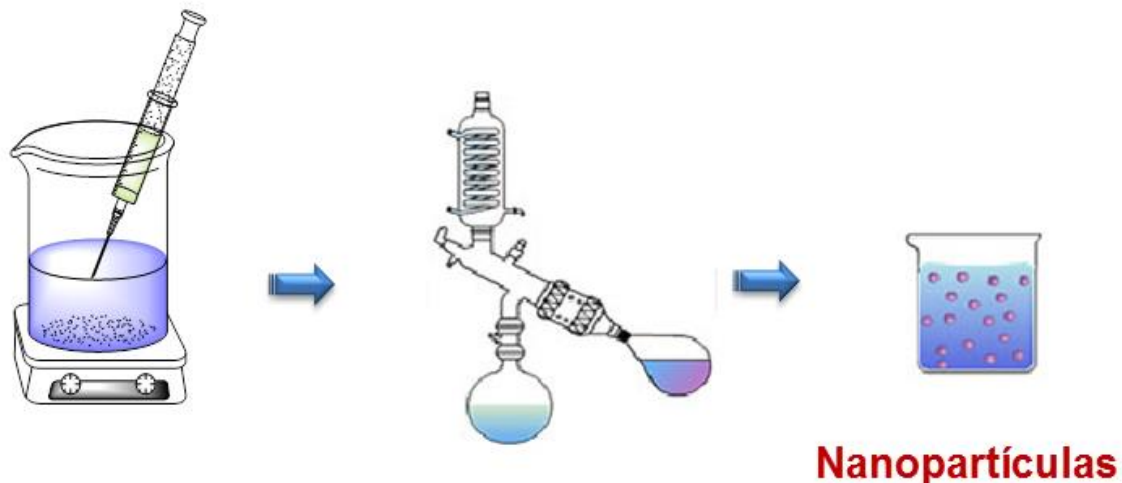


Figura 7. Representación esquemática del método de desplazamiento de disolvente para preparar nanopartículas poliméricas y lipídicas.

2.3.2. Mecanismo de formación

El mecanismo de formación de las nanopartículas por esta técnica ha sido explicado por la turbulencia interfacial generada durante el desplazamiento de disolvente como se muestra en la figura 8. La mutua miscibilidad entre disolventes provoca una violenta propagación del disolvente polar donde gotas de tamaño nanométrico son arrancadas de la interfase durante el proceso de difusión. Estas son rápidamente estabilizadas por el agente usado para este propósito, después de la difusión, se produce la agregación del polímero en pequeñas partículas de talla entre 100 –1000 nm (Piñón-Segundo et al. 2006).

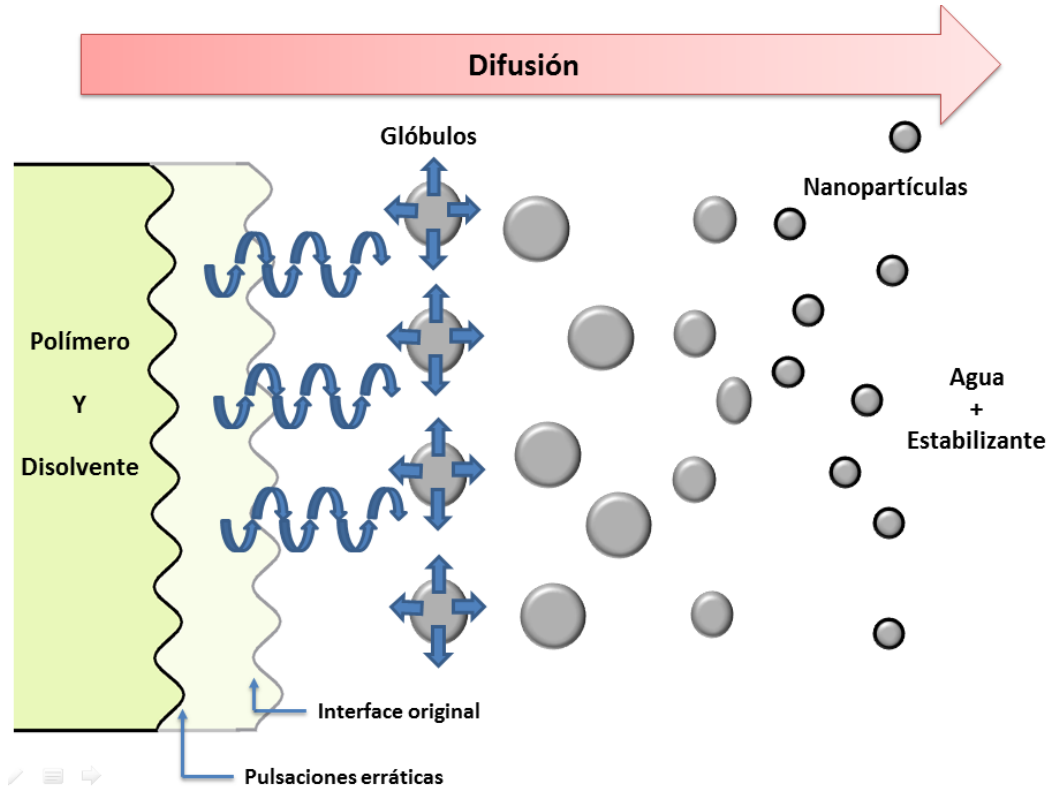


Figura 8. Mecanismo de formación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente.

Este método también se conoce con el término de nanoprecipitación; sin embargo, es importante señalar que de acuerdo con el mecanismo descrito, la formación de las nanopartículas es debida a la agregación del polímero desde las gotas de la emulsión y aparentemente no se involucran fenómenos de nucleación y crecimiento de cristal (Quintanar-Guerrero, Allémann, et al. 1998).

2.3.3. Aplicación de la técnica de desplazamiento de disolvente

La técnica de desplazamiento de disolvente o nanoprecipitación ha tenido varias modalidades. Desde la agitación mecánica, pasando por ultrasonificación y sistemas de recirculación, entre otros. Esta metodología no es particular para cierto material o dispositivo de mezclado. Debido a su versatilidad se ha ocupado una gran cantidad de polímeros, lípidos, disolventes y estabilizantes para encapsular diferentes activos de origen natural o sintéticos. Actualmente, se han encapsulado moléculas de origen natural por medio de nanopartículas para incrementar su estabilidad, y una gran cantidad de principios activos de origen sintético para ensayos en diferentes tratamientos clínicos (Martínez Rivas et al. 2017). El éxito de esta técnica se ha trasladado en áreas impensadas como la agricultura, por ejemplo: la encapsulación de fertilizantes y pesticidas (Boehm et al. 2003). Otros ejemplos son mostrados en la tabla 4.

Tabla 4. Ejemplos de nanopartículas obtenidos por desplazamiento de disolvente.

Material	Disolvente	Estabilizante	Activo	Tipo de mezclado	Referencia
Ácido esteárico, Ácido oleico	Acetona-etanol	LSS	Clobetasol	Agitación mecánica (400 rpm)	(Hu et al. 2002)
Eudragit®, PLA, PCL	Acetona	LSS	Ingrediente Agroquímico	Agitación mecánica	(Boehm et al. 2003)
Sofistan®s 100	Isopropanol, etanol y acetona	Polisorbato 80	NR	Barra magnética (330 rpm)	(Schubert and Muller-Goymann 2003)
PCL	Acetona	NR	Sudan III, Progesterona, Indometacina	Sistema de recirculación	(Piñón-Segundo et al. 2006)
Miglyol	2-propanol	Labrasol® y Tritón- X 100	Ibuprofeno	Ultrasonificación (3 min, 40 °C)	(Salunkhe et al. 2014)
PLGA	Dimetil sulfoxido	PVA	NR	Sistema de recirculación	(Rietscher et al. 2015)
Etil celulosa	Etanol	PVA, LSS	Ácido glicirricínico	Sistema de recirculación	(Urbán-Morlán et al. 2015)
PCL	Acetona	Span 60	Zanthoxylum rhoifolium	Agitación magnética	(Christofoli et al. 2015)

NR: no reportado; PLA: ácido poliláctico; PLGA: ácido poli(láctico-co-glicólico); PCL: poli-ε-caprolactona; PVA: Alcohol polivinílico; LSS: lauril sulfato de sodio

2.4 Tubo Venturi

La nanoprecipitación es una metodología que se puede realizar por agitación mecánica, homogeneización, ultrasonificación, etc. Estos equipos requieren de mantenimiento constante, personal especializado, alto consumo de energía

eléctrica, lo cual eleva su costo de operación. Esta técnica por su simplicidad puede ser implementada utilizando mezcladores estáticos como el Tubo Venturi, que, debido a su forma, puede realizar la operación unitaria de mezclado sin el uso de agitadores.

2.4.1 Principio de operación

El tubo Venturi fue creado por Giovanni Batista Venturi en 1797 con el propósito original de medir el gasto de fluido (cantidad de flujo por unidad de tiempo) a partir de un diferencial de presión en la entrada y el punto de mínima sección del tubo (McCabe, Smith, and Harriot 2007). El tubo Venturi está compuesto por una sección de entrada cónica que conduce a una sección de garganta y ésta a un largo cono de descarga. En el cono de corriente de entrada, la velocidad del fluido aumenta y disminuye su presión; en el cono de descarga la velocidad disminuye y la presión original se recupera (Baizabal González and Roa Arenas 2013). El tubo Venturi tiene un flujo laminar en la sección de entrada por su diámetro uniforme; cuando el fluido pasa a través del cono de entrada y garganta, se forma un flujo turbulento debido a que entra en contacto con límites sólidos por la reducción del cono de entrada (McCabe, Smith, and Harriot 2007). El mezclado en este dispositivo es por la formación de vórtices giratorios (Sundararaj and Selladurai 2013) los cuales crean un efecto de turbulencia.

2.4.2 Diseño del tubo Venturi

El tubo Venturi se puede construir de diferentes materiales ya sea en hierro colado, acero inoxidable, vidrio, polímeros, plástico, entre otros. Este debe cumplir con las especificaciones de la norma ASME MFC-3M-2004 (ASME 2005) y la ISO 5167-1 (ISO 2003). En la figura 9 se muestra un esquema general del dispositivo de mezclado Venturi.

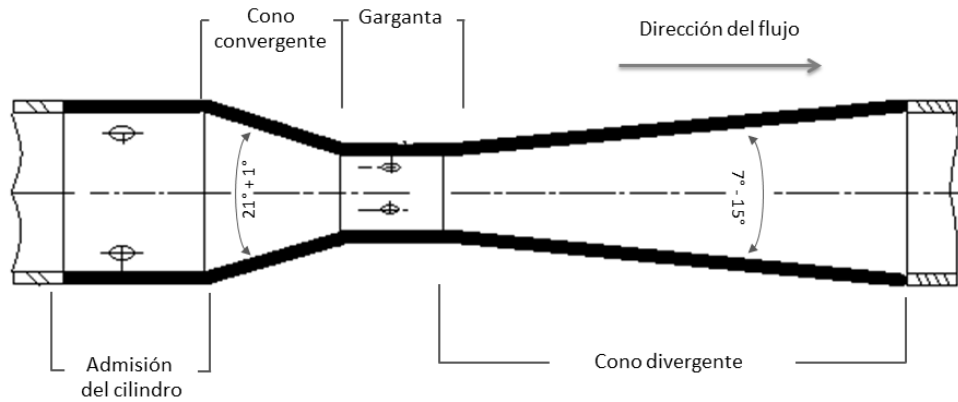


Figura 9. Tubo Venturi.

2.4.3 Aplicaciones del tubo Venturi

En 1924 Eric Haliburn modificó el tubo Venturi colocándole una boquilla en la garganta para obtener un mezclado rápido y continuo de dos o más fluidos, llamado mezclador de tubo Venturi, usado por primera vez para la lechada de cemento en pozos petroleros (Sundararaj and Selladurai 2010). Este dispositivo puede ser ocupado en lugar de mezcladores o agitadores con la ventaja de tener un mínimo mantenimiento debido a la ausencia de dispositivos dinámicos. Tiene una amplia aplicación en operaciones industriales como: homogenización, dispersión, emulsificación, mezclado liquido-gas, liquido-liquido, reacciones químicas, entre otras (Sundararaj and Selladurai 2008). En la tabla 5 se describen algunas de sus aplicaciones como sistema de mezclado o dispersión.

Tabla 5. Aplicaciones del tubo Venturi.

Aplicación	Área	Referencia
Mezcla de combustible y aire para ignición de motores de combustión interna	Mecánica	(Mocjk and Chandler 1933)
Mezcla de agua de riego con fertilizantes, insecticidas y biocidas para cultivos	Agrícola	(Collins and Willis 1970)
Purificación de agua por medio de Ozonificación	Ambiental	(Dadd 1980)
Eliminación de partículas contaminantes de los gases industriales antes de su liberación al medio ambiente	Ambiental	(Gonçalves et al. 2003)
Precursores de tamaño nanométrico para la producción de partículas de carbonato de calcio por CVD	Química	(Lashmore, Chafee, and Schurer 2008)
Desalinización del agua	Hidráulica	(Kazu Matsuura 2014)
Tratamiento de aguas residuales por medio de ozonificación	Ambiental	(Grande, Pezzin, and Rovero 2014)

2.5 Dinámica de fluidos

2.5.1. Tipo de fluidos

Un fluido puede circular a través de una tubería en dos formas: a) bajas velocidades de flujo, donde la caída de presión en el fluido se incrementa directamente con la velocidad del fluido; b) altas velocidades de flujo, donde hay aumento aproximadamente al cuadrado de la velocidad. Osborne Reynolds estudió estos dos tipos de flujo clasificándolos en flujo laminar y flujo turbulento (McCabe, Smith, and Harriot 2007).

2.5.1.1 Flujo laminar

Las partículas líquidas se mueven siguiendo una trayectoria uniforme, organizadas por capas concéntricas adyacentes, deslizándose unas sobre otras, pero sin mezclarse. El régimen laminar ocurre en la parte final de tuberías donde la velocidad es mínima, como en tubos de mando hidráulico o microtubos de riego (Garcia Prats and Cobacho Jordan 2012).

2.5.1.2 Flujo turbulento

Las partículas líquidas se mueven siguiendo una trayectoria errática formando turbulencias y torbellinos. Las capas ya no son paralelas, deslizándose unas sobre otras, sino que se mezclan por completo (Garcia Prats and Cobacho Jordan 2012).

2.5.2 Número de Reynolds (Re)

Reynolds estudió las condiciones bajo las cuales un tipo de fluido cambia a otro y encontró que la velocidad crítica, al cual el flujo laminar cambia a flujo turbulento depende de cuatro variables expresadas en la ecuación 1 (McCabe, Smith, and Harriot 2007).

$$Re = \frac{DV\rho}{\mu} = \frac{DV}{\nu} \dots\dots\dots\text{Ecuación 1}$$

Donde

D= diámetro del tubo

V= velocidad promedio del fluido o líquido

μ = viscosidad del fluido o líquido

ρ = densidad del fluido o líquido

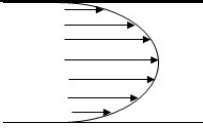
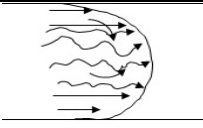
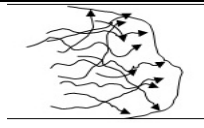
ν = viscosidad cinemática del fluido

El Re es un parámetro adimensional, el cual relaciona las fuerzas de inercia y las fuerzas de viscosidad (esfuerzos cortantes, tangenciales o simplemente de rozamiento) en el interior de una corriente.

$$Re = \frac{\text{fuerzas de inercia}}{\text{fuerzas de viscosidad}} = \frac{\text{propiedades del flujo y fluido}}{\text{propiedades del fluido}}$$

Además, se utiliza para clasificar el régimen de una corriente líquida de acuerdo con los siguientes valores mostrados en la figura 10.

Figura 10. Tipos de flujos en un tubo circular.

Tipo de flujo	Laminar	Transición	Turbulento
Valor de Re	Menor de 2000	Entre 2000 – 4000	Mayor 4000
			

Reynolds observó que a pequeñas velocidades ($Re < 2000$) había una pérdida de carga debido al frotamiento influida por las fuerzas viscosas del fluido, en cambio a velocidades elevadas ($Re > 4000$) la influencia es por las fuerzas de inercia dependiendo del grado de turbulencia del flujo, también llamándose turbulencia o circulación irregular del fluido.

2.6 Reacciones de saponificación

Las emulsiones son una mezcla de dos líquidos inmiscibles, donde un líquido (fase discontinua o dispersa) es dispersado en otro líquido (fase continua o dispersante) en forma de gotitas pequeñas. Las emulsiones generalmente están compuestas de lípido, agua y emulsificador. Al combinarse crean pequeños glóbulos que son

estabilizados por la adsorción de un surfactante en la interfase. Otra forma de estabilizar las emulsiones es la creación de surfactantes *in situ* como en las reacciones de saponificación.

La saponificación (hidrolisis básica de un éster), de forma general, es una reacción que involucra un éster de cadena larga en presencia de una base o álcali fuertes, como ejemplo los hidróxidos de los cuales se obtiene el correspondiente alcohol y sales de ácidos orgánicos (jabón). La característica principal de esta reacción es la producción de sales de sodio o potasio de los ácidos grasos (jabones). Estos tienen la particularidad de ser anfipáticos, con una parte polar que tiene un grupo carboxilato con carga negativa, el cual es muy hidrofílico y otra apolar que es una cadena larga de hidrocarburo, que es muy hidrofóbico (Wade 1993). El jabón o estearato de sodio o potasio dependiendo del tipo de hidróxido utilizado, presenta propiedades de un estabilizante o tensoactivo. La reacción se muestra en la figura 11.



Figura 11. Reacción de saponificación.

La producción de las emulsiones a gran escala requiere mezclado por largos tiempos generando altos costos en energía y tiempo. Otra forma de llevar a cabo un proceso de mezclado es mediante mezcladores estáticos como el tubo Venturi. Este dispositivo puede mezclar dos o más fluidos sin algún equipo adicional. Por lo tanto,

se puede tener un proceso a bajo costo con un menor consumo energético. Lo anterior nos abre un área de oportunidad para la preparación de emulsiones con el tubo Venturi, mediante la inyección de una fase oleosa que contiene el lípido a una fase acuosa donde se encuentra el álcali.

Generalmente, la reacción de saponificación se lleva a cabo en caliente de 75 a 80 °C, para la fusión de los lípidos, implicando un consumo energético muy alto, una alternativa es la preparación de emulsiones en frío. Para conseguir lo anterior se propone utilizar disolventes permitidos como: metanol, acetato de etilo, metil etil cetona para la disolución del lípido, grasa o cera y su posterior inclusión al álcali. De la propuesta anterior se pretende obtener las siguientes ventajas: a) ahorro energético, ya que se eliminan las fases de calentamiento, b) económico, debido a una disminución del gasto de energía, y c) proceso simplificado y corto, donde se excluyen largos tiempos de calentamiento y enfriamiento (Fitó 2012).

Como parte del proyecto de investigación se prepararon emulsiones mediante la reacción de saponificación con ácido esteárico como lípido modelo debido a que son inertes químicamente, pero en presencia de bases fuertes reaccionan para obtener jabones. Este lípido es barato y biocompatible, además de ser utilizado en la encapsulación y liberación de diferentes fármacos, así como en formulaciones cosméticas (Heryanto et al. 2007). Para la preparación de las emulsiones se utilizaron diferentes tipos de bases o álcalis como: el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH) y la trietanolamina (TEA). Después de obtenidas las emulsiones estas fueron caracterizadas.

Ya se han reportado satisfactoriamente emulsiones por medio de saponificación utilizando disolventes orgánicos, por ejemplo: el keroseno y el o-diclorobenceno fueron emulsificados en agua con TEA y ácido oleico para la obtención de ceras

(abrillantadores), limpiadores metálicos (Wilson 1930) e insecticidas (Hockenyous 1929).

Investigaciones previas han reportado la preparación de emulsiones y dispersiones del tipo farmacéutico y cosmético por medio de diferentes mezcladores estáticos, pero ninguno con el tubo Venturi (Thakur et al., 2003, Ghanem et al., 2014). Esto nos da la posibilidad de incluir al tubo Venturi como un dispositivo de mezclado para preparar emulsiones.

2.7 Diseño de experimentos

En áreas de investigación y desarrollo de la industria o centros de investigación a menudo deben encontrar la respuesta a preguntas como: ¿Cuál y que tipo de experimento desarrollar?, ¿Que datos recopilar y como interpretarlos?, ¿Qué tipos de software utilizar?, entre otras. Para responder a estos cuestionamientos, los diseños de experimentos (DOE) son una opción en comparación con los métodos de ensayo y error (estudió de los factores uno a uno), algunas de sus ventajas se observan en la tabla 6 (Atenco- Castro 1998, Gutierrez and de laVara 2012).

Tabla 6. Ventajas de los diseños de experimentos.

Experimentación uno a uno	Diseño de experimentos
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se requiere una gran cantidad de pruebas ✓ No es posible estudiar la interacción entre los factores ✓ Se eleva el costo y tiempo de los experimentos, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Menor cantidad de pruebas ✓ Se conoce la interacción entre factores ✓ Menos costos y tiempo al disminuir el número de pruebas ✓ Permite conocer los factores clave que afectan la calidad del proceso o producto ✓ Información estadística para mejorar y optimizar procesos. ✓ Permite la ejecución por etapas, etc.

Mediante los DOE se pueden planear y realizar un conjunto de pruebas con el objetivo de generar datos que al ser analizados estadísticamente, proporcionan una evidencia objetiva que permiten responder las interrogantes planteadas por el experimentador sobre determinada problemática (Gutierrez and de laVara 2012).

Cuando se desarrolla un diseño experimental, se busca las mejores condiciones de trabajo y la minimización de fuentes externas que lo afecten. Los DOE son una herramienta que auxilian al desarrollo y optimización de experimentos para que este sea robusto y consistente. Para llevar a cabo un correcto diseño experimental, algunos autores recomiendan las siguientes directrices:

2.7.1 Directrices para el diseño de experimentos

1. *Planteamiento del problema.* Es necesario tener una idea clara acerca del problema en mano, asimismo del objetivo del estudio el cual debe ser identificado y especificado. Se puede plantear en un diagrama de flujo para tener una mejor visión o perspectiva de la problemática a resolver (Montgomery 2004).
2. *Selección de las variables de respuestas.* Es la medición derivada de un proceso o un método de análisis con las características del producto, por ejemplo: pH, viscosidad, dureza, etc. Al elegir una variable de respuesta esta debe dar información necesaria del proceso, además de medirse de manera confiable.
3. *Selección de los factores y sus niveles.* Un factor influye en la respuesta del proceso afectando al resultado obtenido en el experimento. El o los factores se pueden determinar por medio de un diagrama de Ishikawa o por una lluvia de ideas para determinar las causas del problema. Los niveles son los valores que toma un factor. Su intervalo es muy amplio, además son elegidos en base a información en la literatura o conocimientos previos (Atenco- Castro 1998).

4. *Análisis de factibilidad.* Antes de realizar y elegir el diseño experimental, se debe de considerar los recursos humanos e instalaciones y equipos, materiales, analistas, etc. Además, debemos de tomar en cuenta los costos de operación y tiempos, para saber si tenemos las condiciones para ejecutar el (los) diseños experimentales propuestos.
5. *Selección de un diseño experimental.* Debemos considerar los siguientes puntos: a) tipo de problema, b) número de factores e interacciones a ser estudiadas, c) validez estadística y efectividad de cada diseño, d) facilidades de implementación y e) costos de operación.
6. *Ejecución del diseño de experimentos y análisis de datos.* Ejecutar el experimento de acuerdo con el protocolo planeado. Para el análisis de los datos se debe integrar los resultados requeridos del experimento en una matriz de un software. Los datos obtenidos son del tipo muestral más no poblacional, por lo tanto, se utilizan métodos estadísticos inferenciales para ver las diferencias y efectos que se tienen por muestra. Por medio de ANOVAs, gráficas de superficie respuesta y diagramas de Pareto podemos identificar los factores que influyen de manera significativa sobre las respuestas.
7. *Conclusiones y recomendaciones.* Una vez analizados los datos, el experimentador debe concluir sobre los resultados. Además, se pueden realizar corridas de seguimiento y pruebas de confirmación para validar las conclusiones del experimento (Polvo Rodriguez 2014).

Los diseños de experimentos son una herramienta para identificar los factores que afectan la calidad del producto derivado de un proceso de fabricación. Para mejorar su calidad es necesario encontrar las condiciones óptimas mediante la optimización de un desarrollo experimental, las siguientes etapas pueden ser consideradas.

2.7.2 Etapa de barrido o escrutinio

Se estudia una gran cantidad de factores para identificar los críticos (efectos sobre las variables de respuesta). Esta etapa nos proporciona información acerca de cuáles factores debe controlarse durante el proceso a fin de evitar productos con mala calidad y comportamientos erráticos del proceso (Vera Candiotti et al. 2014).

Para esta etapa se tienen diseños factoriales completos, fraccionados y Plackett-Burman, todo ellos con dos niveles por cada factor (k). Estos tipos de diseños son los más usados en la selección de factores debido a que son económicos y eficientes, además de evaluar una gran cantidad de factores en una pequeña cantidad de experimentos.

2.7.3 Etapa de optimización

La metodología de superficie-respuesta (RSM) es una estrategia experimental y de análisis que permite encontrar las condiciones óptimas de operación de un proceso, en otras palabras son los resultados esperados de una o varias características de la calidad de un producto (Gutierrez and de laVara 2012).

Los diseños factoriales usados para la etapa de optimización, son factoriales completos con tres niveles, por ejemplo: Diseño Compuesto Central, Box-Behnken entre otros. Todos estos diseños de optimización permiten obtener datos experimentales los cuales son ajustados a un modelo polinomial de regresión múltiple lineal con el propósito de caracterizar la superficie de respuesta. En la figura 12 planteamos una metodología para llevar a cabo la optimización de un proceso farmacéutico, el cual no es exclusivo de este, pudiéndose aplicar al área de alimentos, veterinaria, cosmética, entre otras.

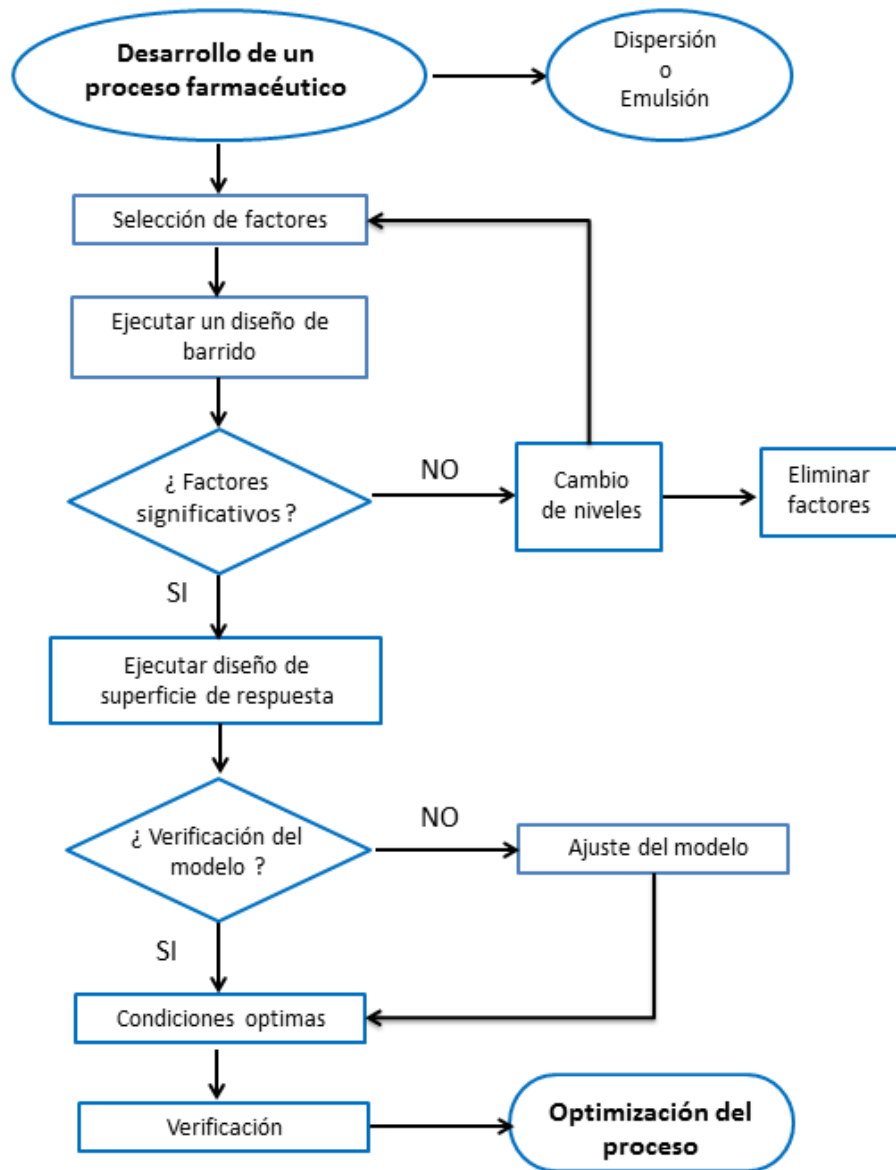


Figura 12. Optimización de un proceso farmacéutico con diseños de experimentos.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que se tiene la necesidad de nuevas metodologías para preparar nanodispersiones y emulsiones de fácil proceso y bajo costo, esto nos motiva a buscar nuevas áreas de oportunidad para proponer metodologías con dispositivos de mezclado de fácil implementación.

En nuestro proyecto proponemos preparar nanodispersiones por desplazamiento de disolvente en un sistema de recirculación utilizando el Tubo Venturi, y así formar nanopartículas poliméricas y lipídicas con la finalidad de obtener una mayor eficiencia de proceso.

Además, se pretende preparar emulsiones cosméticas por medio de reacciones de saponificación sin la necesidad del calentamiento de ambas fases, con la finalidad de ahorrar tiempo y energía en la preparación, haciendo un proceso más simple y económico.

Nuestra propuesta representa una considerable ventaja tecnológica para el desarrollo de metodologías sin el uso de agitación mecánica y temperatura, con el fin de evitar tiempos prolongados de calentamiento, degradación de principios activos; disminuyendo costos en mantenimiento, espacios requeridos y gasto de consumo de energía en comparación con metodologías convencionales.

4. HIPÓTESIS

Si es posible aprovechar la turbulencia generada en la garganta del tubo Venturi para dispersar dos disolventes, entonces será factible preparar nanodispersiones y emulsiones de manera eficiente, continúa y con susceptibilidad al escalamiento industrial.

Si es posible controlar la turbulencia generada en el tubo Venturi mediante la velocidad de recirculación, entonces podemos obtener nanopartículas con un tamaño de partícula y eficiencia de proceso deseado.

Si el lípido de una fase oleosa de una emulsión se mantiene soluble a temperatura ambiente, entonces se podrá inyectar y mezclarse con el álcali en constante recirculación para formar emulsiones por medio del tubo Venturi.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Desarrollar un sistema de recirculación que involucre el uso del tubo Venturi para preparar nanodispersiones y emulsiones de forma continua, caracterizar las dispersiones obtenidas y compararlas con metodologías convencionales determinando sus ventajas y desventajas tecnológicas.

5.2 Objetivos particulares

1. Desarrollar un sistema de recirculación para la preparación de nanodispersiones y emulsiones por medio de la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando el tubo Venturi.
2. Preparar nanopartículas poliméricas de poli- ϵ -caprolactona y lipídicas de monoleína como modelo (sin fármaco) por la técnica de desplazamiento de disolvente para compararlas con la metodología del tubo Venturi.
3. Comprobar la formación de nanopartículas en la metodología del tubo Venturi por medio de un flujo laminar o turbulento para obtener nanodispersiones con tamaño nanométrico y altas eficiencia de proceso.
4. Preparar nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona y monoleína utilizando la metodología del tubo Venturi de acuerdo con un diseño de experimentos para determinar qué factores experimentales afectan las variables de respuesta.

5. Caracterizar y comparar las nanopartículas poliméricas y lipídicas por medio de su talla promedio, índice de polidispersidad, potencial zeta y eficiencia de proceso para determinar sus ventajas y desventajas tecnológicas.
6. Preparar emulsiones cosméticas a temperatura ambiente por reacciones de saponificación con el uso de disolventes orgánicos mediante el método de inyección-agitación y tubo Venturi.
7. Caracterizar y comparar las emulsiones del método inyección-agitación y tubo Venturi por medio de su estabilidad, pH, viscosidad, tamaño de glóbulo para determinar sus ventajas y desventajas tecnológicas.
8. Verificar la versatilidad de la metodología del tubo Venturi para preparar nanopartículas con diferentes polímeros, lípidos y estabilizantes para verificar su multifuncionalidad.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diagrama de flujo experimental

La metodología de trabajo se dividió en dos etapas (ver figura 13).

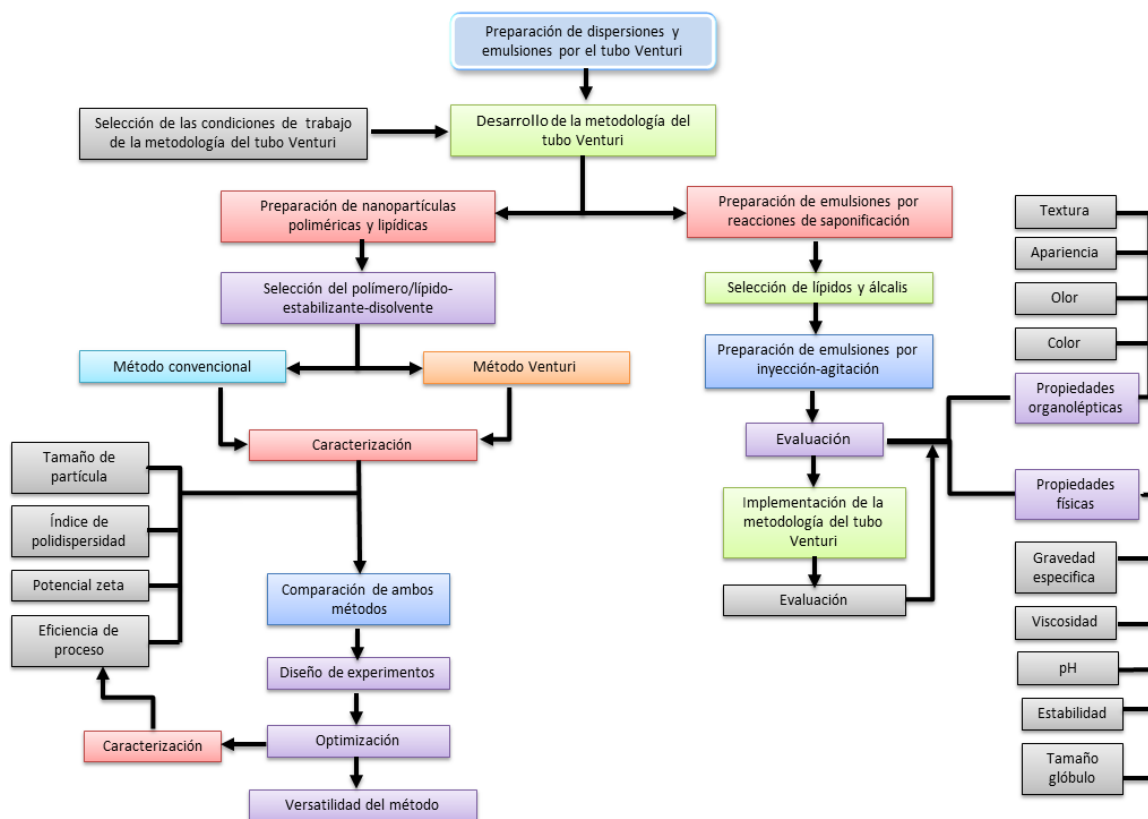


Figura 13. Diagrama general de las etapas del proyecto de investigación.

1. Preparación de nanopartículas poliméricas y lipídicas por tubo Venturi y su comparación contra el método convencional de desplazamiento de disolvente.
2. Preparación de emulsiones por reacción de saponificación utilizando la metodología inyección-agitación para su posterior implementación en el tubo Venturi.

PREPARACION DE NANOPARTÍCULAS POR DESPLAZAMIENTO DE DISOLVENTE Y TUBO VENTURI

6.2 Preparación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente (método convencional)

Las nanopartículas se prepararon de acuerdo con la metodología propuesta por Fessi, 1989. La figura 14 muestra las etapas generales de la obtención de nanopartículas.

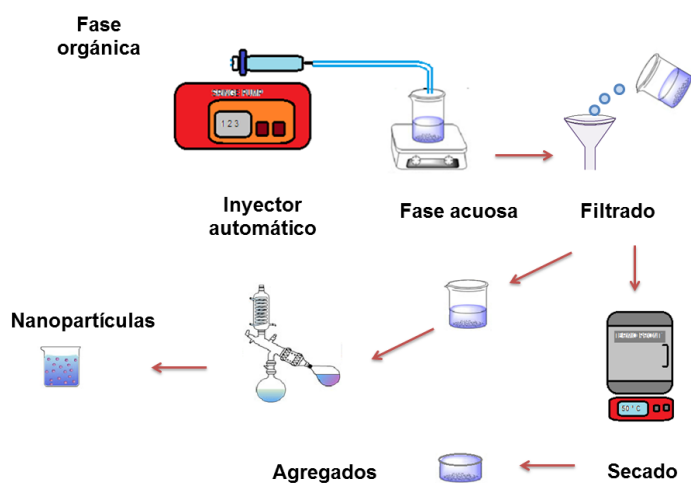


Figura 14. Preparación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente.

Brevemente, se tiene una fase acuosa que contiene el alcohol polivinílico (PVA) como estabilizante al 1.0 % p/v. Por otra parte, una fase orgánica compuesta de polímeros o lípidos (poli- ϵ -caprolactona o monoleína al 2.0 % p/v) en el disolvente (acetona). Se colocaron 100 mL de PVA en un vaso de precipitado en constante agitación magnética (500 rpm), posteriormente se inyectó la fase orgánica a una velocidad de 2 mL/min. Se obtuvo una dispersión que se pasa a través de un papel filtro (Whatman® grado 4 Chr) para obtener los agregados que son llevados a peso

constante. A la dispersión obtenida se le elimina el disolvente orgánico con rotavapor a 30 rpm y 40 °C (Laborata 4000, Heidolph EUA) a continuación, se almacena a temperatura ambiente y se le realizan pruebas de caracterización: tamaño de partícula (TP), índice de polidispersidad (IPD) y eficiencia de proceso (EP).

6.3 Preparación de nanopartículas por tubo Venturi

De la misma forma que el método convencional, el sistema del tubo Venturi cuenta con dos fases: orgánica y acuosa. La figura 15 muestra el sistema de preparación de nanopartículas usando el tubo Venturi. La fase orgánica contiene el polímero o lípido (poli-ε-caprolactona/monoleína al 2.0 % p/v) en un disolvente orgánico (acetona) y la fase acuosa cuenta con el estabilizante (PVA 1.0 % p/v).

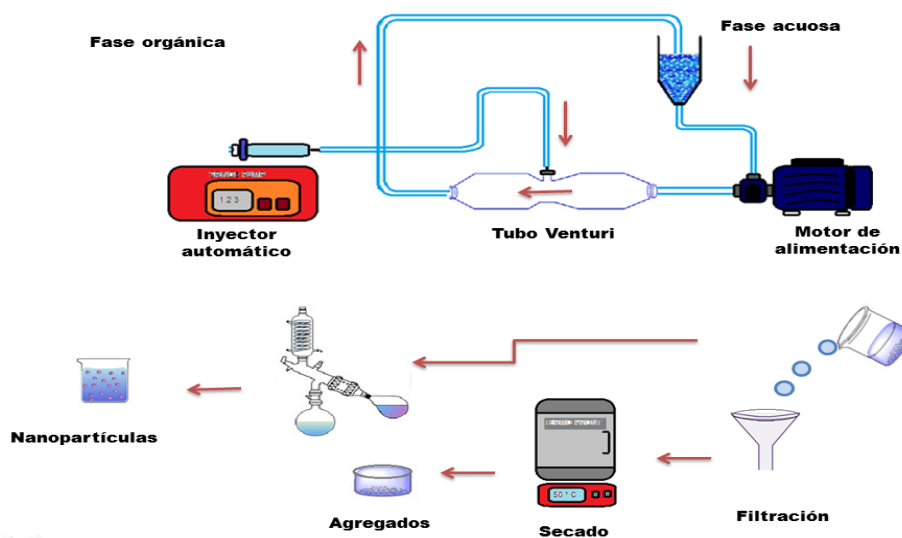


Figura 15. Preparación de nanopartículas con el tubo Venturi.

La fase acuosa se coloca en el depósito y se recircula a través del sistema por medio de una bomba de alimentación (Brushless VOVYO Technology Co, LTD China), pasando a través del tubo Venturi y regresando nuevamente al depósito. La fase

orgánica es inyectada en la garganta del tubo Venturi la cual difunde rápidamente gracias al flujo generado.

Posteriormente, la dispersión se pasa a través de un papel filtro para separar los agregados, los cuales son llevados a peso constante. A la dispersión obtenida se le elimina el disolvente con rotavapor a 30 rpm y 40 °C. La dispersión obtenida se caracteriza por dispersión dinámica de luz para medir el TP e IPD, además de calcular la EP.

Previamente se realizaron ensayos preliminares para preparar nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona y monoleína por medio de un diseño de experimentos de cribado para saber qué factores: velocidad de inyección y recirculación, concentración del polímero/lípido y estabilizante, tipo de aguja, tenían impacto sobre las variables de respuesta: TP, IPD y EP. Con el fin de determinar qué factores y niveles se deben utilizar para optimizar el proceso de preparación de nanopartículas poliméricas y lipídicas por el tubo Venturi.

6.3.1 Diseño experimental para preparar nanopartículas poliméricas de poli- ϵ -caprolactona por el tubo Venturi

De acuerdo a los ensayos preliminares, se determinó que factores tienen influencia sobre las variables de respuesta, estableciendo la evaluación de los siguientes tres factores: X1, (concentración de PVA), X2, (concentración de polímero) y X3 (velocidad de recirculación) sobre las variables de respuesta: EP, TP, IPD mediante un diseño compuesto central (DCC), con el fin de determinar el efecto de los factores y sus combinaciones sobre las variables de respuesta y crear un modelo que correlacione las variables entre sí. En la tabla 7 se muestran las variables independientes codificadas y sin codificar utilizadas en el diseño experimental. Para este estudio se realizaron 20 experimentos de forma aleatoria con la finalidad de disminuir la variabilidad de los resultados por efectos externos.

Tabla 7. Variables independientes sin codificar del DCC para la preparación de nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona por el tubo Venturi.

Variables codificadas	Variables sin codificar	Niveles				
		-1.68	-1	0	1	1.68
X ₁	Concentración del polímero % (p/v)	0.63	2.0	4.0	6.0	7.36
X ₂	Velocidad de recirculación (L/m)	2.14	3.5	5.5	7.5	8.86
X ₃	Concentración del estabilizante (p/v)	0.32	1	2	3	3.68

6.3.2 Diseño experimental para nanopartículas lipídicas de monoleína por el tubo Venturi

Se determinó que los siguientes factores tenían una influencia sobre la metodología del tubo Venturi en la preparación de nanopartículas lipídicas mediante un diseño de cribado: velocidad de inyección, velocidad de recirculación y concentración del estabilizante sobre las variables independientes: TP, IPD, EP y potencial zeta (PZ). Los factores identificados se utilizaron en la metodología de superficie respuesta (MSR) mediante un diseño Box-Behnken que permite evaluar el efecto de los factores sobre las variables de respuesta (ver tabla 8), además de optimizar el proceso. Para este estudio se realizaron 18 experimentos en forma aleatoria.

Tabla 8. Variables independientes sin codificar del diseño Box-Behnken para preparar nanopartículas de monoleína con el tubo Venturi.

Variables codificadas	Variables sin codificar	Niveles		
		-1	0	+1
X ₁	Velocidad de inyección (mL/min)	1.0	2.0	3.0
X ₂	Velocidad de recirculación (L/m)	3.0	5.0	7.0
X ₃	Concentración del estabilizante (p/v)	1.0	2.0	3.0

6.4 Caracterización

Entre los parámetros más importantes a considerar en la preparación de los sistemas coloidales se encuentran el TP, IPD, PZ y EP. A continuación, se describe la metodología seguida en la realización de estas pruebas.

6.4.1 Tamaño de partícula e índice de polidispersidad

Se determinó la talla de partícula promedio y el IPD con un contador Nanosizer® N4 Plus (Beckman). Este equipo utiliza la técnica de espectroscopía de correlación fotónica, la cual determina el TP midiendo la velocidad de las fluctuaciones de las partículas dispersadas por la incidencia de un láser. La longitud de onda fue de 678 nm, empleando como fuente un láser de He/Ne a un ángulo de 90°, por 180 s, a una temperatura de 25 °C. Las determinaciones se hicieron por triplicado preparando diluciones de una suspensión acuosa de nanopartículas.

6.4.2 Potencial zeta

El PZ se determinó mediante dispersión de luz electroforética, empleando un equipo Zetasizer (Coulter® Nanosizer N4 Plus, EUA). El PZ es determinado por la movilidad electroforética mediante la aplicación de la ecuación de Henry. La movilidad electroforética es obtenida por el grado de repulsión entre las partículas mediante velocimetría de láser doppler. Las determinaciones se hicieron por triplicado preparando diluciones de una suspensión acuosa de nanopartículas.

6.4.3 Eficiencia de proceso

Las dispersiones fueron filtradas sobre un papel filtro, después fueron secadas a peso constante. Los residuos obtenidos son el lípido o polímero que no se transformaron en nanopartículas. La eficiencia fue expresada como el porcentaje

del polímero o lípido total en la solución orgánica, menos la masa de los residuos, como se muestra la ecuación 2.

$$\% EP = \frac{MPol - MRe}{MPol} \times 100 \dots \text{Ecuación 2}$$

MRe: Masa de residuos (polímero o lípido no transformado en nanopartículas)

MPol: Masa del polímero o lípido en la solución orgánica

6.5 Número de Reynolds

El Re se midió en dos puntos del tubo Venturi: a) admisión del cilindro y b) garganta, determinando con ello el tipo de flujo del sistema. Ver figura 16.

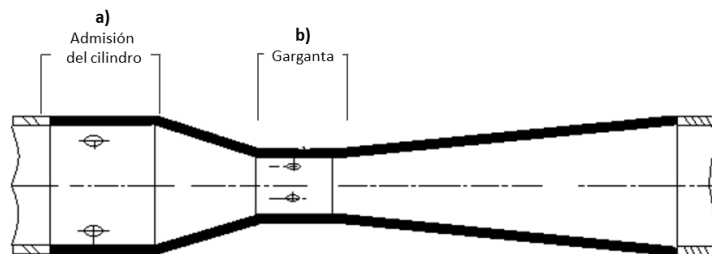


Figura 16. Puntos de medición del número de Re en el tubo Venturi.

El Re se midió de la siguiente manera (ver ecuación 3).

$$Re = \frac{DV\rho}{\mu} = \frac{DV}{\nu} \dots \text{Ecuación 3}$$

Donde

D= diámetro del tubo

V= Q/A= caudal/área

ν = viscosidad cinemática del fluido

Donde, D es el diámetro inicial de la admisión del cilindro y garganta del tubo Venturi (m) y V es la relación de Q/A ($m \cdot s^{-1}$), siendo Q la velocidad de recirculación y A es el área del diámetro inicial de la admisión y garganta del tubo Venturi, y ν es la viscosidad cinemática ($m^2 \cdot s^{-1}$).

La viscosidad cinemática de la fase acuosa fue determinada utilizando un viscosímetro de brazos cruzados Zeítfuchs (S3- E859, CANNON), ya que esta fase es la que recircula por todo el sistema y pasa a través de la garganta del tubo Venturi, donde se lleva a cabo la formación de las nanopartículas. La medición de la densidad se realizó con un picnómetro metálico (GARDCO®, Gardner Co., INC.).

6.6 Análisis estadísticos de los resultados

Mediante el software STATGRAPHICS® XVI se obtuvo un análisis de varianza (ANOVA) para estimar los coeficientes de regresión y evaluar la significancia estadística de los términos del modelo matemático que describe el comportamiento de los datos experimentales y la región óptima para las variables de respuesta. El comportamiento de la superficie de respuesta se estableció en función de las variables de respuesta estudiadas (Y_i), empleando un modelo polinomial de segundo orden descrito por la ecuación 4:

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3 + \xi_j \dots \textbf{Ecuación 4}$$

donde, Y_i representa la respuesta predicha; β_0 es la ordenada al origen; β_1 , β_2 y β_3 son los coeficientes de regresión para los términos lineales; β_{11} , β_{22} y β_{33} son los coeficientes para los términos cuadráticos de la ecuación; β_{12} , β_{13} y β_{23} son los efectos de las interacciones, ξ_j es el término del error experimental con N (0.05). Los efectos de los parámetros de la ecuación fueron evaluados con un nivel de significancia del 5 %.

6.7 Optimización de la metodología del tubo Venturi

La estimación de las condiciones óptimas para la preparación de las nanopartículas por medio del tubo Venturi se llevó a cabo utilizando el software estadístico mediante un índice de deseabilidad (D) mayor al 85.0%, considerando las respuestas más importantes: EP y TP, seguida del IPD y PZ.

6.8 Repetitividad de lote a lote y versatilidad del método

Una vez obtenidas las condiciones óptimas de preparación de nanopartículas por el tubo Venturi y con el fin de corroborar la versatilidad del modelo en la preparación de nanopartículas poliméricas y lipídicas, se utilizaron los siguientes materiales (ver tabla 9).

Tabla 9. Materiales utilizados para garantizar la versatilidad de la metodología del tubo Venturi.

Polímeros	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Poliláctico-co-glicólico ✓ Acetato-ftalato de celulosa
Lípidos	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ácido esteárico ➤ Monoestearato de glicerilo
Estabilizantes	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Poloxámero 188 ❖ Tween® 80

PREPARACION DE EMULSIONES POR LA REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN

6.9 Preparación de emulsiones por el método de inyección-agitación utilizando disolventes orgánicos

Se eligieron los siguientes disolventes metanol, metil etil cetona y acetato de etilo para solubilizar el ácido esteárico de la formulación (ver tabla 10). En un contenedor auxiliar se tiene la fase lipídica que contiene el ácido esteárico y disolvente orgánico que son calentados a una temperatura de 45 °C, para la completa disolución del lípido, posteriormente se adiciona el aceite mineral y se mantienen a la temperatura antes mencionada. En un contenedor principal se tiene la TEA que está en disolución en agua y es calentada a 45 °C. Cuando ambos contenedores están a la misma temperatura, se inyecta la solución oleosa a 2 mL/min al contenedor principal, que está en constante agitación con una propela a 500 rpm, evitando la entrada de aire. Después de inyectar se continúa agitando hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Tabla 10. Formulación de una emulsión por el método de inyección-agitación.

Ingrediente	Cantidad (% p/p)
Ácido esteárico	5.0
Aceite mineral	10.0
Disolvente orgánico	10.0
TEA	0.7
Agua	74.3

6.10 Preparación de emulsiones por el tubo Venturi

De acuerdo con los resultados obtenidos por la metodología inyección-agitación, se eligió al acetato de etilo para disolver el ácido esteárico y preparar una emulsión cosmética (ver tabla 11). En un contenedor auxiliar se disuelve la fase oleosa (ácido esteárico, alcohol cetílico, lanolina, aceite mineral y propil parabeno) en acetato de etilo a 45 °C. En un contenedor principal se tiene la fase acuosa (TEA, glicerina y metilparabeno) en agua a 45 °C. La fase oleosa es inyectada a una velocidad de 2 mL/min en la garganta del tubo Venturi, la cual contiene la fase acuosa en constante recirculación a 4 L/min. Al terminar de inyectar se continúa agitando hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Tabla 11. Formulación de una emulsión cosmética por el método de tubo Venturi.

Ingrediente	Cantidad (% p/p)
Ácido esteárico	2.5
Aceite mineral	10.0
Alcohol cetílico	0.7
Lanolina	0.6
TEA	0.7
Glicerina	0.6
Propilparabeno	0.1
Metilparabeno	0.1
Acetato de etilo	5.0
Agua	84.5

6.11 Caracterización de emulsiones

Después de preparar las emulsiones se llevó a cabo su evaluación de acuerdo con las pruebas resumidas en la tabla 12.

Tabla 12. Caracterización de las emulsiones.

Propiedades organolépticas	Propiedades físicas
1. Color	1. Gravedad específica
2. Olor	2. Viscosidad
3. Apariencia	3. Pruebas de estabilidad
4. Textura	4. Tamaño de glóbulo
	5. pH

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PREPARACION DE NANOPARTÍCULAS POR DESPLAZAMIENTO DE DISOLVENTE Y TUBO VENTURI

La primera etapa de este trabajo de investigación se dirigió hacia el diseño y construcción del tubo Venturi, posteriormente, al desarrollo e implementación de la metodología por el tubo Venturi. Se prepararon nanopartículas por desplazamiento de disolvente y tubo Venturi para su posterior caracterización y análisis, comparando ambas metodologías para determinar sus ventajas y desventajas.

7.1 Desarrollo de la metodología del tubo Venturi

Las dispersiones regularmente tienen dos fases con diferentes componentes. Las cuales al mezclarse de forma espontánea o por medio de agitación mecánica se pueden formar emulsiones de tamaño nanométrico. Tomando este principio, se desarrolló una nueva metodología para preparar nanopartículas con un tubo Venturi. Este dispositivo puede mezclar dos líquidos con gran intensidad en la región de máxima turbulencia (garganta). La idea principal es inyectar una fase orgánica en la garganta del tubo Venturi la cual contiene el polímero o lípido en disolución a una fase acuosa que contiene estabilizante(s) en constante recirculación.

Nuestra propuesta fue verificar la funcionalidad de este dispositivo para preparar dispersiones submicrónicas. Como primer paso se diseñó y construyó el tubo Venturi el cual fue fabricado de vidrio con las dimensiones de acuerdo a The American Society of Mechanical of Engineers (ASME 2005). Posteriormente, se desarrolló una metodología donde se incluye al tubo Venturi en un sistema de recirculación. La figura 17 muestra la metodología desarrollada para obtener nanodispersiones con el tubo Venturi.

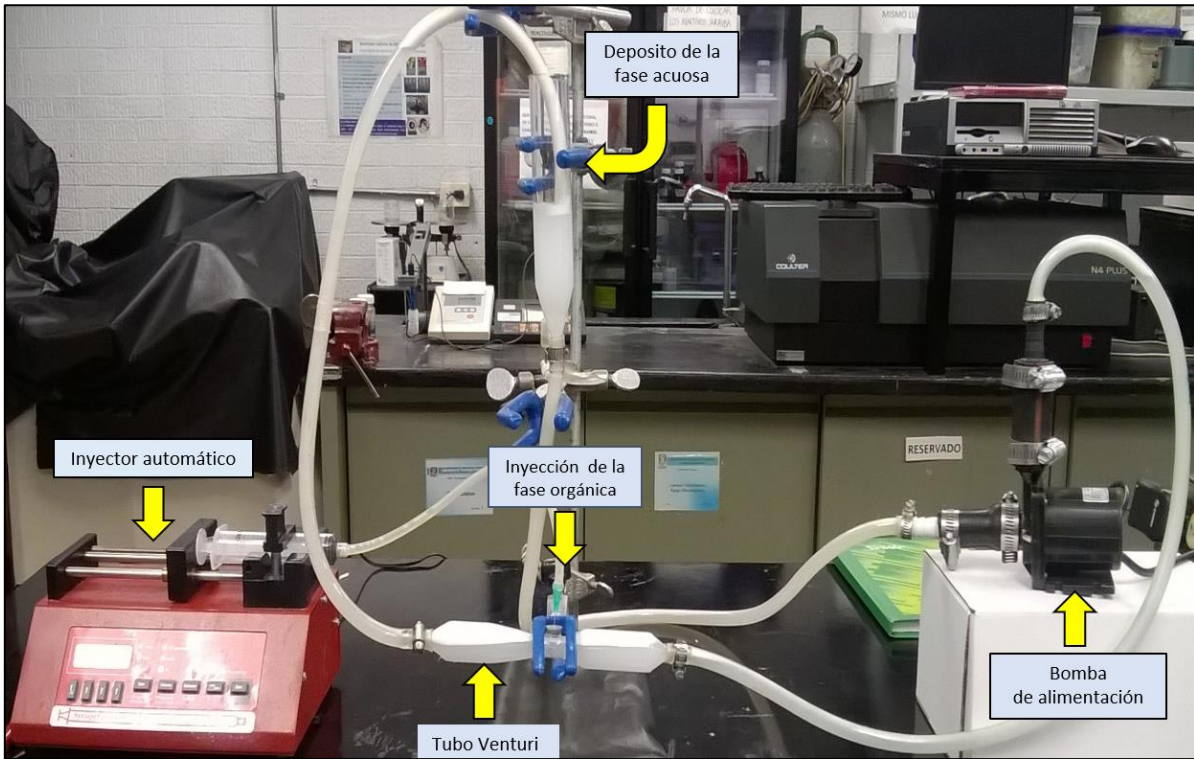


Figura 17. Fotografía de la metodología diseñada para preparar nanodispersiones por el tubo Venturi.

7.2 Obtención del número de Reynolds

Después de desarrollar la metodología con el tubo Venturi, se determinó el Re en la garganta y en la admisión del cilindro del tubo Venturi (ver figura 16) con la finalidad de saber qué tipo de flujo se produce y cuál es el favorable en la formación de las nanopartículas, los resultados se resumen en la tabla 13. Se observó que velocidades de recirculación de 3.5 L/min o mayores producen un flujo turbulento en la garganta del tubo Venturi con $Re > 4000$. En pruebas preliminares para obtener nanopartículas con tamaño nanométrico fue indispensable tener un flujo turbulento.

Tabla 13. Resultados del número de Reynolds en el tubo Venturi.

Velocidad de recirculación (L/min)	Número de Reynolds	
	Admisión del cilindro	Garganta
3.5	2462	4865
5.5	4153	7646
7.5	5663	10426

7.3 Selección de materiales para la preparación de nanopartículas poliméricas

Para la preparación de nanopartículas poliméricas, se utilizó la poli- ϵ -caprolactona debido a que tiene bajo punto de fusión y alta hidrofobicidad. Es un polímero altamente hidrófobo y parcialmente cristalino, tiene una temperatura de transición vítrea (T_g) de $-60\text{ }^\circ\text{C}$ y una temperatura de fusión de $59 - 64\text{ }^\circ\text{C}$. El estabilizante utilizado fue el PVA, en bibliografía esta reportado como un coloide protector para los glóbulos de la nanodispersión formada, debido a que sus moléculas son adsorbidas en la superficie de los glóbulos previniendo su precipitación (Niwa et al. 1993). Otra función del PVA es formar una capa estable que permite su fácil redispersión después de ser liofilizadas y resuspendidas en agua (Quintanar-Guerrero, Ganem-Quintanar, et al. 1998). Esto se da por la formación de enlaces de hidrogeno entre el lioprotector y los grupos polares localizados en la superficie de las nanopartículas, fenómeno que sucede al final del proceso del liofilizado. A este mecanismo de estabilización se le conoce como “reemplazamiento del agua” donde las moléculas de los lioprotectores sustituyen a las moléculas de agua que se encuentran alrededor de las nanopartículas preservando su estructura sin cambios, esto permite el enlace entre las moléculas del estabilizador hacia la

superficie de las nanopartículas (Abdelwahed et al. 2006). El disolvente empleado fue acetona, comúnmente reportado en la bibliografía para la preparación de nanopartículas por el método de desplazamiento de disolvente (Mora-Huertas C.E., Fessi H. 2011; Draheim et al. 2015). La acetona es un disolvente considerado de los menos tóxicos, además de ser de bajo riesgo para la salud humana, el cual es aprobado farmacéuticamente (FDA 2017).

7.4 Comparación de la metodología de desplazamiento de disolvente vs tubo Venturi para nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona

Para conocer las ventajas y desventajas de la metodología desarrollada con el tubo Venturi, se comparó contra el método convencional por desplazamiento de disolvente (MCDD). Los resultados de ambas metodologías se pueden ver en la figura 18a, donde se observa que las nanopartículas preparadas por el MCDD fueron más grandes que las preparadas por el tubo Venturi a concentraciones de 2.0, 4.0 y 6.0 % de poli- ϵ -caprolactona.

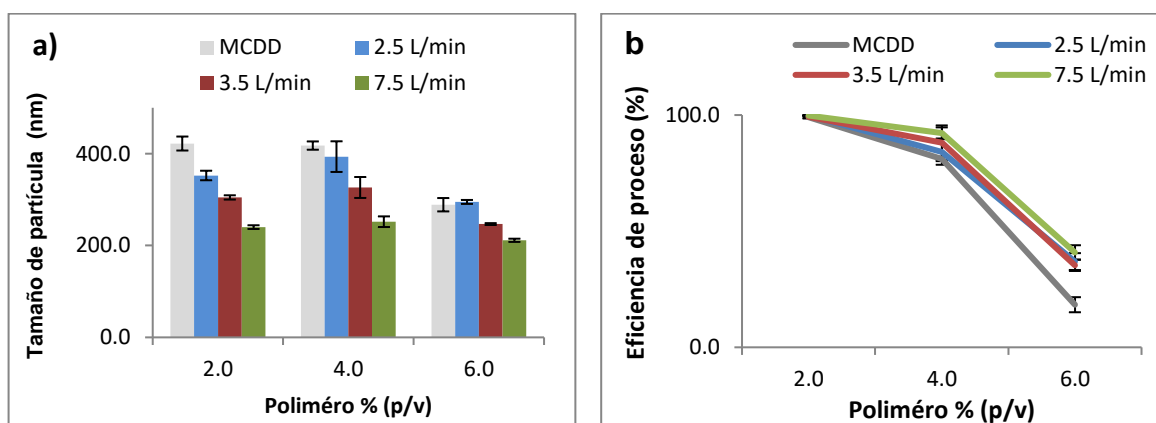


Figura 18. a) Comparación del TP por la metodología del TV y MCDD; b) Comparación de la EP por la metodología del TV y MCDD; donde 2.5 L/min, 3.5 L/min y 7.5 L/min son las velocidades de recirculación utilizadas en el TV. Donde TV: tubo Venturi; MCDD: Método convencional de desplazamiento de disolvente.

Esto puede deberse a la generación de flujos turbulentos dentro de tubo Venturi permitiendo una mayor interacción de la fase acuosa y orgánica a nivel molecular (Shayeganfar et al. 2010) dando como resultado que a concentraciones mayores al 2.0 % de polímero se obtengan nanopartículas de menor talla en comparación con el método convencional. Un aumento en la velocidad de recirculación de 3.5 L/min a 7.5 L/min, produce una mayor turbulencia en la garganta del tubo Venturi generando una mayor intensidad de mezclado, lo que da por resultado una disminución en el TP como se observa en la figura 18a. En la figura 18b se observa que la metodología por tubo Venturi tiene una mayor EP que la MCDD a concentraciones de 4.0% y 6.0% de polímero. De acuerdo con las observaciones de Thioune et al., 1997 y Galindo-Rodriguez et al., 2004, el incremento en la concentración de polímero en la fase orgánica conduce a la formación de grandes nanopartículas con una baja EP. Como se observa, la nanoprecipitación es altamente sensible a los cambios de concentración del polímero por cualquier metodología o dispositivo utilizado para la obtención de nanopartículas. Cuando las nanopartículas son preparadas por ambos métodos a una concentración menor al 2.0 % no hay precipitado alguno. Sin embargo, un incremento en la concentración del polímero da como resultado una mayor asociación de las cadenas poliméricas (Thioune et al. 1997) obstruyendo la difusión de ambas fases y dando como resultado agregados visibles. Un aumento en la recirculación del tubo Venturi mejora la difusión de ambas fases aumentando la EP a concentraciones mayores del 2.0 %. Si bien la EP obtenida a 4.0 y 6.0 % por medio del tubo Venturi no son del 100 %, es importante resaltar su mayor eficiencia en comparación con el método convencional.

7.5 Mecanismo de formación de nanopartículas poliméricas de poli- ϵ -caprolactona por el tubo Venturi

El mecanismo de formación de las nanopartículas por tubo Venturi puede ser explicado por la turbulencia interfacial, que es la formación continua de remolinos

en la interfase generados durante el mezclado entre la fase orgánica y acuosa. La recirculación del estabilizante a través del tubo Venturi crea un efecto de turbulencia, que es la generación de vórtices giratorios o remolinos en la garganta del tubo Venturi (Sundararaj and Selladurai 2013), esta turbulencia se mantiene por todo el sistema y se incrementa al paso constante por la garganta. Cuando la fase orgánica es inyectada en la garganta del tubo Venturi esta difunde hacia la fase acuosa debido a la miscibilidad de ambos disolventes (acetona-agua). En la interfase, el polímero todavía en solución es arrastrado hacia la fase acuosa, formando pequeños glóbulos de diferentes formas y tamaños, los cuales precipitan debido a que entran en contacto con un disolvente acuoso y son rápidamente estabilizadas por moléculas de PVA que se adsorben sobre la superficie del polímero evitando su coalescencia. La formación de nanopartículas es debido a la constante difusión de la fase orgánica hacia la acuosa (Quintanar-Guerrero, Allémann, et al. 1998).

La recirculación de la fase acuosa en el sistema evita una posible saturación del medio y la excesiva agregación del polímero cuando la acetona difunde (Piñón-Segundo et al. 2006), debido a un incremento en el mezclado de ambas fases por la turbulencia en la garganta del tubo Venturi. La eficiencia de mezclado de este dispositivo se debe a que el tubo Venturi provee un crecimiento exponencial de contacto entre ambas fases así como un efecto de succión (Sundararaj and Selladurai 2013) por la inyección de la fase orgánica hacia la acuosa en la garganta del tubo Venturi.

7.6 Preparación de nanopartículas poliméricas de poli- ϵ -caprolactona por el tubo Venturi

Para identificar qué factores afectan nuestro proceso, se realizó un DCC utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS® XVI CENTURION (ver tabla 7). Con este diseño se pretende obtener las mejores condiciones de trabajo para la optimización

de la metodología del tubo Venturi. Previamente, se realizaron ensayos preliminares y un diseño factorial para determinar los factores que afectan las variables de respuesta principales: EP y TP. Se evaluó el efecto de tres factores de mayor impacto mediante un DCC: X₁, concentración del estabilizante; X₂, concentración de polímero y X₃, velocidad de recirculación sobre las variables de respuesta: Y₁, EP; Y₂, TP; Y₃, IPD, los resultados se observan en la matriz de la tabla 14.

Tabla 14. Matriz codificada para el DCC del tubo Venturi.

	CONC. POLIMERO (p/v)	VEL RECIRC. (L/min)	CONC. ESTAB. (p/v)	EFICIENCIA PROCESO (%)	TAMAÑO PARTICULA (nm)	IPD
1	6	7.5	3	61.05	271.17	0.27
2	4	5.5	2	67.09	396.60	0.33
3	6	7.5	1	37.91	257.77	0.34
4	4	5.5	0.32	57.47	388.87	0.27
5	2	7.5	3	99.24	320.17	0.10
6	2	3.5	3	99.65	572.00	0.10
7	4	5.5	2	74.88	510.70	0.41
8	4	5.5	2	71.61	373.63	0.25
9	4	5.5	2	67.29	425.07	0.28
10	4	8.86	2	73.54	361.43	0.32
11	4	5.5	3.69	83.51	425.77	0.24
12	2	7.5	1	99.48	292.77	0.07
13	4	5.5	2	75.31	390.17	0.21
14	7.36	5.5	2	32.27	283.33	0.33
15	0.64	5.5	2	98.25	234.03	0.21
16	2	3.5	1	99.53	407.33	0.16
17	4	2.14	2	55.62	622.95	0.24
18	6	3.5	3	36.95	384.03	0.25
19	4	5.5	2	71.26	481.60	0.17
20	6	3.5	1	28.82	317.30	0.12

De forma general, se observan eficiencias de proceso de 28.28-99.65%, con tamaños de partícula de 234.03 – 572.00 nm e índices de polidispersidad de 0.10 – 0.33. Nanopartículas con TP de 234 nm pueden ser obtenidas a bajas concentraciones de polímero (0.64%). La metodología del tubo Venturi permitió el uso de altas concentraciones de polímero hasta 7.36% pero con una baja EP de 32.37%. Se observa que a una baja velocidad de recirculación de 2.14 L/min se obtienen nanopartículas mayores a 500 nm. Por otra parte, la tabla 15 muestra el análisis de los coeficientes de regresión (lineal, cuadráticos e interacción) de las variables sobre las respuestas para el ajuste y selección del modelo adecuado.

Tabla 15. ANOVA y coeficientes de regresión sobre las variables de respuesta respecto a los factores estudiados para nanopartículas poliméricas.

Termino	EFICIENCIA DE PROCESO (%)		TAMAÑO DE PARTÍCULA (nm)		ÍNDICE DE POLISPERSIDAD	
	Coeficiente	<i>p</i> -valor	Coeficiente	<i>p</i> -valor	Coeficiente	<i>p</i> -valor
β_0	132.01	-	499.15	-	0.21	-
β_1	-19.69	0.00*	82.11	0.13 ^{ns}	-0.01	0.01*
β_2	0.52	0.04*	-109.74	0.00*	-0.01	0.50 ^{ns}
β_3	-9.56	0.02*	131.12	0.08**	0.04	0.47 ^{ns}
β_{11}	-0.33	0.50 ^{ns}	-13.96	0.00*	-0.01	0.26 ^{ns}
β_{22}	1.05	0.12 ^{ns}	6.06	0.17 ^{ns}	0.01	0.09**
β_{33}	1.96	0.15 ^{ns}	-7.00	0.41 ^{ns}	0.01	0.37 ^{ns}
β_{12}	-0.39	0.42 ^{ns}	6.68	0.05**	-0.01	0.26 ^{ns}
β_{13}	0.92	0.48 ^{ns}	-11.91	0.18 ^{ns}	0.01	0.33 ^{ns}
β_{23}	0.54	0.78 ^{ns}	-3.29	0.79 ^{ns}	-0.05	0.04*
R ² (%)	95.17		87.82		72.46	

β_0 : Coeficiente de regresión; β_1 : Variable concentración del polímero; β_2 : Variable velocidad de recirculación; β_3 : Variable concentración del estabilizante, * $\alpha=0.05$; ** $\alpha = 0.10$; ns = no significativo, R² = coeficiente de determinación

El ANOVA mostró que el modelo polinomial cuadrático representa adecuadamente el comportamiento experimental de los datos con coeficientes R^2 de 95.15 para la EP, 87.82 para el TP y 72.46 para el IPD. Además, muestra los p-valores ($\alpha=0.05$ y $\alpha=0.10$) indicativos del nivel de significancia de los factores. De acuerdo con los p-valores el efecto de los factores sobre las respuestas fue como sigue: concentración del polímero > velocidad de recirculación > concentración del estabilizador.

7.6.1 Eficiencia de proceso

Las figuras 19 a-c muestran los efectos de las variables independientes sobre las variables de respuesta. En las figuras 19a y 19b indican que la EP disminuye al incrementar la concentración de la poli- ϵ -caprolactona. Legrand et al. (2007) reportaron que al incrementar la concentración de polímero solamente una fracción participa en la formación de nanopartículas, mientras el resto forma agregados. Esto fue corroborado en nuestro estudio, a concentraciones mayores de 4.0% de polímero se formaron agregados. Por otra parte, el incremento de la velocidad de recirculación forma una gran turbulencia dentro del tubo Venturi produciendo “microvórtices” de tamaño nanométrico que arrastran gotas de diminuto tamaño hacia la fase acuosa formando nanopartículas, esto da como resultado un incremento de la EP, haciendo más eficiente el proceso como se observa en la figura 19a. La figura 19b nos indica que la concentración de polímero tiene una relación inversamente proporcional con el estabilizante. Al aumentar la concentración del polímero la EP disminuye, debido a que es insuficiente la concentración del surfactante para poder estabilizar la dispersión, así no todo el polímero es transformado en nanopartículas formando agregados. En la figura 19c se observa un aumento de la velocidad de recirculación y concentración del estabilizante, donde ambos efectos potencializan la EP. La ecuación 5 muestra el modelo ajustado para la EP:

$$EP = 132.01 - 19.69 \cdot X_1 + 0.52 \cdot X_2 - 9.56 \cdot X_3 - 0.32 \cdot X_1^2 + 1.05 \cdot X_1 \cdot X_2 + 1.96 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0.39 \cdot X_2^2 + 0.92 \cdot X_2 \cdot X_3 + 0.54 \cdot X_3^2 \dots \dots \dots \text{Ecuación 5}$$

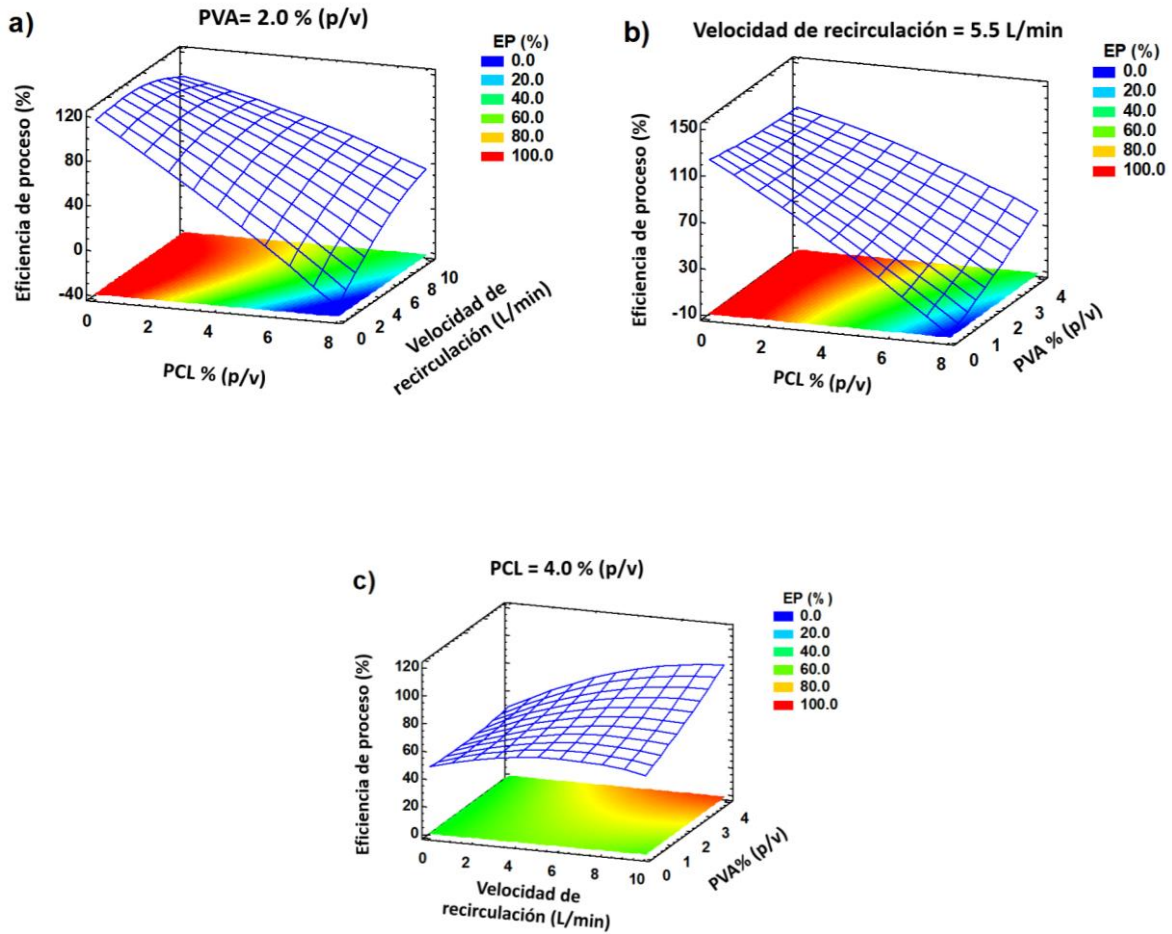


Figura 19. Gráficas de superficie de respuesta para la EP en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde EP: eficiencia de proceso; PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.

7.6.2 Tamaño de partícula.

En la figura 20a se observa la disminución del TP como resultado del incremento de la concentración del polímero y velocidad de recirculación. Chacon et al. 1996 reporto que un incremento de la velocidad de agitación disminuye el TP. En la figura 20b se observa un aumento del TP debido al incremento de la concentración del polímero. Un efecto similar fue reportado por Rietscher et al. (2015), en sus hallazgos propone que el crecimiento del TP es debido a un incremento de la viscosidad de la fase orgánica. Sin embargo, a concentraciones mayores de 4.0 % de polímero se tiene una menor difusión de la fase orgánica hacia la fase acuosa, disminuyendo el TP o produciendo agregados. Por otra parte, como se observa en la figura 20c, una reducción del TP es conseguida por un incremento en la velocidad de recirculación, debido a que se produce mayores turbulencias en la garganta del tubo Venturi lo que propicia una mayor eficiencia de mezclado y una disminución del TP. La ecuación 6 es la representación del modelo ajustado para el TP.

7.6.3 Índice de polidispersión

El comportamiento del IPD es debido a la dependencia de los factores del proceso. Por ejemplo, un incremento de la concentración del polímero y velocidad de recirculación se observa en la figura 21a. Esto posiblemente se deba a que solamente una parte del polímero es transformado en nanopartículas, como resultado se tienen nanopartículas con diferentes poblaciones debido al aumento en la velocidad de recirculación lo que disminuye la probabilidad de difusión de ambas fases. En la figura 21b se observa que a bajas concentraciones de poli- ϵ -caprolactona se producen nanopartículas con poblaciones monodispersas, debido a una rápida difusión de la PLC hacia PVA (Mora-Huertas et al., 2011), sin embargo, un aumento en el estabilizante tiene como resultado una difusión parcial de ambas fases por el incremento de la viscosidad produciendo poblaciones polidispersas. Como podemos observar la figura 21c presenta como el IPD no se vea afectado de

manera significativa cuando hay un incremento en la concentración del PVA y la velocidad de recirculación. La ecuación 7 expresa el modelo ajustado para IPD:

$$TP = 499.15 + 82.11*X1 - 109.74*X2 + 131.12*X3 - 13.96*X1^2 + 6.06*X1*X2 - 7.00*X1*X3 + 6.68*X2^2 - 11.91*X2*X3 - 3.289*X3^2 \dots\dots\dots\text{Ecuación 6}$$

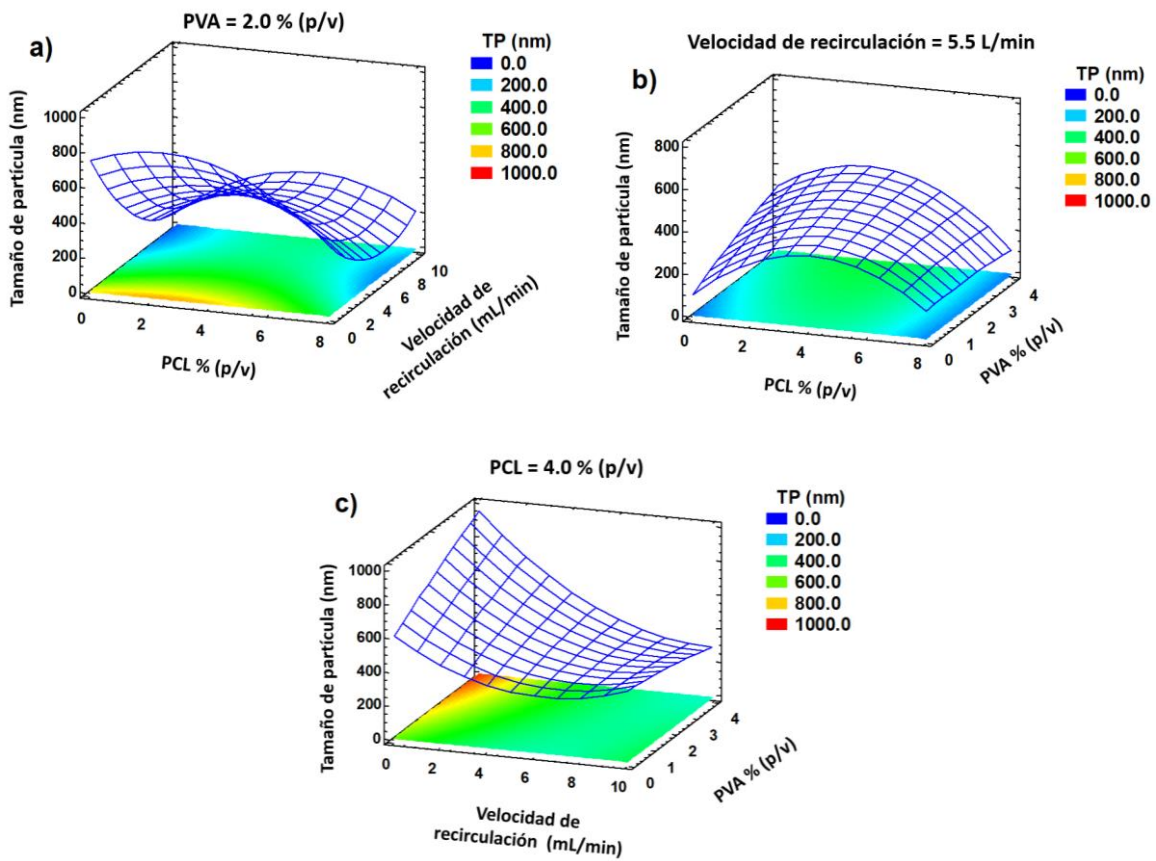


Figura 20. Gráficas de superficie de respuesta para el TP en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde, TP: tamaño de partícula, PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.

$$IPD = 0.21 - 0.01 \cdot X_1 - 0.01 \cdot X_2 + 0.04 \cdot X_3 - 0.01 \cdot X_1^2 + 0.01 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0.01 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0.01 \cdot X_2^2 + 0.01 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0.05 \cdot X_3^2 \dots\dots\dots \text{Ecuación 7}$$

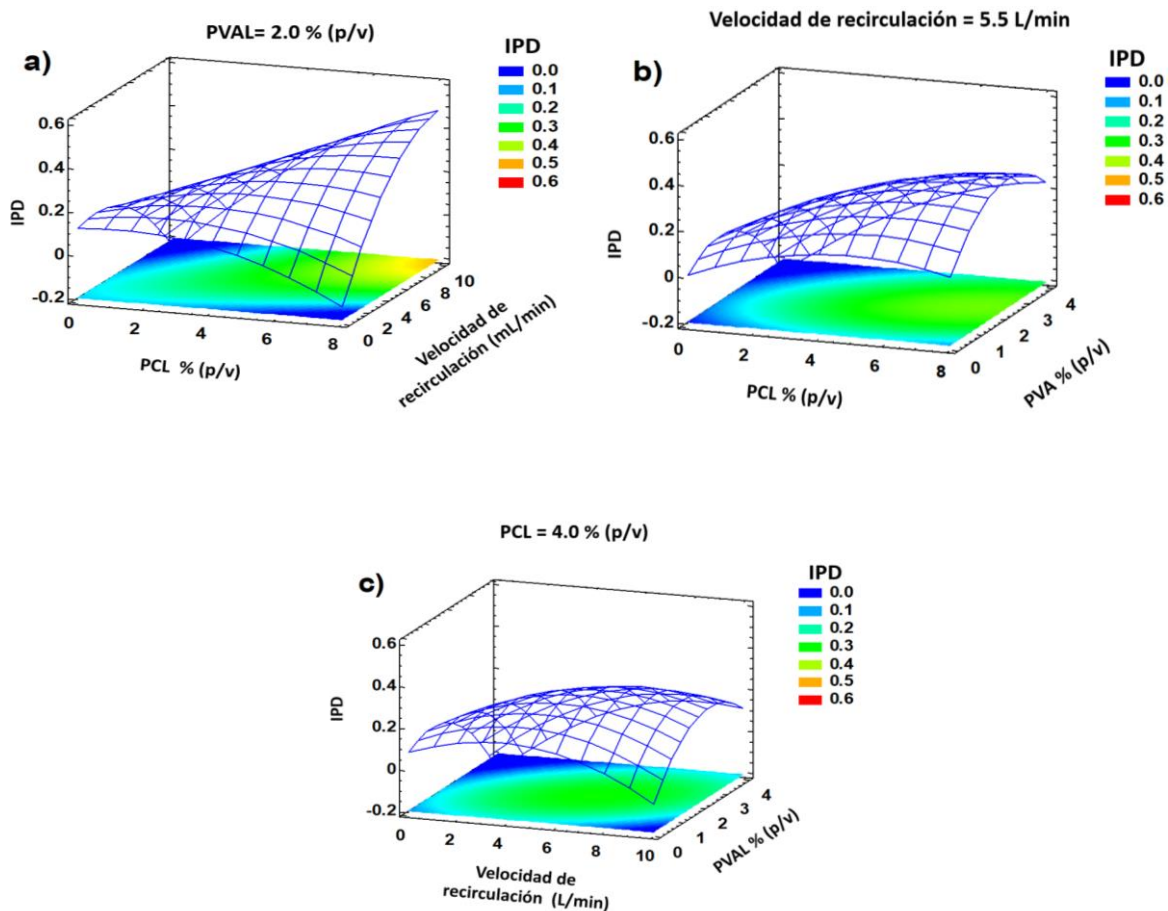


Figura 21. Gráficas de superficie de respuesta para el IPD en función de: a) PCL y velocidad de recirculación, b) PCL y PVA, c) velocidad de recirculación y PVA. Donde, IPD: Índice de polidispersidad; PCL: poli-ε-caprolactona y PVA: alcohol polivinílico.

7.6.4 Optimización y versatilidad del método del tubo Venturi para nanopartículas poliméricas

El objetivo de este estudio fue determinar las condiciones óptimas para lograr una EP cercano al 100.0 %, TP por debajo de 500 nm y un IPD menor de 0.2. Para obtener las mejores condiciones del proceso se utilizó la función D , donde se conjugan todas las respuestas en una medición y predice los niveles óptimos de las factores estudiados (Sankalia et al. 2004). Un valor diferente de cero implica, que todas las respuestas están en un rango simultáneamente deseable y un valor de D cercano a 1 nos refiere que la combinación de los diferentes factores son generalmente óptimos (Sivakumar, Manavalan, and Valliappan 2007). Con el programa estadístico se obtiene un valor de $D=0.89$, con los siguientes valores óptimos de los factores: concentración de polímero 1.6 % (p/v), velocidad de recirculación 4.8 (L/min), concentración del estabilizante 1.1 % (p/v) y los valores predictivos de las variables de respuesta fueron: EP, 99.7 %; TP, 333 nm e IPD, 0.2

Con los valores óptimos de los factores se realizaron ensayos por triplicado obteniendo los siguientes resultados experimentales: EP, 99.00 ± 0.94 %; TP, 305 ± 2 nm, IPD, 0.10 ± 0.03 . Como se observa nuestros resultados experimentales fueron los esperados para las variables de respuesta: TP, IPD y EP. Por lo tanto, estos valores de la optimización se utilizaron para la versatilidad del método, así como para futuros experimentos. Con el fin de corroborar la versatilidad del método del tubo Venturi se prepararon nanopartículas con diferentes polímeros. Los polímeros utilizados fueron poli- ϵ -caprolactama, ácido poli (láctico-co-glicólico) 50:50 (PLGA) y acetato ftalato de celulosa (CAP) y como estabilizantes: PVA y Poloxámero 188. Los resultados se muestran en la tabla 16. Estabilizantes estéricos como el PVA y PLX son generalmente usados para asegurar la estabilidad de nanopartículas, minimizar su IPD y prevenir su agregación (Lourenco et al. 1996).

Tabla 16. Versatilidad del tubo Venturi para preparar nanopartículas poliméricas con diferentes polímeros y estabilizantes.

NP	TP (nm)	IPD	EP (%)
PCL-PVA	305.46 ± 1.95	0.10 ± 0.03	99.00 ± 0.94
PCL-PLX	233.13 ± 2.60	0.14 ± 0.06	96.17 ± 1.08
PLGA-PVA	231.78 ± 1.30	0.18 ± 0.00	94.72 ± 1.45
PLGA-PLX	219.97 ± 1.36	0.18 ± 0.05	91.95 ± 3.07
CAP-PVA	218.01 ± 12.39	0.53 ± 0.05	99.27 ± 0.40
CAP-PLX	128.87 ± 3.04	0.24 ± 0.09	77.44 ± 3.11

Nota: NP: nanopartículas; PCL-PVA: poli-ε-caprolactona-alcohol polivinílico; PCL-PLX: poli-ε-caprolactona-poloxámero 188; PLGA-PVA: ácido poli(láctico-co-glicólico)-alcohol polivinílico; PLGA-PLX: ácido poli(láctico-co-glicólico)-poloxámero 188; CAP-PVA: acetato ftalato de celulosa-alcohol polivinílico; CAP-PLX: acetato ftalato de celulosa-poloxámero 188.

Nanopartículas preparadas con PVA mostraron una mayor EP en comparación con PLX, debido a que la estabilización puede estar dado por la combinación de dos mecanismos; a) efecto estérico o adsorción sobre la superficie de las partículas debido a que los grupos hidroxilo del PVA son fijados a los grupos acetilo el PLGA mediante interacciones puentes de hidrogeno (Murakami Kobayashi, and Takeuchi 1999). En contraste, el PLX es un copolímero de segmentos hidrofílicos de poli(óxido de etileno) e hidrofóbicos poli(óxido de polietileno) que logran la estabilización por repulsión estérica entre el bloque de poli(óxido de etileno) en la

solución acuosa y el anclamiento del bloque poli(óxido de polietileno) a la superficie de las nanopartículas (Quintanar-Guerrero, Ganem-Quintanar, et al. 1998). Suponemos que el PLX tiene una adsorción parcial sobre las nanopartículas en comparación a una fuerte adsorción del PVA reflejándose en la menor EP, esto lo podemos relacionar a un bajo número de cadenas poliméricas ancladas sobre a la superficie de las nanopartículas de CAP- PLX.

7.7 Selección de materiales para la preparación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas

En bibliografía hay una gran cantidad de métodos reportados para preparar nanopartículas, por ejemplo: desplazamiento de disolvente, emulsificación-difusión, ultrasonido, etc. Las cuales son referenciadas para la preparación de nanopartículas lipídicas y materiales de diversa naturaleza. Uno de nuestros objetivos es probar la versatilidad del tubo Venturi en la preparación de nanopartículas con materiales lipídicos. Como primer paso se buscó un sistema lípido-disolvente-estabilizante capaz de formar eficientemente NLS por el método de desplazamiento de disolvente. Se experimentaron con los siguientes lípidos: ácido esteárico, alcohol cetosteárico, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo y monoleína; como estabilizantes: PVA, Poloxámero 188, Tween® 80 y el uso de disolventes parcialmente solubles en agua: acetona, metanol y la mezcla acetona-metanol. Se determinó que las NLS de monoleína con PVA como estabilizante y acetona como disolvente presentaron las mejores características: talla de partícula menor a 500.0 nm e IPD < 0.3 en comparación con los otros lípidos experimentados. El uso de poloxámero 188 y Tween® 80 como estabilizantes formaron agregados. A partir de estos resultados se utilizó el siguiente sistema lípido-estabilizante-disolvente: monoleína/alcohol polivinílico/acetona.

Una de las características del método del tubo Venturi es obtener dispersiones a temperatura ambiente (proceso en frío), esto nos limita a utilizar un bajo número de

lípidos, pero a su vez nos da la oportunidad de incorporar fármacos termolábiles. Por otra parte, una desventaja de usar metodologías en caliente son: aumentar la velocidad de degradación de los activos y lípidos, además de provocar cambios conformacionales en las proteínas (Villafuerte et al. 2008). Para desarrollar NLS de monoleína por la metodología del tubo Venturi se tomaron las condiciones de trabajo de la optimización establecida previamente en la preparación de nanopartículas poliméricas. Se trabajó con las siguientes condiciones: concentración de lípido 1.6 % (p/v), velocidad de recirculación 4.8 L/min, y concentración de estabilizante 1.1 % (p/v). Con el fin de determinar si nuestra metodología de NLS por tubo Venturi tiene ventajas sobre el MCDD, modelo ya establecido, sus condiciones de trabajo son mostradas en el punto 6.1.

7.8 Comparación de la metodología de desplazamiento de disolvente contra tubo Venturi para preparar Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Se prepararon NLS por MCDD y tubo Venturi. En la tabla 17 se observa que el TP de NLS de monoleína por tubo Venturi es menor que el obtenido por el método convencional. Como habíamos comentado previamente, la forma del dispositivo ayuda a tener una mayor difusión (incremento en la velocidad de dispersión) de la fase orgánica hacia la acuosa teniendo como resultado menor talla de partícula, además de una mayor eficiencia en el proceso.

Tabla 17. Resultados de la preparación de NLS de monoleína por el método convencional y el tubo Venturi.

Metodología	Tamaño de partícula	Eficiencia de proceso
MCDD	349 ±3.0	65 ±8.3
TV	171 ±0.0	76 ± 1.0

MCDD: Método Convencional de Desplazamiento de disolvente; TV: Tubo Venturi

7.9 Preparación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas por el tubo Venturi mediante un diseño Box-Behnken

Se observa en la tabla 17 que la EP por la metodología del tubo Venturi es menor del 100 %, para incrementarla debemos encontrar las condiciones óptimas de preparación. Para lograr lo anterior hay dos vías: a) se puede realizar “*n*” pruebas hasta encontrar las condiciones óptimas; b) diseños de experimentos. Debido a las ventajas mencionadas y comprobadas en la preparación de nanopartículas poliméricas se utilizaron diseños de experimentos.

Como primer paso se realizó un diseño de cribado. Los diseños de cribado son experimentos preliminares cuyo propósito es aislar los factores más importantes entre un gran número que pueden afectar a una respuesta en particular (Cotter 1979). Mediante este diseño se determinó que los siguientes factores: a) velocidad de inyección, b) velocidad de recirculación y c) concentración del estabilizante tienen influencia sobre las variables de respuesta: TP, IPD, PZ y EP. Los factores identificados se utilizaron en la MSR para encontrar las condiciones óptimas de operación y obtener las respuestas del proceso que nos proporcionan las mejores características de calidad del producto (Gutierrez and de laVara 2012). El efecto de

los factores fue estimado mediante un diseño Box-Behnken, para evaluar las variables de respuesta (ver tabla 8) con el fin de estudiar los efectos principales y sus combinaciones. Este tipo de diseño se utiliza cuando se tienen tres o más factores, ya que tienen la ventaja de utilizar menos experimentos en comparación con los diseños compuesto central. Una de sus características es que son rotables debido a que no incluye tratamientos en los vértices de la región experimental, ya que en algunos casos no pueden realizarse. Además, utilizan al menos un punto central con el cual se estima el efecto de curvatura. Para este estudio se realizaron 15 experimentos en forma aleatoria como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Matriz codificada para el Diseño Box-Behnken para NLS de monoleína por tubo Venturi.

	Velocidad de inyección (mL/min)	Velocidad de recirculación (L/min)	Concentración del estabilizante (%)	EP (%)	TP (nm)	IPD	PZ (mV)
1	2	5	2	89.2	239.2	0.15	-20.5
2	1	3	2	87.1	237.1	0.26	-16.9
3	3	5	1	95.7	215.3	0.27	-16.9
4	3	5	3	71.9	219.4	0.30	-17.4
5	3	7	2	87.2	211.6	0.20	-18.5
6	2	5	2	86.8	205.3	0.11	-17.7
7	2	5	2	86.5	209.7	0.12	-19.6
8	1	5	3	74.5	213.2	0.28	-20.2
9	2	3	1	96.0	230.5	0.19	-22.1
10	2	3	3	68.3	267.8	0.21	-22.17
11	1	7	2	84.5	186.3	0.24	-24.8
12	1	5	1	95.6	199.2	0.28	-20.0
13	3	3	2	78.3	241.5	0.27	-19.9
14	2	7	3	95.4	195.7	0.27	-24.3
15	2	7	1	71.8	194.1	0.22	-22.5

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS® XVI, obteniéndose el ANOVA (ver tabla 19) y los diagramas de Pareto, los cuales

nos permiten establecer que factores afectan la metodología del tubo Venturi. Los *p-valores* (< a 0.05) de la tabla 19 nos indican un efecto significativo sobre las variables de respuesta. Los factores en orden de influencia sobre la EP fueron la concentración del estabilizante (C), seguida por la interacción de la velocidad de recirculación y el estabilizante (BC). En el caso del TP, se observa que la velocidad de recirculación (B) tiene un fuerte impacto sobre este factor. Cabe mencionar que la velocidad de inyección (AA) y la concentración del estabilizante (CC) potencializan la influencia del IPD. Por último, el PZ se ve afectado por la velocidad de inyección (A) y velocidad de recirculación (B), además de la interacción de ambos factores (AB), así como el efecto cuadrático de estos (AA) y (BB).

Tabla 19. ANOVA y coeficientes de regresión sobre las variables de respuesta respecto a los factores estudiados de las nanopartículas lipídicas de monoleína.

	Eficiencia de proceso		Tamaño de partícula		Índice de polidispersidad		Potencial zeta	
	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor
Constante	147.60	---	231.71	---	0.91		-21.58	--
A	-3.56	0.66	16.77	0.21	-0.34	0.84	-11.25	0.04*
B	-9.16	0.64	-22.26	0.01*	-0.06	1.00	3.66	0.04*
C	-27.89	0.05*	41.17	0.18	-0.29	0.33	5.01	0.47
AA	-0.84	0.81	-4.60	0.52	0.09	0.00*	1.68	0.04*
AB	1.44	0.42	2.61	0.46	-0.01	0.48	1.17	0.01*
AC	-0.68	0.85	-2.48	0.71	0.01	0.66	-0.08	0.91
BB	-0.60	0.52	1.41	0.44	0.01	0.16	-0.61	0.01*
BC	6.41	0.01*	-4.46	0.23	0.00	0.66	-0.22	0.50
CC	-2.24	0.54	-1.70	0.81	0.07	0.01*	-1.03	0.16
R ²	82.98		81.26		89.61		92.10	

A: velocidad de inyección, B: velocidad de recirculación, C: Concentración del estabilizante

* $\alpha = 0.05$; R² = coeficiente de determinación

Los diagramas de Pareto Estandarizado (figura 22a-d) son representaciones gráficas del análisis de varianza donde se observan los factores con más influencia en un proceso. Los efectos de color azul (-) son inversamente proporcionales a las variables de respuesta, mientras que los de color gris (+) son efectos directamente proporcionales (Ramón, Amaya, and Losada 2013). Un diagrama de Pareto nos sirve para determinar la magnitud e importancia de los factores, además incluyen una línea vertical cuya ubicación indica un nivel de significancia del 0.05. Los factores e interacciones que están del lado izquierdo de la línea de referencia no son significativos y los que rebasan esta línea tienen efecto significativo (ver figuras 22a-d).

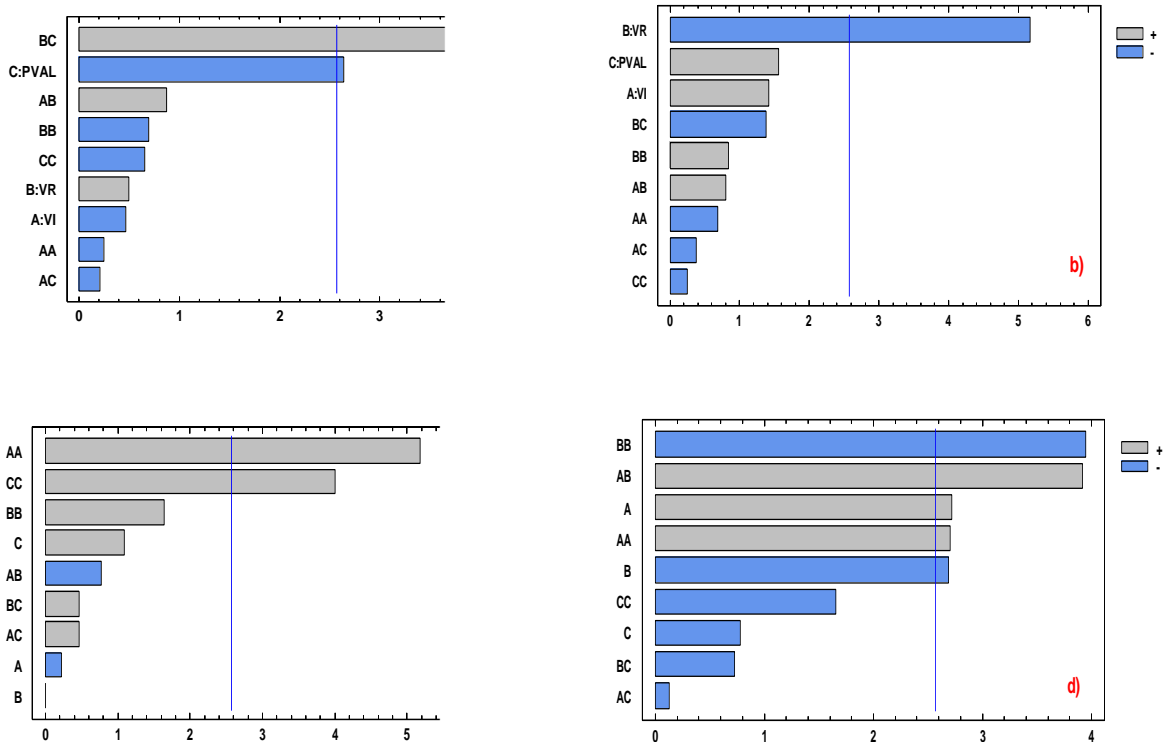


Figura 22. Diagramas de Pareto Estandarizado: a) Eficiencia de proceso, b) Tamaño de partícula, c) Índice de polidispersidad, d) Potencial zeta. Donde A: velocidad de inyección, B: velocidad de recirculación, C: Concentración del estabilizante.

7.9.1 Eficiencia de proceso

Podemos observar en la gráfica de superficie de respuesta 23a que la velocidad de recirculación tiene un efecto negativo. Es decir, si aumenta este factor, la variable EP disminuye; posiblemente debido a una baja interacción entre las moléculas del estabilizante y el lípido. Por otra parte, la adición de más PVA al sistema permite la formación de un mayor número de NLS. A concentraciones superiores de 1.0 % de estabilizante hay una excesiva viscosidad del sistema, pudiendo retardar la difusión de la fase orgánica hacia la acuosa y por ende una baja formación de NLS (ver figura 23b). Cuando la velocidad de inyección (cantidad de lípido/tiempo) es superior a 1 mL/min, hay saturación de lípido en la garganta, como resultado disminuye la EP, debido a una menor cantidad de estabilizante en el sistema. Sin embargo, con el incremento de la velocidad de recirculación, origina una mayor energía cinética en el sistema haciendo más probable el contacto de ambas fases, incrementando la EP como se observa en la figura 23c. La ecuación 8 muestra el modelo ajustado para la EP.

7.9.2 Tamaño de partícula.

Un aumento en la velocidad de recirculación del tubo Venturi, puede producir gotas de disolvente de tamaño micrométrico a nanométrico, debido a una mayor turbulencia generada dentro del sistema, produciendo NLS menores a 250 nm como se observa en la figura 24a. A mayor concentración de estabilizante hay un incremento de la viscosidad del medio, ralentizando la difusión de la fase orgánica hacia la acuosa, provocando la formación de gotas más grandes, resultando en un ligero aumento en la talla de partícula como se observa en la figura 24b. Cabe mencionar que la velocidad de inyección y recirculación no impactaron de manera significativa sobre el TP (figura 24c). La ecuación 9 describe el modelo ajustado para el TP.

$$EP = 147.60 - 3.56*X1 - 9.16*X2 - 27.89*X3 - 0.84*X1^2 + 1.44*X1*X2 - 0.68*X1*X3 - 0.60*X2^2 + 6.41*X2*X3 - 2.24*X3^2 \dots\dots\dots \text{Ecuación 8}$$

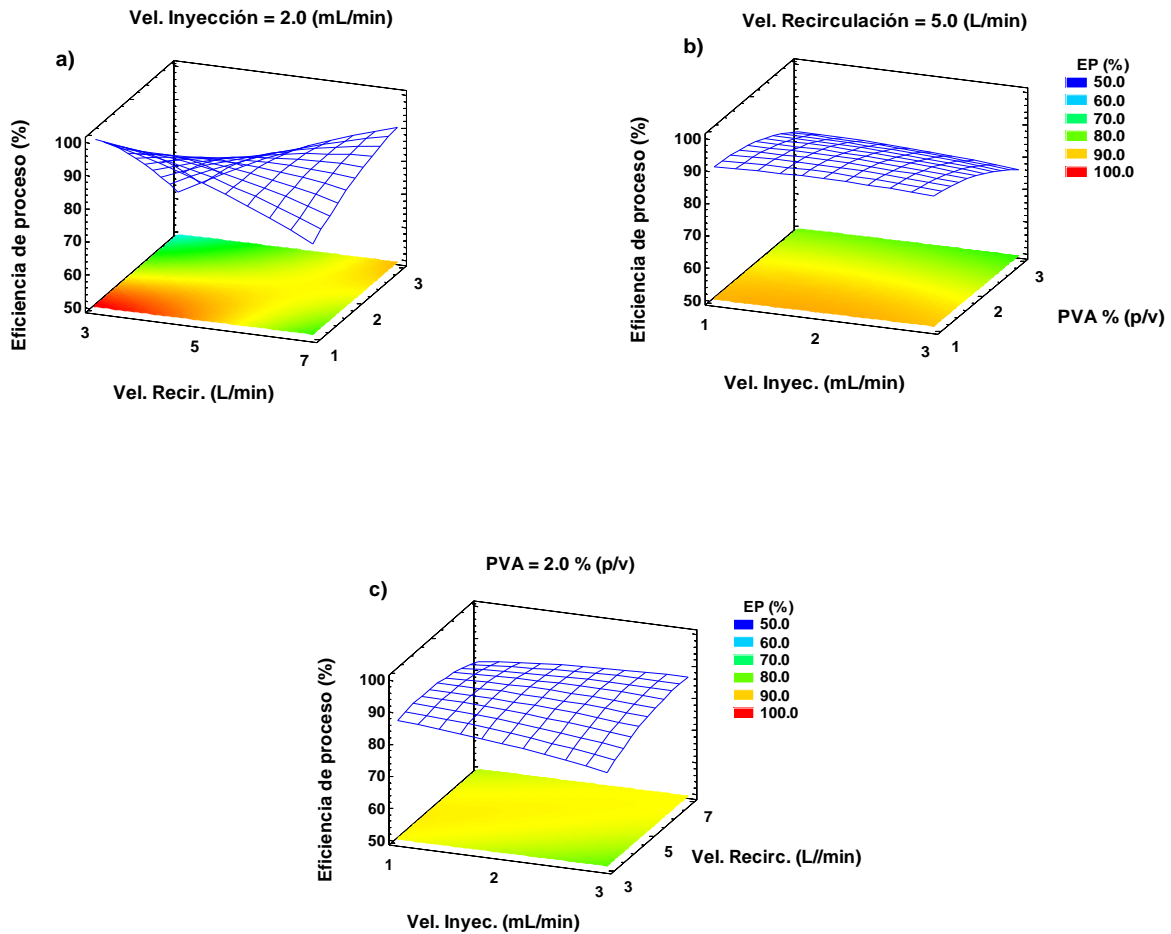


Figura 23. Gráficas de superficie de respuesta de la EP en función de: a) velocidad de recirculación y PVA, b) velocidad de inyección y PVA y c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde EP: Eficiencia de proceso y PVA: Alcohol polivinílico.

$$TP = 231.71 + 16.77 \cdot X_1 - 22.26 \cdot X_2 + 41.17 \cdot X_3 - 4.60 \cdot X_1^2 + 2.61 \cdot X_2 \cdot X_3 - 2.48 \cdot X_1 \cdot X_3 + 1.41 \cdot X_2^2 - 4.46 \cdot X_2 \cdot X_3 - 1.70 \cdot X_3^2 \dots\dots\dots \text{Ecuación 9}$$

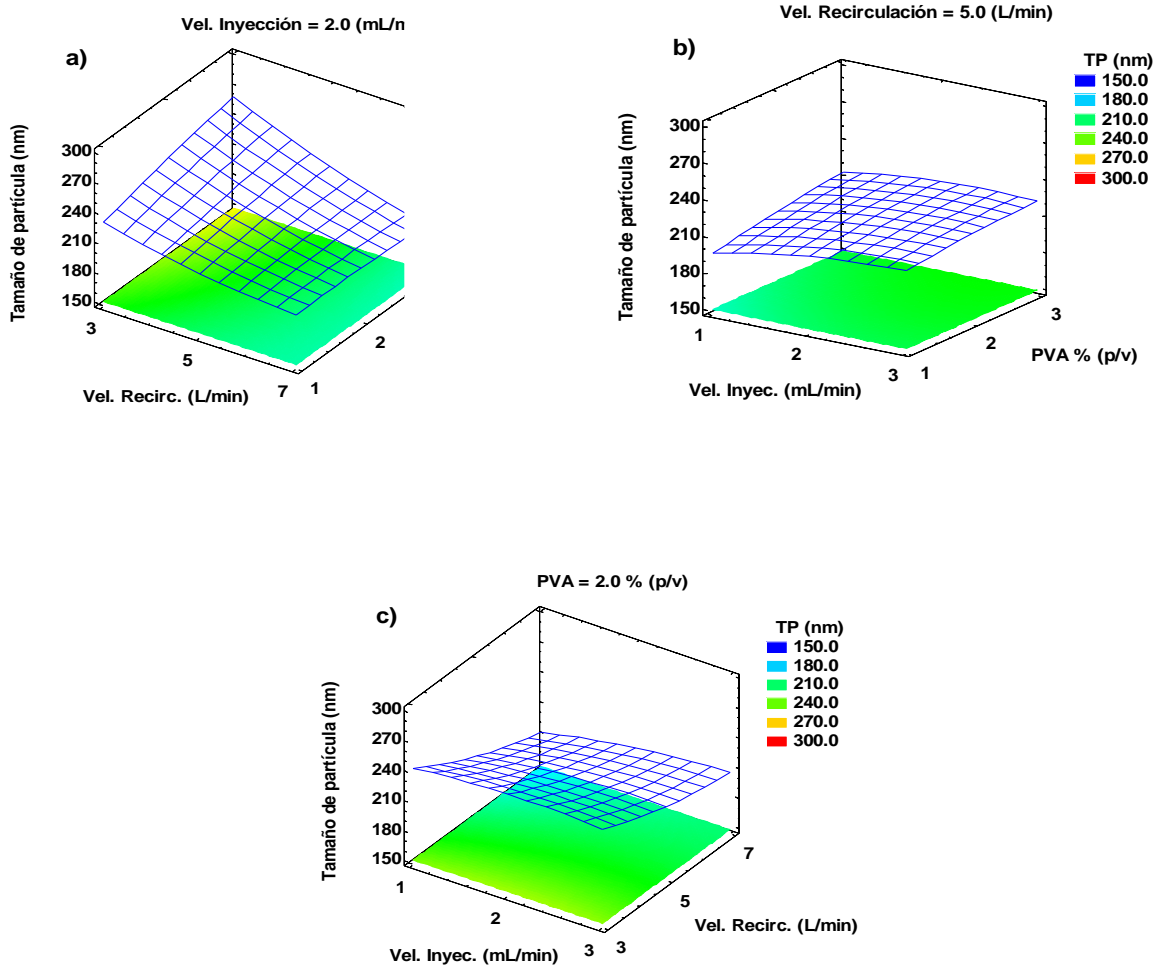


Figura 24. Gráficas de superficie de respuesta del TP en función de: a) velocidad de recirculación y PVA, b) velocidad de inyección y PVA, c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde TP: tamaño de partícula y PVA: alcohol polivinílico.

7.9.3 Índice de polidispersidad

Las gráficas 3D de superficie de respuesta presenta el efecto de las variables independientes sobre el IPD. En las figuras 25a y 25b se observa un valor mínimo de IPD el cual es indicativo de que el TP es más uniforme en el punto central con respecto a la concentración del PVA. Un aumento o disminución a esta concentración origina agregados y poblaciones de NLS de diferentes tamaños. De igual manera se indica el mismo efecto con un valor mínimo para la velocidad de inyección en la figura 25b y 25c. Se observa que la velocidad de recirculación no tuvo efecto significativo sobre el IPD. Sin embargo, el efecto de curvatura en las figuras 25a-c nos indica un fuerte efecto de la concentración del PVA y velocidad de inyección sobre el IPD. La ecuación 9 expresa al modelo ajustado para la variable IPD.

7.9.4 Potencial zeta

El incremento de la velocidad de recirculación en la figura 26a tiene un efecto positivo ya que hay un incremento del PZ sin embargo en la figura 26c se observa un efecto negativo debido a una disminución del PZ. El PVA forma una capa protectora alrededor de las NLS propiciando un efecto estérico además de enmascarar la carga superficial de la NLS de monoleína con un PZ de -25 a -15 mV el cual es menor en comparación a reportes donde una dispersión estable debe tener un PZ > 30 mV (Villafuerte et al. 2008). La concentración de PVA y velocidad de inyección tuvieron un ligero impacto sobre el PZ como se observa en la figura 26b. La curvatura en las figuras 26a y 26c nos indica que la velocidad de recirculación tiene un efecto significativo sobre el PZ. La ecuación 10 muestra el modelo ajustado para el PZ.

$$IPD = 0.91 - 0.34*X1 - 0.06*X2 - 0.29*X3 + 0.09*X1^2 - 0.01*X1*X2 + 0.01*X1*X3 + 0.01*X2^2 + 0.004*X2*X3 + 0.07*X3^2 \dots\dots\dots\text{Ecuación 9}$$

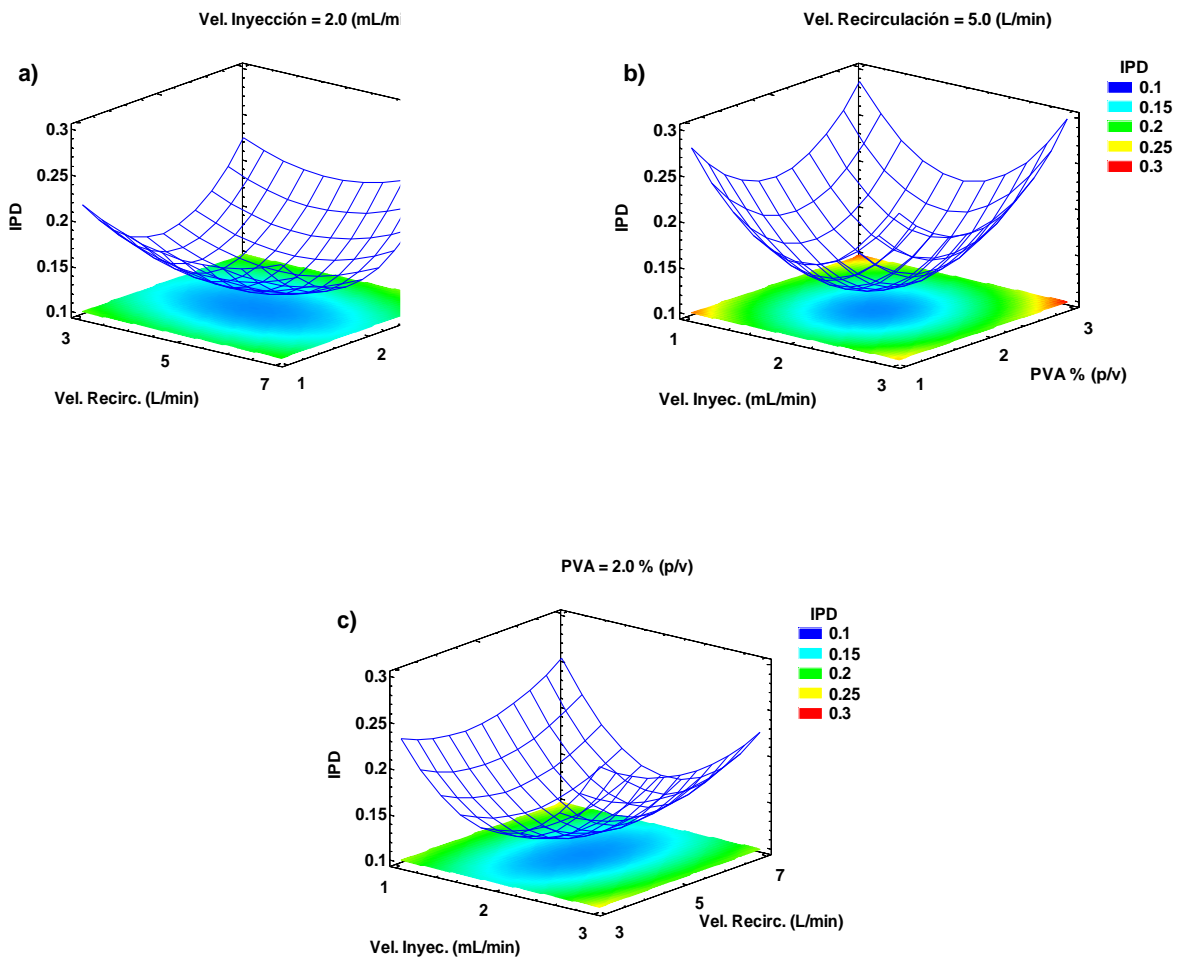


Figura 25. Gráficas de superficie de respuesta del IPD en función de: a) velocidad de recirculación y monoleína, b) velocidad de inyección y monoleína y c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde IPD: Índice de polidispersidad.

$$PZ = -21.58 - 11.25*X1 + 3.66*X2 + 5.01*X3 + 1.68*X1^2 + 1.17*X1*X2 - 0.08*X1*X3 - 0.61*X2^2 - 0.22*X2*X3 - 1.03*X3^2 \dots\dots\dots\text{Ecuación 10}$$

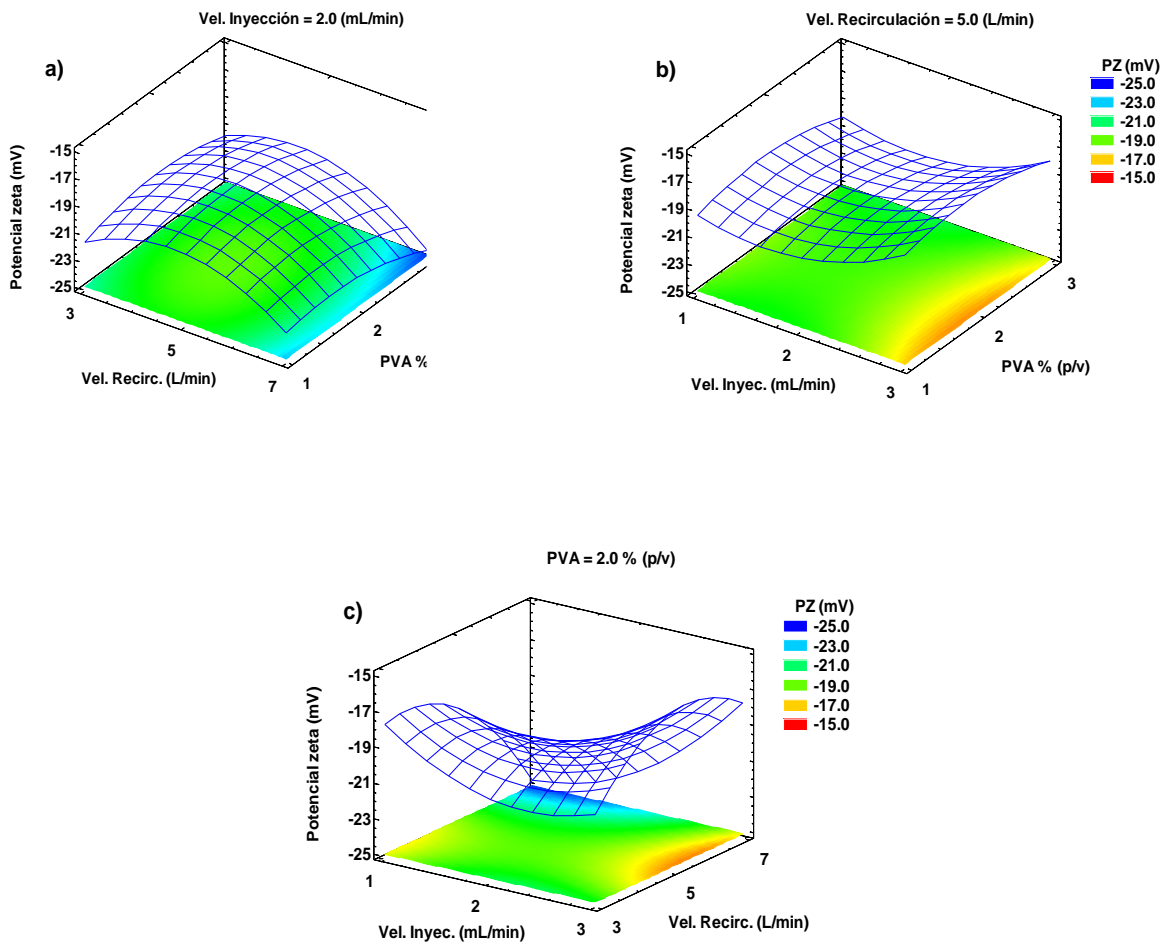


Figura 26. Gráficas de superficie de respuesta del PZ en función de: a) velocidad de recirculación y monoleína, b) velocidad de inyección y monoleína y c) velocidad de inyección y velocidad de recirculación. Donde PZ: Potencial zeta.

7.9.5 Optimización y versatilidad del método del tubo Venturi

Mediante el ANOVA (tabla 19) y diagramas de Pareto (figura 22) se determinó el orden de los factores que afectan la metodología del tubo Venturi, donde la velocidad de recirculación > concentración del estabilizante > velocidad de inyección. Nuestro siguiente paso fue buscar las condiciones óptimas para lograr una EP cercano al 100.0 % y un TP menor a 500 nm. Con el software se obtuvieron los niveles óptimos de los factores estudiados: velocidad de inyección 1.6 mL/min; velocidad de recirculación 4.2 L/min; concentración del estabilizante 1.0 % (p/v) con un factor de $D = 0.84$. Además, obtuvimos una gráfica de Contornos de Superficie (ver figura 27), la cual nos muestra una vista bidimensional de las condiciones de operación con los factores velocidad de inyección y recirculación a una concentración fija de estabilizante al 1.0 % p/v. En la región delineada de verde podemos identificar visualmente el área donde se asocian los valores pronosticados de cada factor para obtener un D de 0.84 %.

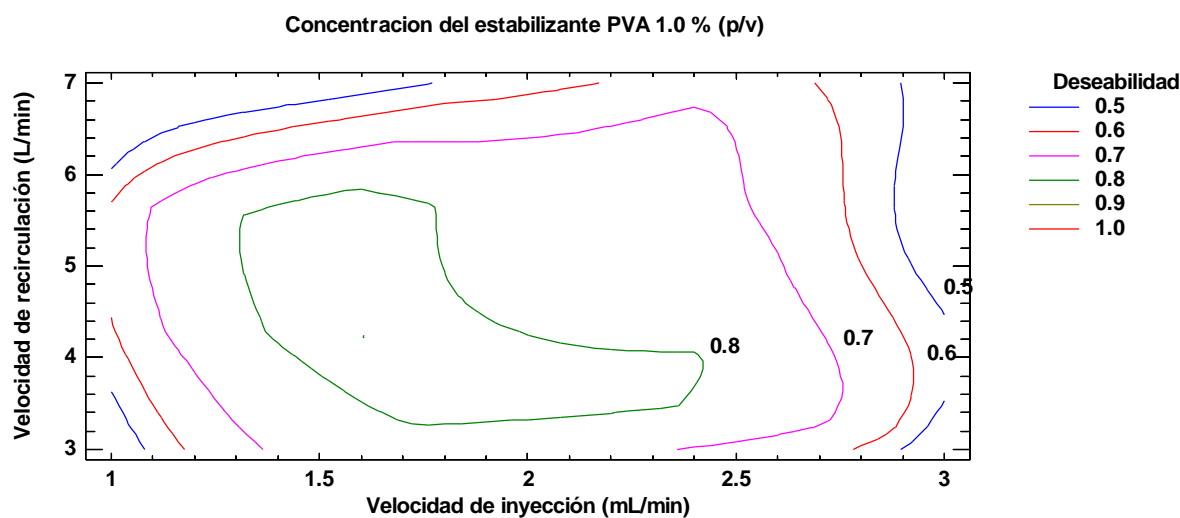


Figura 27. Gráfica de contornos de superficie donde se relacionan los factores: velocidad de inyección y recirculación a una concentración fija de estabilizante al 1.0 % p/v.

Con los valores óptimos de los factores, se realizaron ensayos por triplicado. Los resultados experimentales fueron comparados con los obtenidos por el programa estadístico como se muestra en la tabla 20. Aunque la EP experimental es menor a la esperada estadísticamente, cabe resaltar que el uso de diseños de experimentos aumento el rendimiento de proceso superior al 85.0 % (considerándose aceptable), con un TP menor de 200.0 nm y un PZ aproximadamente de -30.0 mV.

Tabla 20. Comparación de los resultados obtenidos por el programa estadístico (en función de *D*) y experimentales.

	TAMAÑO PARTICULA (nm)	IPD	POTENCIAL ZETA (mV)	EFICIENCIA PROCESO (%)
Valores esperados en función de <i>D</i>	212.0	0.21	-19.9	96.0
Resultados experimentales	183.8 ± 3.1	0.18 ± 0.02	-29.1 ± 2.9	88.6 ± 1.3

Los valores de la optimización a partir de la función de *D* fueron utilizados, con el fin de corroborar la versatilidad del método del tubo Venturi. Se prepararon NLS con otros dos lípidos: ácido esteárico, monoestearato de glicerilo además de utilizar Tween® 80 como estabilizante, los resultados se muestran en la tabla 21.

La talla de partícula obtenida de los diferentes sistemas se basa en sus componentes. Por ejemplo, NLS de monoleína con Tween® 80 (Mon-T80) tienen menor talla de partícula en comparación con NLS de monoleína con PVA (Mon-PVA). Posiblemente se deba a que el Tween® 80 tiene un peso molecular ($M_w = 1310$) menor al PVA ($M_w = 31,000$), por lo que puede cubrir la superficie de las

NLS más rápidamente que surfactantes con alto peso molecular (Ebrahimi et al. 2015).

Tabla 21. Preparación de NLS mediante la metodología del tubo Venturi con diferentes lípidos y estabilizantes.

NLS	TAMAÑO PARTICULA (nm)	IPD	POTENCIAL ZETA (mV)	EFICIENCIA PROCESO (%)
Mon-PVA	184 ± 3	0.18 ± 0.01	-30 ± 2	88.57 ± 1.34
Mon-T80	101 ± 7	0.29 ± 0.06	-25 ± 3	86.87 ± 1.50
AE- PVA	467 ± 33	0.28 ± 0.02	-28 ± 1	49.05 ± 1.95
AE-T80	1028 ± 203	0.72 ± 0.16	-35 ± 4	83.82 ± 7.13
MSG-PVA	568 ± 113	0.57 ± 0.09	-42 ± 3	19.87 ± 9.25
MSG-T80	309 ± 16	0.41 ± 0.02	-30 ± 2	86.30 ± 0.82

Mon-PVA: monoleína-alcohol polivinílico; Mon-T80: monoleína-Tween® 80; AE-PVA: ácido esteárico-alcohol polivinílico; AE-T80: ácido esteárico-Tween® 80; MSG-PVA: monoestearato de glicerilo-alcohol polivinílico; MSG-T80: monoestearato de glicerilo-Tween® 80.

El IPD es un parámetro que muestra la dispersión del TP en una muestra. El equipo mide la variación del TP de la muestra mediante un histograma de distribución. Los valores obtenidos pueden ser de 0 a 1. Un valor cercano a 1 indica una población polidispersa (amplio rango de tamaños con dos o más poblaciones de partículas),

mientras que un valor cercano a 0 se tiene una población monodispersa (un tamaño uniforme o una población de partículas).

Se han reportado dispersiones con un valor de IPD > 0.3 las cuales tienden aglomerarse, debido a bajas fuerzas de repulsión (Beck-Broichsitter et al. 2010). NLS de ácido esteárico y monoestearato de glicerilo tienen un IPD > 0.3 mientras que NLS de monoleína con valor de IPD < 0.3 . El valor de IPD de las NLS de monoleína nos indica altas fuerzas de repulsión previniendo su agregación, siendo estas más estables por tiempos prolongados en comparación a las demás formulaciones.

En el caso de NLS de monoestearato de glicerilo con PVA (MSG-PVA) y ácido esteárico con PVA (AE-PVA), su EP estuvo por debajo de las demás formulaciones; posiblemente porque no se trabajó con la concentración del estabilizante adecuada. Mehnert and Mader (2001) mencionan que un incremento en la concentración de estabilizante reduce la tensión superficial y facilita la partición de las partículas durante su homogenización. Reportes en bibliografía revelan que el uso de estabilizantes al 1 % forma agregados de NLS de monoestearato de glicerilo (Trotta, Debernardi, and Caputo 2003). Estos autores trabajaron con mezclas de tensoactivos iónicos y no iónicos para obtener un efecto sinérgico obteniendo dispersiones estables de NLS de monoestearato de glicerilo.

El PZ es un importante indicador de estabilidad de una dispersión. Un PZ mayor a -30.0 mV indican una dispersión estable, debido a que las cargas de las partículas se repelen unas contras y supera la tendencia natural a agregarse. Esta regla no es estrictamente aplicada a sistemas que contienen estabilizadores estéricos como el PVA los cuales disminuyen el PZ debido a que el estabilizante se adsorbe sobre la partícula formando una capa, como consecuencia se modifica la carga superficial de la partícula, provocando un desplazamiento de la capa difusa (Heurtault et al.

2003) en el seno de la disolución de la partícula por el estabilizante. NLS preparadas de ácido esteárico con Tween® 80 (AE-T80) y monoestearato de glicerilo con Tween® 80 (MSG-T80) muestran una mayor EP en comparación a NLS con PVA, debido a que el Tween® 80 tiene balance lipofílico-hidrofílico (HLB) de 15 el cual favorece la preparación de nanoemulsiones O/W (Flores-Miranda, Valencia del Toro, and Yañez-Fernandez 2015). Valores de HLB de 12 – 16 son considerados idóneos para la producción de emulsiones estables O/W (Das, Nag, and Tan 2012).

La solubilidad del lípido tiene un fuerte impacto sobre la EP. Entre mayor sea la solubilidad del lípido en la fase orgánica permite una mayor difusión hacia la acusa, resultando en una completa formación de lípido en NLS debido a una expansión de la fase orgánica al entrar en contacto con un no disolvente. La EP en nuestra metodología fue en el siguiente orden: NLS de Monoleína > NLS de Ácido esteárico > NLS de Monoestearato de glicerilo. Lo anterior se ve relacionado con pruebas preliminares de la solubilidad de los lípidos presentada en acetona con la misma tendencia.

PREPARACION DE EMULSIONES POR LA REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN

En esta segunda parte del proyecto se prepararon emulsiones mediante la reacción de saponificación. En este tipo de reacciones los grupos ésteres ($\text{RCOO-R}'$) de los aceites, ceras y grasas, son hidrolizados mediante soluciones alcalinas las cuales generan un surfactante *in situ* para formar emulsiones estables. En el presente proyecto nos enfocamos a la obtención de emulsiones con un uso potencial en el área cosmética.

7.10 Selección de materiales para preparar emulsiones mediante el uso de disolventes orgánicos por inyección-agitación

La reacción de saponificación generalmente se lleva en dos contenedores donde uno tiene los ingredientes lipídicos o grasos, en otro se tienen los hidróxidos y demás ingredientes acuosos. Ambos son calentados a una temperatura mayor de 75°C y mezclados, posteriormente se enfrían por agitación hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esto genera el uso de grandes cantidades de energía y tiempo, en nuestro proyecto proponemos preparar emulsiones a temperatura ambiente con ventajas en ahorro energético y tiempo, además un método fácil y sencillo de implementar.

Para el desarrollo de una nueva metodología, nuestro primer paso fue la selección de los componentes de la formulación: lípidos, estabilizantes, disolventes, entre otros. El lípido seleccionado fue el ácido esteárico, generalmente usado por su bajo precio y efecto perlescente que proporciona a las emulsiones. Este lípido se usa en una gran variedad de emulsiones como base o de día, para manos y cuerpo, además se ha utilizado como estabilizante, espesante, lubricante, etc. (Alegria-Medina and Amaya-Rivera 2007). La elección del álcali se ve reflejado en la apariencia y textura de la emulsión. Éstas pueden ser preparadas con hidróxido de

sodio, pero son más viscosas que las preparadas con hidróxido de potasio. Por lo tanto, se utilizó TEA, debido a que se obtienen emulsiones con una textura agradable de fácil evanescencia (Poucher 1984). Para llevar a cabo la metodología a temperatura ambiente, se utilizaron tres disolventes: metanol, metiletilcetona y acetato de etilo los cuales son aceptados para uso cosmético (Secretaria de Salud 2010) y farmacéutico (FDA 2017).

Después de seleccionar los componentes de la emulsión, se prosiguió a su preparación. La fase lipídica a una temperatura menor de 45 °C fue inyectada hacia la fase acuosa en constante agitación mecánica, se observó que si la temperatura de la fase lipídica disminuye por debajo de los 40°C empieza a solidificarse. Los resultados de las evaluaciones se encuentran en la tabla 22.

La evaluación organoléptica de las emulsiones indicó que las emulsiones son idénticas en color, apariencia y textura. Se observó una disminución del tamaño de glóbulo de las emulsiones preparadas con siguientes disolventes orgánicos: 20.1 µm, acetato de etilo; 10.2 µm, metanol y 7.8 µm, metiletilcetona, el cual tiene un efecto directo con la estabilidad del sistema. A menor tamaño de glóbulo se tiene una emulsión más estable y entre mayor sea el tamaño de glóbulo, mayor es la tendencia a sedimentar. Entre las evaluaciones más significativos de una emulsión es la estabilidad, la cual se realizó por centrifugado. La prueba de centrifugado es una condición extrema que se le realiza a las emulsiones, con el fin de predecir la estabilidad del producto. Esta prueba acelera el proceso de floculación y sedimentación (Badolato et al. 2008). Los resultados experimentales mostraron que no hay precipitado alguno, lo que comprueba la eficiencia de la reacción de saponificación entre el ácido esteárico y la TEA en la formulación propuesta.

Tabla 22. Evaluaciones de las emulsiones preparadas por el método de inyección-agitación con diferentes disolventes orgánicos.

Propiedades organolépticas	Acetato de etilo	Metanol	Metiletilcetona
<i>Color</i>	Blanco	Blanco	Blanco
<i>Olor</i>	Característico	Característico	Característico
<i>Apariencia</i>	Perlado	Perlado	Perlado
<i>Textura</i>	Evanescente	Evanescente	Evanescente
Propiedades físicas			
<i>Gravedad específica</i>	0.95	0.94	0.95
<i>Viscosidad (cps)</i>	300	506	466
<i>Pruebas de estabilidad</i>	No hay precipitado	No hay precipitado	No hay precipitado
<i>Tamaño de glóbulo (μm)</i>	20.1	10.2	7.8
<i>pH</i>	7.3	7.3	7.4

En la reacción de saponificación del ácido esteárico y la TEA forman un tensoactivo aniónico, el estearato de trietanolamina o también conocido como jabón de TEA (Zhu et al. 2005). Es una molécula anfifílica debido a que en su estructura contiene dos grupos químicamente opuestos: uno polar y uno no polar, su presencia en la emulsificación es vital para su formación y estabilización. Este tipo de tensoactivos tienen dos funciones principales: a) disminuir los requerimientos de la energía superficial, lo que reduce el trabajo necesario para dispersar una de las fases en forma de pequeñas gotas, en otras palabras, abate la tensión superficial disminuyendo la energía superficial, así las moléculas del estearato de trietanolamina forman monocapas orientadas en la interfase líquido-líquido; b) retarda el proceso de las gotas a restituirse para formar dos fases nuevamente, como consecuencia de la primera función, el tensoactivo forma algún tipo de película o barrera interfacial (monomolecular estérica o cristales líquidos) que

prevendrán o retardarán la floculación y por lo tanto la coalescencia de las gotas. (Lazo Jimenez 1996).

El pH de las emulsiones fue en promedio de 7.3 debido al uso de TEA, éste, al reaccionar con ácidos grasos esteáricos u oleicos, forman jabones y presentan un pH > 7.0 o ligeramente básico. La viscosidad de las emulsiones fue la siguiente: acetato de etilo, 300 cps; metiletilcetona, 466 cps; metanol, 506 cps. La baja viscosidad en emulsiones preparadas con ácido esteárico se puede atribuir a la reducción del área de la interface aceite-agua debido a la formación de gotas secundarias favorecidas por la presencia de estructuras líquidas – cristalinas (Pascuali and Bregni 2006) lo cual mantiene a la emulsión en un estado de floculación, es decir grandes conglomerados en equilibrio con pequeñas gotas (Lazo Jimenez 1996). Este tipo emulsiones líquidas son viables para trasladar la metodología de inyección-agitación hacia la metodología del tubo Venturi, ya que es necesario tener una emulsión con suficiente fluidez para que pueda recircular a través de sistema Venturi, y que la fase lipídica no se solidifique antes de ser inyectada a la garganta del dispositivo.

7.11 Preparación de emulsiones por medio del tubo Venturi

Después de preparar emulsiones por el método de inyección-agitación con diferentes disolventes orgánicos y caracterizarlas por ensayos físicos como estabilidad, tamaño de glóbulo, pH y viscosidad; los cuales nos permitieron evaluar el efecto de los componentes principales presentes en la formulación sobre las propiedades esperadas de la emulsión. Con el objetivo de obtener evidencia documentada del comportamiento de la emulsión, para determinar que sus características de calidad fueran aceptables.

Nos dimos a la tarea de implementar una metodología para producir emulsiones por medio del tubo Venturi, tomando los parámetros de las metodologías para la preparación de nanopartículas (velocidad de inyección de 2mL/min y velocidad de recirculación de 4 L/min). La formulación propuesta contiene los ingredientes básicos para obtener emulsiones cosméticas líquidas utilizando acetato de etilo como disolvente orgánico debido a que emulsiones por inyección-agitación presentaban la viscosidad más baja entre los tres disolventes utilizado. El sistema de recirculación del tubo Venturi sólo permite obtener dispersiones fluidas; por lo que emulsiones líquidas pueden ser preparadas por este dispositivo. Los resultados se observan en la tabla 23.

Tabla 23. Evaluaciones de las emulsiones preparadas con el tubo Venturi.

Propiedades organolépticas	
<i>Color</i>	Blanco
<i>Olor</i>	Característico
<i>Apariencia</i>	Perlado
<i>Textura</i>	Evanescente
Propiedades físicas	
<i>Gravedad específica</i>	0.95 ± 0.02
<i>Viscosidad (cps)</i>	866 ± 132
<i>Pruebas de estabilidad</i>	No hay precipitado
<i>Tamaño de glóbulo (µm)</i>	2.2 ± 0.56
<i>pH</i>	8.2 ± 0.15

La inclusión de un disolvente orgánico para la solubilidad de los lípidos de la fase oleosa a una temperatura menor de 45° C permite su inyección al tubo Venturi para

la formación de emulsiones sin la necesidad de fundirlos a una temperatura mayor a 75 °C. Las propiedades organolépticas de las emulsiones por tubo Venturi son idénticas a las preparadas por inyección-agitación. La viscosidad obtenida de 866 ± 132 cps fue mayor en comparación con el sistema inyección-agitación debido a que tiene un mayor número de componentes en la fase oleosa (alcohol cetílico y lanolina).

Emulsiones cosméticas con viscosidades menores de 1000 cps pueden ser obtenidas por el método del tubo Venturi con una alta calidad y bajo costo. La estabilidad de la emulsión fue verificada, ya que no se observó separación de fases. Su valor de pH fue de 8.2 ± 0.15 . El tamaño del glóbulo ($2.2 \pm 0.5 \mu\text{m}$) por tubo Venturi fue menor en comparación al obtenido con el método de inyección-agitación ($20.1 \mu\text{m}$, acetato de etilo). Esta disminución se debe por el tipo de mezclado. Cuando las dos fases son mezcladas en la garganta del tubo Venturi, su homogeneidad es asegurada por la turbulencia, debido, a las diferencias de presión que ocasionan un cizallamiento de ambos fluidos formando glóbulos de menor tamaño.

La reacción de saponificación genera un surfactante como el estearato de trietanolamina en la interfase de la emulsión. Este tipo de surfactantes *in situ* puede reducir la cantidad de tiempo requerido para la emulsificación, pudiendo ser efectivo si la dinámica de la reacción es suficientemente rápido (Powell and Chauhan 2016).

8. CONCLUSIONES

1. Se desarrollo una metodología que involucra al tubo Venturi como dispositivo de mezclado sin el uso de agitación mecánica y temperatura para preparar nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona y monoleína. Este sistema puede desarrollar un flujo turbulento con $Re > 4000$, valor necesario para obtener nanodispersiones con tamaño nanométrico y eficiencias de proceso cercano al 100 %.
2. Con la metodología desarrollada, se puede controlar la turbulencia para obtener nanopartículas de tamaño y EP de acuerdo con las necesidades requeridas; de modo que nuestra propuesta representa una considerable ventaja tecnológica debido a que es una tecnología fácil y económica, disminución en espacios y mantenimiento requeridos, así como un bajo consumo de energía.
3. Con relación a las nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona:
 - a) El TP de las nanopartículas obtenidas por la metodología del tubo Venturi con una concentración del 2.0 % de poli- ϵ -caprolactona fue menor (353 nm) en comparación al conseguido con el MCDD (422 nm). En cuanto a la EP, por la técnica del tubo Venturi fue mayor (84.1 %) a la metodología del MCDD (81.0%) a concentraciones mayores del 4.0 % de polímero.
 - b) La metodología del tubo Venturi se optimizó por medio de un DCC habiendo obtenido los siguientes parámetros: concentración de polímero 1.6 % (p/v), velocidad de recirculación 4.8 (L/min), concentración del estabilizante 1.1 %

(p/v). Con estos factores se obtuvieron nanopartículas con: TP, 306 nm, IPD, 0.1, EP, 99.0 %.

- c) Se comprobó la versatilidad del método del tubo Venturi utilizando PLGA, poli- ϵ -caprolactona y acetato ftalato de celulosa como polímeros; además PVA y Poloxámero como estabilizantes obteniendo nanopartículas con TP < 500.0 nm y EP > cercana al 100.0 %.

4. Con relación a las nanopartículas de monoleína:

- a) Se consiguió optimizar su proceso de elaboración con la metodología del tubo Venturi, utilizando para ello un diseño Box-Behnken y obteniéndose los siguientes valores: velocidad de inyección 1.6 mL/min; velocidad de recirculación, 4.2 L/min; concentración del estabilizante 1.0 % (p/v), consiguiendo nanopartículas con: TP, 184 nm, IPD, 0.18, PZ, -30.2, EP, 89.0 %.

- b) Se verificó la versatilidad de la metodología del tubo Venturi con tres lípidos: Ácido esteárico, Monoestearato de Glicerilo y Monoleína y dos estabilizantes: PVA y Tween® 80 obteniendo nanopartículas con TP < 500.0 nm y EP > cercana al 100.0 %.

- 5.** Con respecto a la obtención de emulsiones por reacción de saponificación, se implementó una metodología para obtener emulsiones cosméticas utilizando el tubo Venturi como dispositivo de mezclado sin la necesidad de calentamiento de ambas fases a temperatura mayores a 75 °C; únicamente se requiere mantener los componentes solubles con una cantidad mínima de disolvente orgánico. Lo anterior implica ventajas como: proceso más simple

y económico, evitando tiempos prolongados de calentamiento y degradación de principios activos.

6. Las emulsiones así obtenidas, se caracterizan porque:

- a) Las emulsiones tuvieron apariencia perlescente, de olor característico y con buena fluidez; habiendo utilizado para la saponificación ácido esteárico como lípido y TEA como álcali; aplicando la técnica de inyección-agitación y tubo Venturi a una temperatura menor de 45 °C para la disolución de un lípido con diferentes disolventes orgánicos.
- b) Mediante la técnica de inyección-agitación se obtuvieron emulsiones con un pH 7.3, viscosidad 300 cps, tamaño de glóbulo 20.1 µm y sin separación en la prueba de estabilidad.
- c) Las emulsiones por la técnica del tubo Venturi tuvieron los siguientes valores: pH 8.1, viscosidad de 866 cps, tamaño de glóbulo 2.2 µm, no observándose separación en la prueba de estabilidad.

9. PERSPECTIVAS

Debido a la versatilidad de la metodología acoplada al tubo Venturi en la preparación de nanopartículas poliméricas y lipídicas, así como emulsiones cosméticas, esta nueva técnica puede tener un impacto industrial en áreas como la farmacéutica, cosmética y/o alimentos.

Las siguientes innovaciones pueden derivarse de la metodología del tubo Venturi.

- a) La inclusión de principios activos en nanopartículas y emulsiones por la metodología de tubo Venturi en frío y caliente.
- b) Implementación de sistemas de mezclado como: mezclado líquido-gas, líquido-líquido, sólido-líquido mediante el tubo Venturi.
- c) Evaluar el posible escalamiento, implementación y desarrollo del proceso de producción de un producto farmacéutico o cosmético mediante la técnica del tubo Venturi.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelwahed, Wassim, Ghania Degobert, Serge Stainmesse, and Hatem Fessi. 2006. "Freeze-Drying of Nanoparticles: Formulation, Process and Storage Considerations." *Advanced Drug Delivery Reviews* 58 (15): 1688–1713. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017>.
- Alegria- Medina, Giovanni, and Claudia Amaya-Rivera. 2007. "Recopilacion De Monografias De Excipientes Y Vehículos Utilizados En La Fabricación De Medicamentos Y Cosméticos En La Catedra De Tecnología Farmacéutica." Universidad de el Salvador.
- ASME. 2005. "Measurement of Fluid Flow in Pipes Using Orifice, Nozzle, and Venturi." 2004th ed. New York: The American Society of Mechanical Engineers.
- Atenco- Castro, Lucia. 1998. "Aplicación Del Diseño de Experimentos Para Optimizar La Viscosidad En La Fabricación de Un Antihistanimico." Univesidad Nacional Autonoma de Mexico.
- Badolato, G. G., F. Aguilar, H. P. Schuchmann, T. Sobisch, and D. Lerche. 2008. "Evaluation of Long Term Stability of Model Emulsions by Multisample Analytical Centrifugation." *Progress in Colloid and Polymer Science* 134 (May): 66–73. https://doi.org/10.1007/2882_2008_076.
- Baizabal González, Alejandro, and Iran Yahir Roa Arenas. 2013. "Análisis de Una Variante de Bombeo Neumático Utilizando Tecnología Venturi En Campos de Crudo Pesado." Univesidad Nacional Autonoma de México.
- Bavna, Ali M., Baboota S., Ali J. 2008. "Patents on Nanoparticulate Drug Delivery System - A Review." *Recet Patents on Drug Delyvery and Formulations* 2: 83–89.
- Beck-Broichsitter, Moritz, Erik Rytting, Tobias Lehardt, Xiaoying Wang, and Thomas Kissel. 2010. "Preparation of Nanoparticles by Solvent Displacement for Drug Delivery: A Shift in the ' Ouzo Region ' upon Drug Loading." In *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41:244–53. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.06.007>.
- Boehm, A. L., I. Martinon, R. Zerrouk, E. Rump, and H. Fessi. 2003. "Nanoprecipitation Technique for the Encapsulation of Agrochemical Active Ingredients." *Journal of Microencapsulation* 20 (4): 433–41. <https://doi.org/10.1080/0265204021000058410>.
- Chacon, M, L Berger, M R Molpeceres, M. R Aberturas, and M Guzman. 1996. "Optimized Preparation of Poly D , L (Lactic-Glycolic) Microspheres and Nanoparticles for Oral Administration." *International Journal of Pharmaceutics* 141: 81–91.
- Christofoli, Marcela, Eliangela Cristina Candida Costa, Keylla U. Bicalho, Vanessa

- de Cássia Domingues, Márcio Fernandes Peixoto, Cassia Cristina Fernandes Alves, Wagner L. Araújo, and Cristiane de Melo Casal. 2015. "Insecticidal Effect of Nanoencapsulated Essential Oils from *Zanthoxylum Rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia Tabaci* Populations." *Industrial Crops and Products* 70: 301–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.025>.
- Collins, Ralph D., and Don c. Willis. 1970. Fluid Mixing Device. 3,504,702, issued 1970.
- Cortie, M B, and E Van Der Lingen. 2002. "CATALYTIC GOLD NANO-PARTICLES." *Materials Forum* 26: 1–14.
- Cotter, Sara C. 1979. "A Screening Design for Factorial Experiments with Interactions." *Biometrika Trust* 66 (2): 317–20.
- Dadd, R. 1980. United States Patent (19), issued 1980. <https://doi.org/US005485919A>.
- Das, S, W K Nag, and R B H Tan. 2012. "Are Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) Better than Solid Lipid Nanoparticles (SLNs): Development, Characterisations and Comparative Evaluations of Clotrimazole-Loaded SLNs and NLCs?" *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 47 (1): 139–51. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.05.010>.
- Draheim, C., F. De Crécy, S. Hansen, C. Eva-Maria, and L. Claus-Michel. 2015. "A Design of Experiment Study of Nanoprecipitation and Nano Spray Drying as Processes to Prepare PLGA Nano-and Microparticulas with Defined Sizes and Size Distributions." *Pharmaceutical Research* 32 (8): 2609–24.
- Ebrahimi, Hossein Ali, Yousef Javadzadeh, Mehrdad Hamidi, and Mohammad Barzegar Jalali. 2015. "Repaglinide-Loaded Solid Lipid Nanoparticles : Effect of Using Different Surfactants / Stabilizers on Physicochemical Properties of Nanoparticles." *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 23 (46): 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40199-015-0128-3>.
- Escalona-Rayo, Oscar, Paulina Fuentes-vázquez, Gerardo Leyva-gómez, Bulmaro Cisneros, Rafael Villalobos, Jonathan J Magaña, and David Quintanar-Guerrero. 2017. "Nanoparticulate Strategies for the Treatment of Polyglutamine Diseases by Halting the Protein Aggregation Process." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 43 (6): 871–888. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1281949>.
- FDA. 2017. "Q3C — Tables and List Guidance for Industry Q3C — Tables and List Guidance for Industry Q3C — Tables and List Guidance for Industry." Microsoft Word. 2017. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.
- Fessi, H., F. Puisieux, J.P. Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita. 1989. "Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent

- Displacement." *International Journal of Pharmaceutics* 55: R1–4.
- Fitó, Carme. 2012. "Emulsiones En Frío : Ahorro Energético y Mucho Más." *NCP* Enero-Febr: 11–15.
- Flores-Miranda, G.A., G Valencia del Toro, and J Yañez-Fernandez. 2015. "STABILITY EVALUATION OF β -CAROTENE NANOEMULSIONS PREPARED BY HOMOGENIZATION-EMULSIFICATION PROCESS USING STEARIC ACID AS OIL PHASE." *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14 (3): 667–80.
- Galindo-Rodriguez, Sergio, Eric Alleman, Hatem Fessi, and Eric Doelker. 2004. "Physicochemical Parameters Associated with Nanoparticle Formation in the Salting-out , Nanoprecipitation Methods." *Pharmaceutical Research* 21 (8): 1428–39.
- Ganem-Quintanar, Adriana, David Quintanar-Guerrero, and Pierre Buri. 2000. "Monoolein: A Review of the Pharmaceutical Applications." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 26 (8): 809–20. <https://doi.org/10.1081/DDC-100101304>.
- Garcia Prats, A, and R Cobacho Jordan. 2012. *Fundamentos de Mecanica de Fluidos*. Editorial Universitat Politècnica de Valencia.
- Ghanem, Akram, Thierry Lemenand, Dominique Della, and Hassan Peerhossaini. 2014. "Static Mixers : Mechanisms , Applications , and Characterization Methods – A Review." *Chemical Engineering Research and Design* 92: 205–28. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.07.013>.
- Gonçalves, J. A.S., M. A.M. Costa, M. L. Aguiar, and J. R. Coury. 2003. "Atomization of Liquids in a Pease-Anthony Venturi Scrubber: Part I. Jet Dynamics." *Journal of Hazardous Materials* 97: 267–79. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.08.030>.
- Grande, G Actis, A Pezzin, and G Rovero. 2014. "Pump and Ejector Design in Wastewater Treatment Pilot Equipment." In *Comsol Conference*, 3.
- Gutierrez, H, and R de laVara. 2012. *Analisis y Diseño de Experimentos*. 3a ed. Mexico: Mc-Graw Hill.
- Heryanto, Rudi, Masitah Hasan, Ezzat Chan Abdullah, and Andri Cahyo Kumoro. 2007. "Solubility of Stearic Acid in Varios Organic Solvents and Its Prediction Using Non-Ideal Solution Models." *ScienceAsia* 33 (4): 469. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.469>.
- Heurtault, Beatrice, Patrick Saulnier, Brigitte Pech, Jacques-emile Proust, and Jean-pierre Benoit. 2003. "Physico-Chemical Stability of Colloidal Lipid Particles." *Biomaterials* 24: 4283–4300. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00331-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00331-4).
- Hockenyous, G. 1929. "Triethanolamine Oleate for Oil Sprays '." *Industrial and Engineering Chemistry* 21 (7): 647–48.

- Hu, F. Q., H. Yuan, H. H. Zhang, and M. Fang. 2002. "Preparation of Solid Lipid Nanoparticles with Clobetasol Propionate by a Novel Solvent Diffusion Method in Aqueous System and Physicochemical Characterization." *International Journal of Pharmaceutics* 239 (1–2): 121–28. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00081-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00081-9).
- ISO. 2003. "Measurement of Fluid Flow by Means of Pressure Differential Devices Inserted in Circular Cross-Section Conduits Running Full." Geneva, Switzerland: ISO.
- Jores, Katja, Wolfgang Mehnert, Heike Bunjes, and Markus Drechsler. 2003. "From Solid Lipid Nanoparticles (SLN) to Nanospoons. Visions and Reality of Colloidal Lipid Dispersions." *30th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Material*, 1–2.
- Joye, Iris Julie, and David Julian McClements. 2014. "Biopolymer-Based Nanoparticles and Microparticles: Fabrication, Characterization, and Application." *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 19 (5): 417–27. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.07.002>.
- Kazu Matsuura, Naruto. 2014. Seawater Desalination apparatus. US 2014/0048467 A1, issued 2014. <https://doi.org/10.1037/t24245-000>.
- Kreuter, Jorg. 2007. "Nanoparticles — a Historical Perspective." *International Journal of Pharmaceutics* 331: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.021>.
- Kulkarni, Chandrashekhar V., Wolfgang Wachter, Guillermo Iglesias-Salto, Sandra Engelskirchen, and Silvia Ahualli. 2011. "Monoolein: A Magic Lipid?" *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (8): 3004–21. <https://doi.org/10.1039/C0CP01539C>.
- Lashmore, D, J Chafee, and M Schurer. 2008. Injector Apparatus and Methods for Production of Nanostructures.pdf. WO 2008/157520 A1, issued 2008.
- Lazo Jimenez, Luz M. 1996. "Estructura, Termodinamica y HLB En La Estabilidad de Emulsiones.Pdf." UNAM.
- Legrand, Philippe, Sylviane Lesieur, Ruxandra Gref, Wouter Raatjes, Gillian Barratt, and Christine Vauthier. 2007. "Influence of Polymer Behaviour in Organic Solution on the Production of Polylactide Nanoparticles by Nanoprecipitation." *International Journal of Pharmaceutics* 344: 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.05.054>.
- Lourenco, Cristina, Maribel Teixeira, Sérgio Simões, and Rogério Gaspar. 1996. "International Journal of Pharmaceutics Steric Stabilization of Nanoparticles: Size and Surface Properties." *International Journal of Pharmaceutics* 138 (96): 1–12.
- Martínez Rivas, Claudia Janeth, Mohamad Tarhini, Waisudin Badri, Karim Miladi, Hélène Greige-Gerges, Qand Agha Nazari, Sergio Arturo Galindo Rodríguez, Rocío Álvarez Román, Hatem Fessi, and Abdelhamid Elaissari. 2017.

- “Nanoprecipitation Process: From Encapsulation to Drug Delivery.” *International Journal of Pharmaceutics* 532 (1): 66–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.08.064>.
- McCabe, W L, J C Smith, and P Harriot. 2007. “Transporte y Medicion de Fluidos.” In *Operaciones Unitarias En Ingenieria Química*, 7a ed., 207–70. México: McGraw Hill Interamericana.
- Mehnert, Wolfgang, and Karsten Mader. 2001. “Solid Lipid Nanoparticles Production, Characterization and Applications.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 47: 165–96. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00105-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00105-3).
- Mocjk, F C, and M E Chandler. 1933. Carburetor. 1,933,380, issued 1933.
- Montgomery, Douglas C. 2004. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Limusa Wiley. Segunda. Arizo, USA: Limusa Wiley. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00005-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00005-2).
- Mora-Huertas, C.E., H Fessi, and A Elaissari. 2011. “Influence of Process and Formulation Parameters on the Formation of Submicron Particles by Solven Displacement and Emulsification-Diffusion Methods: Critical Comparasion.” *Advances in Colloid and Interface Science* 163: 90–122.
- Murakami, Hideki, Masao Kobayashi, and Hirofumi Takeuchi. 1999. “Preparation of Poly (DL -Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles by Modified Spontaneous Emulsification Solvent Diffusion Method.” *International Journal of Pharmaceutics* 187: 143–52.
- Nagavarma, B V N, Hemant K S Yadav, a Ayaz, L S Vasudha, and H G Shivakumar. 2012. “Different Techniques for Preparation of Polymeric Nanoparticles - a Review.” *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5 (3): 16–23.
- Niwa, T, H Takeuchi, T Hino, N Kunou, and Y Kawashima. 1993. “Preparation of Biodegradable Nanospheres of Water-Soluble and Insoluble Drugs with D , L- Lactide /Glycolide Copolymer by a Novel Spontaneous Emulsification Solvent Diffusion Method, and the Drug Release Behavior.” *Journal of Controlled Release* 25 (5): 89–98.
- Ochekpe, Nelson A., Patrick O. Olorunfemi, and Ndidi C. Ngwuluka. 2009. “Nanotechnology and Drug Delivery Part 1: Background and Applications.” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 8 (3): 265–74. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v8i3.44546>.
- Pascuali, RC, and C Bregni. 2006. “Emulsiones Líquida-Cristalinas Estabilizadas Con Estearato de Trietanolamina y Ácido Esteárico : Influencia Del Método de Preparación En Las Propiedades y En La Formación de Gotas Secundarias.” *Ars Pharm* 47 (2): 219–37. [http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/27935/1/ArsPharm2006;47\(2\)219-237.pdf](http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/27935/1/ArsPharm2006;47(2)219-237.pdf).
- Piñón-Segundo, Elizabeth, Adriana Ganem-Quintanar, Juan Rafael Garibay-Bermúdez, José Juan Escobar-Chávez, Miriam López-Cervantes, and David

- Quintanar-Guerrero. 2006. "Preparation of Nanoparticles by Solvent Displacement Using a Novel Recirculation System." *Pharmaceutical Development and Technology* 11 (June 2006): 493–501. <https://doi.org/10.1080/10837450600940824>.
- Pinto Reis, Catarina, Ronald J. Neufeld, Antonio J. Ribeiro, and Francisco Veiga. 2006. "Nanoencapsulation I. Methods for Preparation of Drug-Loaded Polymeric Nanoparticles." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2 (1): 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.12.003>.
- Polvo Rodriguez, Norma. 2014. "Desarrollo de Un Manual Para El Análisis de Diseños Experimentales Aplicados a Estudios de Disolución de Formas Farmacéuticas Sólidas." Universidad Nacional Autonomoa de Mexico.
- Poucher, W.A. 1984. *Perfumes, Cosmetics and Soaps*. Vol. VIII. Modern Cosmetics.
- Powell, Kristin Conrad, and Anuj Chauhan. 2016. "Interfacial Effects and Emulsion Stabilization by in Situ Surfactant Generation through the Saponification of Esters." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 504: 458–70. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.06.002>.
- Quintanar-Guerrero, D, Eric Allémann, Hatem Fessi, and Eric Doelker. 1998. "Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers (1)." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 24 (12): 1113–28. <https://doi.org/10.3109/03639049809108571>.
- Quintanar-Guerrero, D, A Ganem-Quintanar, E Allémann, H Fessi, and E Doelker. 1998. "Influence of the Stabilizer Coating Layer on the Purification and Freeze-Drying of Poly (D, L-Lactic Acid) Nanoparticles Prepared by an Emulsion-Diffusion Technique (2)." *Journal of Microencapsulacion* 15 (1): 107–19. <https://doi.org/10.3109/02652049809006840>.
- Rajabi, Mehdi, and Shaker Mousa. 2016. "Lipid Nanoparticles and Their Application in Nanomedicine." *Current Pharmaceutical Biotechnology* 17 (8): 662–72. <https://doi.org/10.2174/1389201017666160415155457>.
- Ramón, José Antonio, Jahaziel David Amaya, and Lis Manrique Losada. 2013. "Degradación Fotocatalitica De Rojo Congo En Un Colector Parabolico Solar Y Dióxido De Titanio En Suspensión." *Revista de Investigaciones - Universidad Del Quindío*, 2013. <http://www.riuuq.edu.co/index.php/riuuq/article/viewFile/209/202>.
- Rangasamy, Manivannan. 2011. "Nano Technology : A Review BASED." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (02): 8–16.
- Rietscher, René, Carolin Thum, Claus-michael Lehr, and Marc Schneider. 2015. "Semi-Automated Nanoprecipitation-System — An Option for Operator Independent , Scalable and Size Adjustable Nanoparticle Synthesis." *Pharm Res* 32: 1859–63. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1612-z>.
- Rohan, S, D Eldridge, E Palombo, and I Eldridge. 2015. *Lipid Nanoparticles :*

Production , Characterization and Stability. Edited by Springer. SpringerBriefs in Pharmaceutical Science & Drug Development. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-10711-0>.

- Salunkhe, Sachin S., Neela M. Bhatia, Jyoti D. Thorat, Prafulla B. Choudhari, and Manish S. Bhatia. 2014. "Formulation, Development and Evaluation of Ibuprofen Loaded Nanoemulsion Prepared by Nanoprecipitation Technique: Use of Factorial Design Approach as a Tool of Optimization Methodology." *Journal of Pharmaceutical Investigation* 44 (4): 273–90. <https://doi.org/10.1007/s40005-014-0125-4>.
- Sankalia, MG, RC Mashru, JM Sankalia, and VB Sutariya. 2004. "Evaluation and Simultaneous Optimization of Papain Entrapped in Crosslinked Alginate Beads Using 3 Factorial Design and the Desirability Function." *Ars Pharmaceutica* 45 (3): 253–79.
- Schubert, M A, and C C Muller-Goymann. 2003. "Solvent Injection as a New Approach for Manufacturing Lipid Nanoparticles – Evaluation of the Method and Process Parameters." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 55: 125–31. <https://doi.org/10.1016/S0>.
- Secretaria de Salud. 2010. "Acuerdo Por El Que Se Determina Las Sustancias Prohibidas y Restringidas En La Elaboración de Productos de Perfumeria y Belleza." *Diario Oficial*.
- Shayeganfar, Farzaneh, Leili Javidpour, Nima Taghavinia, M. Reza Rahimi Tabar, Muhammad Sahimi, and Faezeh Bagheri-Tar. 2010. "Controlled Nucleation and Growth of Cds Nanoparticles by Turbulent Dispersion." *PHYSICAL REVIEW* 81: 026304-8.
- Sinha, V. R., K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, and A. Trehan. 2004. "Poly-ε-Caprolactone Microspheres and Nanospheres: An Overview." *International Journal of Pharmaceutics* 278 (1): 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.01.044>.
- Sivakumar, T, R Manavalan, and K Valliappan. 2007. "GLOBAL OPTIMIZATION USING DERRINGER'S DESIRABILITY FUNCTION: ENANTIOSELECTIVE DETERMINATION OF KETOPROFEN IN FORMULATIONS AND IN BIOLOGICAL MATRICES." *ACTA CROMATOGRAPHICA* 19: 29–47.
- Souto, Eliana B., Joana F. Fangueiro, and Rainer H. Müller. 2013. "Solid Lipid Nanoparticles (SLN™)." In *Fundamentals of Pharmaceutical Nanoscience*, edited by Uchegbu F. Ijeoma, Andrea G. Schätzlein, Woei Chen, and Aikaterini Lalatsa, 91–116. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9164-4>.
- Sundararaj, S., and V. Selladurai. 2008. "An Analysis on the Proportional Mixing of Liquids Using Venturi Jet Mixer." *International Journal of Applied Engineering Research* 3 (7): 891–902.
- Sundararaj, S., and V Selladurai. 2013. "Flow and Mixing Pattern of Transverse

- Turbulent Jet in Venturi-Jet Mixer.” *Arab J Sci Eng* 38: 3563–3573. <https://doi.org/DOI 10.1007/s13369-013-0643-9>.
- Sundararaj, S, and V Selladurai. 2010. “Numerical and Experimental Study on Jet Trajectories and Mixing Behavior of Venturi-Jet.” *Journal of Fluid Engineering* 132 (October 2010): 1–9. <https://doi.org/10.1115/1.4002575>.
- Tamayo-Esquivel, David. 2005. “Preparación de Dispersiones Lipídicas de Talla Submicrónica Por Medio Del Método de Emulsificación Difusión.” UNAM.
- Taniguchi, Norio. 1974. “On the Basic Concept of ‘Nanno.Technology.’” In *Proc. Intle. Conf. Prod. Eng.* Japan: Japan Society of Precision Engineering.
- Thakur, R K, Ch. Vial, K D P Nigam, E B Nauman, and G Djelveh. 2003. “Static Mixers in the Process Industries—A Review.” *Chemical Engineering Research and Design* 81 (7): 787–826. <https://doi.org/10.1205/026387603322302968>.
- Thioune, O., H. Fessi, J.P. Devissaguet, and F Puisieux. 1997. “Preparation of Pseudolatex by Nanoprecipitation: Influence of the Solvent Nature on Intrinsic Viscosity and Interaction Constant.” *International Journal of Pharmaceutics* 146: 233–38.
- Trotta, Michele, Francesca Debernardi, and Otto Caputo. 2003. “Preparation of Solid Lipid Nanoparticles by a Solvent Emulsification-Diffusion Technique.” *International Journal of Pharmaceutics* 257 (1–2): 153–60. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00135-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00135-2).
- Üner, M. 2006. “Preparation, Characterization and Physico-Chemical Properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) : Their Benefits as Colloidal Drug Carrier Systems.” *Pharmazie* 61: 375–86.
- Urbán-Morlán, Zaida, Susana E. Mendoza-Elvira, Ricardo S. Hernández-Cerón, Sergio Alcalá-Alcalá, Humberto Ramírez-Mendoza, Abel Ciprián-Carrasco, Elizabeth Piñón-Segundo, and David Quintanar-Guerrero. 2015. “Preparation of Ethyl Cellulose Nanoparticles by Solvent-Displacement Using the Conventional Method and a Recirculation System.” *Journal of the Mexican Chemical Society* 59 (3): 173–80. <https://doi.org/org/10.1080/10837450600940824>.
- Vauthier, Christine, and Kawthar Bouchemal. 2009. “Methods for the Preparation and Manufacture of Polymeric Nanoparticles.” *Pharmaceutical Research* 26 (5): 34. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9800-3>.
- Vera Candiotti, Luciana, María M. De Zan, María S. Cámara, and Héctor C. Goicoechea. 2014. “Experimental Design and Multiple Response Optimization. Using the Desirability Function in Analytical Methods Development.” *Talanta* 124: 123–38. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>.
- Villafuerte, L., B. García, M. Garzón, A. Hernández, and M. Vázquez. 2008. “Nanopartículas Lipídicas Sólidas.” *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 39 (1): 38–52.

- Wade, L. G. 1993. "Lípidos." In *Química Organica*, edited by Prentice-Hall Hispanoamericana, 2da ed., 1219–39.
- Whitesides, George M. 2005. "Nanoscience, Nanotechnology, and Chemistry." *Small* 1 (2): 172–79. <https://doi.org/10.1002/sml.200400130>.
- Wilson, A L. 1930. "Triethanolamien Emulsions." *Industrial and Engineering Chemistry* 22 (2): 143–46.
- Woodruff, Maria Ann, and Dietmar Werner Hutmacher. 2010. "The Return of a Forgotten Polymer—Polycaprolactone in the 21st Century." *Progress in Polymer Science* 35 (2010): 1217–56. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>.
- Zhu, S., M. Heppenstall-Butler, M. F. Butler, P. D.A. Pudney, D. Ferdinando, and K. J. Mutch. 2005. "Acid Soap and Phase Behavior of Stearic Acid and Triethanolamine Stearate." *Journal of Physical Chemistry B* 109 (23): 11753–61. <https://doi.org/10.1021/jp050081r>.

11. ANEXOS

ANEXO I. Publicaciones

International Journal of Pharmaceutics 545 (2018) 254–260



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpharm



Preparation of nanodispersions by solvent displacement using the Venturi tube



Gilberto García-Salazar^a, María de la Luz Zambrano-Zaragoza^b, David Quintanar-Guerrero^{a,*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica, Av. 1^a de Mayo s/n, Cuautitlán Izcalli 54745, Estado de México, Mexico

^b Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Procesos de Transformación de Alimentos y Tecnologías Emergentes, Km 2.5 Carretera Cuautitlán–Teoloyucan, San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli 54714, Estado de México, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:
Nanoparticles
Venturi tube
Poly-ε-caprolactone
Response Surface Methodology
Reynolds number

ABSTRACT

The Venturi tube (VT) is an apparatus that produces turbulence which is taken advantage of to produce nanoparticles (NP) by solvent displacement. The objective of this study was to evaluate the potential of this device for preparing NP of poly-ε-caprolactone. Response Surface Methodology was used to determine the effect of the operating conditions and optimization. The NP produced by VT were characterized by Dynamic Light-Scattering to determine their particle size distribution (PS) and polydispersity index (PDI). Results showed that the Reynolds number (Re) has a strong effect on both PS and process yield (PY). The turbulence regime is key to the efficient formation of NP. The optimal conditions for obtaining NP were a polymer concentration of 1.6 w/v, a recirculation rate of 4.8 L/min, and a stabilizer concentration of 1.1 w/v. The predicted response of the PY was 99.7%, with a PS of 333 nm, and a PDI of 0.2. Maintaining the same preparation conditions will make it possible to obtain NP using other polymers with similar properties. Our results show that VT is a reproducible and versatile method for manufacturing NP, and so may be a feasible method for industrial-scale nanoprecipitation production.

1. Introduction

Nanoparticles (NP) range in size from 1 to 1000 nm and can incorporate hydrophilic and hydrophobic molecules through the processes of conjugation, adsorption or entrapment. In general, they have high biodegradability and biocompatibility with low toxicity (Escalona-Rayo et al., 2017). NP can be prepared from polymers, lipids, hybrid and inorganic materials, among other materials, and can be produced spontaneously using solvent displacement (nanoprecipitation) or physical dispersion methods, though the latter requires special equipment, such as colloid mills, high-pressure dispersers, rotor-stator systems and ultrasonic devices, among others, to attain good nanometric dispersion.

The solvent displacement (SD) method is one of the most commonly-used techniques for preparing NP due to its easy and simple implementation. It was described and patented by Fessi et al. (1989) and requires two phases, one organic, the other aqueous. The former (drug(s) and polymer(s) in organic solvent(s)) is injected into an aqueous solution (stabilizer), then the two phases are mixed by magnetic stirring and the NP form instantly through interfacial turbulence that results in a fast, mutual diffusion during mixing (Quintanar-Guerrero et al., 1998a).

The mixing of ingredients – or dispersion of one phase into the other – is a key step in many industrial processes, including the elaboration of chemical, pharmaceutical, food and cosmetic product. While batch processing is often the best approach for multi-product manufacturing processes, today many companies are more interested in continuous flow processes that operate under steady conditions to produce well-mixed phases. Procedures of this nature have several advantages over stirred vessels, including a narrow drop size distribution, and a compact design (Pacek, 2015). Also, they have no moving parts, so maintenance costs are low (Sundararaj and Selladurai, 2008) and reliability is high. Mixing can be performed by static devices like the Venturi tube (VT), which can mix different fluids with no additional equipment because of its shape.

The VT was conceived by Giovanni Batista Venturi in 1797 (Fig. 1). His main aim was to measure the mass flow (i.e., the quantity of flow per unit of time) based on differences in pressure produced in the input and minimal section of the tube (Warren et al., 2007). His tube was modified by adding a nozzle to the throat as a means to introduce a second fluid for fast, continuous mixing. At that point, it was renamed the Venturi Jet Mixer. In the modified model, one fluid flows through the Venturi device while a second is injected into the nozzle on the

* Corresponding author.

E-mail address: quintana@unam.mx (D. Quintanar-Guerrero).

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.05.005>

Received 27 January 2018; Received in revised form 27 April 2018; Accepted 1 May 2018

Available online 02 May 2018

0378-5173/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

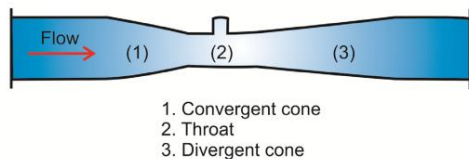


Fig. 1. A Venturi tube.

throat. Because of the low pressure created there, a high flow rate is achieved that allows the two fluids to mix. This device was first used in oil wells, but is now being used to mix water, soils, fertilizers and insecticides (Sundararaj and Selladurai, 2010).

The SD method is a fast, economic one-step manufacturing process for preparing NP. Low polymer concentrations of 0.5–1.5% (w/v) are usually used, concentrations above 1.5% tend to produce NP aggregation (Stainmesse et al., 1995) due primarily to inadequate mixing of the two phases. Under those conditions, NP might not be produced with good quality. In the present study, the VT was included in a continuous recirculation system to obtain a high process yield (PY). Recirculating the aqueous phase through the system prevents possible aggregation and increases the efficiency of the process of NP formation compared to traditional methods (Piñón-Segundo et al., 2006). An additional advantage is that it requires minimum maintenance because it does not employ dynamic devices (Sundararaj and Selladurai, 2013). Also, as a closed system, it eliminates the possibility of environmental contamination, but allows other fluids to be included in the mix simply by adding more nozzles (Minghua, 2014).

Poly-ε-caprolactone (PCL) was used as the model polymer in this work because it is biocompatible, biodegradable and non-toxic (Zelenkova et al., 2014). Biodegradation of PCL produces 6-hydroxy caproic acid, which can be absorbed by the body or removed by metabolic processes (Lince et al., 2008). PCL has been used to prepare drug delivery systems in the form of blends, matrixes, microspheres, nanospheres and pellets, among others (Piñón-Segundo et al., 2006).

The main objective of this study was to evaluate the potential use of VT in a continuous recirculation system in order to obtain NP by mixing the fluids quickly. If the VJM method is continuous and closed, it can be used to transform polymer solutions into NP. Operation parameters were analyzed by Response Surface Methodology (RSM) to evaluate relations between the response and independent variables of the

process (Zambrano-Zaragoza et al., 2011). RSM helped determine the optimum operating conditions and also to decrease the number of experiments and reagents required and reducing waste, thereby lowering costs (Draheim et al., 2015).

2. Materials and methods

2.1. Materials

PCL (Mw ~ 14,000), Poly (D, L lactic acid) (PLGA), Cellulose acetate phthalate (CAP), Poloxamer (PLX) 188, (Pluronic F-68®), and Poly (vinyl alcohol) (PVAL) Mowiol® 4-88 (Mw ~ 31,000) were all obtained from Aldrich (USA). Acetone was analytical grade, and the distilled water was of Milli-Q quality (Millipore, Bedford, MD, USA).

2.2. Preparation of nanoparticles by solvent displacement

PCL was dissolved in acetone at 2.0, 4.0 and 6.0 w/v, and this inorganic phase (10 ml) was then injected at controlled rates into 100.0 ml of the aqueous phase (PVAL 1.0 w/v) under magnetic stirring (500 rpm). The dispersion of the NP was sieved through filter paper then it was dried in a desiccator to a constant weight. The solvent was removed under atmospheric pressure at room temperature by rotavapor.

2.3. Preparation of nanoparticles by Venturi tube

This procedure was carried out using a VT designed in our laboratory. A fixed volume (18 ml) of PCL in acetone was injected into the throat of the VT by a syringe pump (model NE-300, Pumps Systems, Inc., USA) and mixing was performed by recirculating the stabilizing agent (180 ml of PVAL at 1.0 w/v) through the entire system using a water pump (Brushless, VOVYO Technology Co., Ltd., China), as shown in Fig. 2. After injecting the polymer, the pump was turned off and the dispersion of NP was collected, filtered and dried as described previously.

2.4. Experimental design

RSM was used to evaluate the operating conditions and optimize the VT method. Three independent variables were analyzed: polymer concentration (X1), recirculation rate (X2), and stabilizer concentration

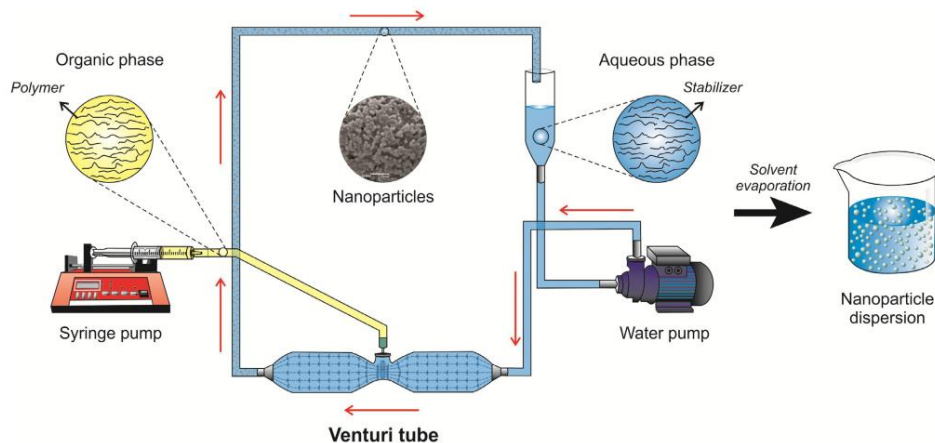


Fig. 2. Schematic representation of nanoparticles preparation by the Venturi tube.

Table 1
Coded and uncoded independent variables used in the RSM design.

Coded variables	Uncoded variables	Coded levels				
		-1.7	-1.0	0	1.0	1.7
X ₁	Polymer concentration (w/v)	-0.6	2.0	4.0	6.0	7.4
X ₂	Recirculation rate (L/min)	2.1	3.5	5.5	7.5	8.9
X ₃	Stabilizer concentration (w/v)	0.3	1	2	3	3.7

(X3). The effect of these variables was then used to determine the influence of those three variables on the following responses: process yield (Y1), mean particle size (Y2), and the polydispersity index (Y3). The coded and uncoded independent variables used in the central composite design (CCD) are listed in Table 1.

In this study, 20 experiments were conducted in accordance with a CCD with six central points and a star configuration using a random order (Table 3). A second-order polynomial equation was used to express the response variables as a function of the independent variables, as follows:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

The predicted response (Y) was correlated with the set of regression coefficients: intercept (β_0), linear (β_1 , β_2 , β_3), interactive (β_{12} , β_{13} , β_{23}), and quadratic (β_{11} , β_{22} , β_{33}). An analysis of variance (ANOVA) and plotting of the response surface was performed to establish optimum conditions for the VT method. The STATGRAPHICS® XVI software program was used for both the statistical design of the experiments and data analysis.

2.5. Optimization

The optimum conditions for preparing NP by VT were determined in order to calculate a desirability function (D) for the three factors – i.e., polymer concentration, recirculation rate and stabilizer concentration – with a value near 1. The differences in the results in relation to the expected optimization values were evaluated at $\alpha = 0.05$.

2.6. Determination of particle size (PS) and polydispersity index (PDI)

The mean PS and PDI were determined using the Dynamic Light Scattering technique (Coulter N4, USA) at a fixed angle of 90° for 180 s at 25 °C. All dispersions were diluted with water to reach appropriate particle concentrations. All measurements were performed in triplicate.

2.7. Determination of process yield (PY)

The nanoparticle dispersions were sieved through filter paper after being dried in an oven at 50.0 °C to a constant weight. This allowed us to obtain residues left behind during the process (i.e., polymer that was not transformed into nanoparticles).

$$\%EP = \frac{MPol - MRe}{MPol} \times 100 \quad (2)$$

MRe: Mass of residues (polymer not transformed into nanoparticles).

MPol: Mass of polymer in the organic solution.

The process yield was expressed as the percentage of the transformed polymer relative to the total amount of polymer in the organic solution, minus the mass of the residues.

2.8. Reynolds number (Re)

Flow behavior is classified in three regimes: laminar, transition and

turbulence (García Prats and Cobacho Jordan, 2012). The recirculation rate in the VT was used by Re to determine the regime involved. The Re is defined in Eq. (3):

$$Re = \frac{Dv\rho}{\mu} = \frac{Dv}{\nu} \quad (3)$$

where D is the diameter of the initial inlet and throat of the VT (m), ν is the Q/A relation ($m^2 s^{-1}$), Q is the recirculation rate, A is the area of the diameter of the inlet and throat of the VT, and ν is the kinematic viscosity of the continuous phase ($m^2 s^{-1}$).

3. Results and discussion

3.1. Comparison of nanoparticles prepared by solvent displacement and Venturi tube

When the nanoprecipitation or SD are used, NP form instantly due to the fast diffusion generated when the organic phase is mixed into the aqueous phase (Quintanar-Guerrero et al., 1998a). Based on this principle, we developed a novel method for preparing NP using the VT, which allows fluids to mix rapidly. This mixer uses the momentum of the crossflow to create a suction effect that provides a high contact interface between two liquids because of the high Re achieved (Sundararaj and Selladurai, 2013). Table 2 shows the recirculation rates in the VT that were estimated by measuring draining time. The Re was calculated using the value of the recirculation rate. A Re value above 4000 was obtained, indicating that turbulent flows were produced in the device which generates a large interfacial surface area that permits the slow molecular mixing of two fluids (Shayeganfar et al., 2010), so the process is performed in a short time with a desirable quality for producing NP.

Fig. 3a and 3b show the relation between PY and PS achieved with the VT and SD methods. Fig. 3a shows that VT was less affected than SD by increases in the polymer concentration due to the intensified turbulence of the fluids that permitted better mixing. So, a concentration of 4.0% or greater in the VT would thus be more efficient than SD. According to observations by Thioune et al. (1997) and Galindo-Rodriguez et al. (2004) increasing the polymer concentration in the organic solvent led to the formation of larger nanoparticles and, therefore, lowered the process yield. Regardless of the method or device used, the nanoprecipitation process is highly-sensitive to changes in polymer concentrations. NP prepared by both methods using a polymer concentration below 2.0% achieved formation without flocculation, but at concentrations above 2.0% the polymer chains aggregated to a greater degree such that the polymer precipitated in the form of larger particles (Thioune et al., 1997). In our study, aggregates formed using both the VT and SD methods when the polymer concentration was raised from 4.0 to 6.0%.

Fig. 3b shows that mixing deficiency results in the formation of large particles. The NP prepared by SD were larger than those produced by VT due to high recirculation rates in this device that produced greater turbulence (Lince et al., 2008). In that case, the enhanced diffusion of both phases generated NP with a small size, though the process yield obtained at 4.0 and 6.0% by VT was far from 100%. It is important to point out that VT increased process yield compared to SD at a high polymer concentration, and that smaller NP were obtained by adjusting the Re (recirculation rate).

Table 2
Re number in the inlet and throat of the VT.

Recirculation rate (l/min)	VT inlet (Re)	VT throat (Re)
3.5	2642	4865
5.5	4153	7646
7.5	5663	10426

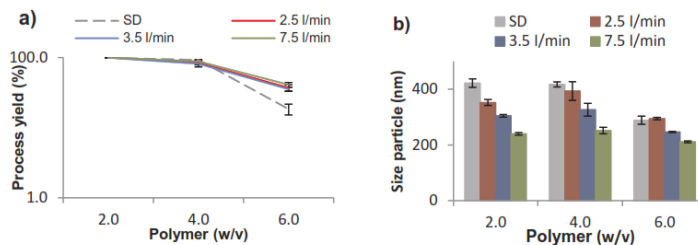


Fig. 3. a) Process yield of the nanoparticles (NP) prepared by solvent displacement (SD) and Venturi tube (VT); b) particle size of the NP prepared by SD and VT. 2.5 L/min, 3.5 L/min and 7.5 L/min are the NP prepared by VT at different recirculation rates.

Table 3

Results of the NP obtained by full-factor design.

Batch code	Factors			Responses		
	Polymer concentration (w/v)	Rate recirculation (L/min)	Stabilizer concentration (w/v)	Process yield (%)	Particle size (nm)	PDI
1	6	7.5	3	61.05	271 ± 10	0.27 ± 0.14
2	4	5.5	2	67.09	297 ± 5	0.33 ± 0.04
3	6	7.5	1	37.91	304 ± 84	0.3 ± 0.04
4	4	5.5	0.32	57.47	389 ± 4	0.27 ± 0.02
5	2	7.5	3	99.24	320 ± 1	0.1 ± 0.03
6	2	3.5	3	99.65	572 ± 4	0.1 ± 0.10
7	4	5.5	2	74.88	499 ± 21	0.41 ± 0.13
8	4	5.5	2	71.61	374 ± 1	0.25 ± 0.04
9	4	5.5	2	67.29	425 ± 74	0.28 ± 0.13
10	4	8.86	2	73.54	328 ± 74	0.32 ± 0.11
11	4	5.5	3.68	83.51	426 ± 16	0.24 ± 0.13
12	2	7.5	1	99.48	293 ± 4	0.07 ± 0.06
13	4	5.5	2	75.31	390 ± 10	0.21 ± 0.04
14	7.36	5.5	2	32.27	283 ± 41	0.33 ± 0.17
15	0.64	5.5	2	98.25	234 ± 1	0.21 ± 0.12
16	2	3.5	1	99.53	407 ± 10	0.16 ± 0.08
17	4	2.14	2	55.62	609 ± 25	0.24 ± 0.13
18	6	3.5	3	36.95	384 ± 9	0.25 ± 0.13
19	4	5.5	2	71.26	472 ± 20	0.17 ± 0.05
20	6	3.5	1	28.82	317 ± 13	0.12 ± 0.05

3.2. Fitting model

Table 3 summarizes the properties of the NP formed by VT using a CCD and considering the parameters of the experimental design. Understanding the relation between the independent variables and dependent variable will help optimize the final formulation. By means of the full-factor design, we obtained NP with yields of 28.28–99.65%, a mean size range of 234–572 nm, and a PDI of 0.1–0.33. NP with an average size of 234 nm could be prepared, but only at a low polymer concentration (0.64% w/v). The VT method permits the use of a higher polymer concentration (7.36% w/v), but yield is low (32.37%). Upon applying the lowest recirculation rate (2.14 L/min), we obtained a yield of 99.95%, but the mean size of the largest NP was 572 nm.

Table 4 shows the effect of the linear and quadratic variables and their interaction coefficients on responses (PY, PS, PDI), using an ANOVA to determine the factors of adequacy and fitness. The ANOVA showed that the model appeared to be an adequate representation of the experimental behavior of the data, with regression coefficients (R^2) of 95.15 for PY, 87.82 for PS, and 72.46 for PDI. Also shown the significance level of each coefficient, represented by a p-value ($\alpha = 0.05$ and $\alpha = 0.01$). According to the p-values, the effect of the factors on the response was as follows: concentration of polymer > recirculation rate > concentration stabilizer with reference to the linear, quadratic and interaction terms.

Table 4

ANOVA and regression coefficients of the response variables as a function of the factors analyzed.

Term	Yield process (%)		Size particle (nm)		PDI	
	Coef	p-value	Coef	p-value	Coef	p-value
β_0	132.01	–	499.15	–	0.21	–
β_1	–19.69	0.00 [†]	82.11	0.13 ^{ns}	–0.01	0.01 [†]
β_2	0.52	0.04 [†]	–109.74	0.00 [†]	–0.01	0.50 ^{ns}
β_3	–9.56	0.02 [†]	131.12	0.08 [†]	0.04	0.47 ^{ns}
β_{11}	–0.33	0.50 ^{ns}	–13.96	0.00 [†]	–0.01	0.26 ^{ns}
β_{22}	1.05	0.12 ^{ns}	6.06	0.17 ^{ns}	0.01	0.09 ^{††}
β_{33}	1.96	0.15 ^{ns}	–7.00	0.41 ^{ns}	0.01	0.37 ^{ns}
β_{12}	–0.39	0.42 ^{ns}	6.68	0.05 [†]	–0.01	0.26 ^{ns}
β_{13}	0.92	0.48 ^{ns}	–11.91	0.18 ^{ns}	0.01	0.33 ^{ns}
β_{23}	0.54	0.78 ^{ns}	–3.29	0.79 ^{ns}	–0.05	0.04 [†]
R^2 (%)	95.17		87.82		72.46	

ns = not significant, R^2 = coefficient of determination.

[†] $\alpha = 0.05$.

^{††} $\alpha = 0.10$.

3.3. Process yield

Fig. 4a–c show the effects of the independent variables on the response variables with the response surfaces plotted. Fig. 4a and 4b indicate that PY decreases as the PCL concentration increases. A similar effect of the recirculation rate was reported by Piñón-Segundo et al.

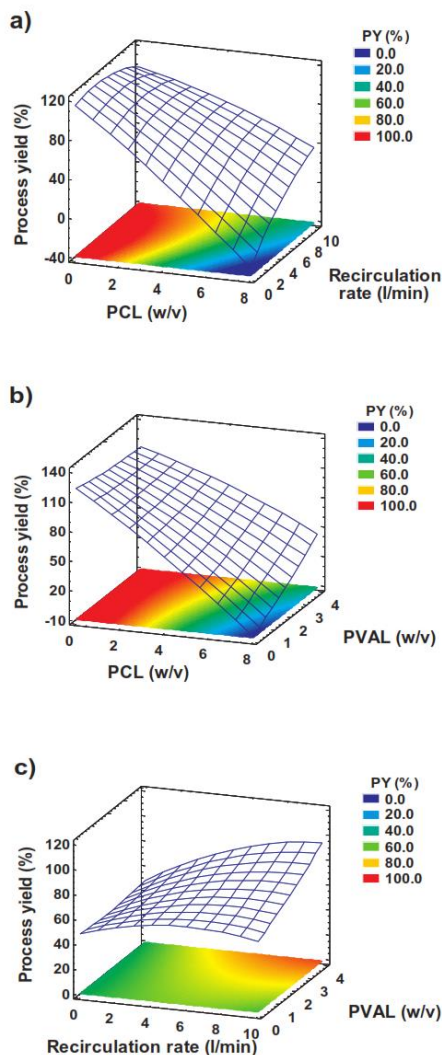


Fig. 4. Estimated response surface for the process yield of the nanoparticles as a function of: a) poly-ε-caprolactone (PCL) and the recirculation rate; b) PCL and poly (vinyl alcohol) (PVAL); and c) the recirculation rate and PVAL.

(2006). Also, Legrand et al. (2007) observed that at higher polymer concentrations only a fraction of the polymer participated in the formation of NP, while the rest produced aggregates, as occurred in our study at polymer concentrations above 4.0%. Fig. 4a shows that increasing the recirculation rate generated greater turbulence inside the stream that, in turn, produced micro-vortices that separated drops of nanometric size from the environment to form NP and increase PY. The behavior observed in Fig. 4b indicates that PY is related to the concentration of the stabilizer, since an insufficient amount of surfactant does not allow the dispersion to stabilize (Chacon et al., 1996). As a result, not all the polymer is transformed into NP, so both the PY and

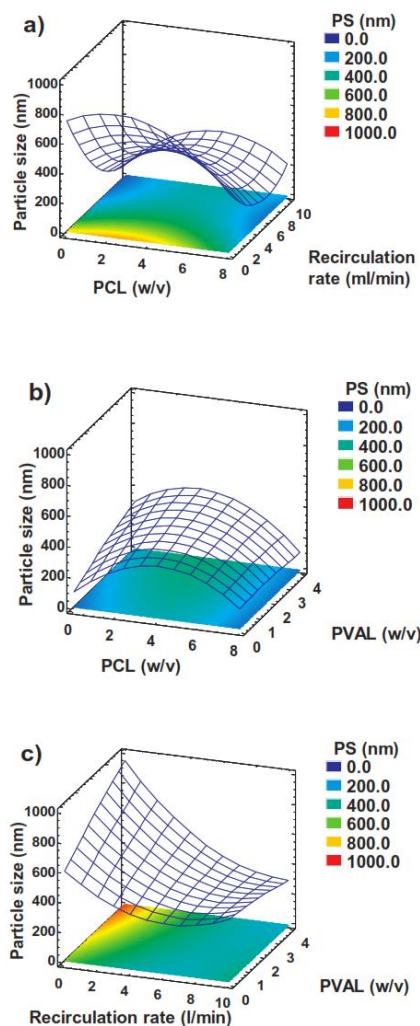


Fig. 5. Estimated response surface for the particle size of the nanoparticles as a function of: a) poly-ε-caprolactone (PCL) and the recirculation rate; b) PCL and poly (vinyl alcohol) (PVAL); and c) the recirculation rate and PVAL.

the precipitation of the polymer decrease. Fig. 4c shows the behavior of PY as a function of the recirculation rate and the PVAL concentration observed the curvature is caused by increase of recirculation rate, with significant effect on concentration increase. The second order equation for PY in significant terms is as follows:

$$PY = 132.01 - 19.69 \times X1 - 0.52 \times X2 - 9.56 \times X3 \quad (4)$$

3.4. Particle size

Fig. 5a–c show the effect of the response surface of the independent variables on PS. Fig. 5a demonstrates the variability of PS as result of

increasing the polymer concentration. When the organic phase was diffused into the aqueous phase, the polymer formed particles ranging in size from several nanometers to large aggregates depending on both polymer or stabilizer concentration (Quintanar-Guerrero et al., 1998a). In our results, when the polymer concentration was raised, the PS of the NP increased. A similar effect regarding size increases was reported by Rietscher et al. (2015) in his findings which suggest that the effect of the concentration on particle size is due to an increase in viscosity. This explanation can be extended to the results obtained when NP were prepared at a polymer concentration above 4.0%, as this condition created greater viscosity, requiring an increased recirculation rate to adequately mix. Fig. 5b shows the effect of an increase in the polymer concentration. If the polymer cannot diffuse into the aqueous phase, it might not come into contact with the stabilizer, resulting in small NP or aggregates. As it can be seen in Fig. 5c, a reduction of PS was achieved by increasing the recirculation rate, together with a slight effect on the stabilizer concentration. These results are supported by findings from Shayeganfar et al. (2010), who reported that turbulence is an impediment to particle adhesion. The second-order equation for PS in significant terms is as follows:

$$PS = 499.15 - 109.74 \cdot X_2 + 131.12 \cdot X_3 - 13.96 \cdot X_1^2 + 6.06 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (5)$$

3.5. Polydispersity index

Fig. 6a shows that an increase of the polymer concentration and recirculation rate have an influence on the PDI. A similar effect regarding stirring rate was observed by Rietscher et al. (2015). If only part of the polymer is transformed into NP, the result could be NP populations of differing sizes because the time was insufficient to allow the diffusion of the two phases. This would be attributable to a high recirculation rate. The behavior observed in Fig. 6b indicates that the PCL concentration has only a slight effect on the PDI. In contrast, at the lowest concentration, PVAL has good diffusion with the organic phase and so produces NP of similar size. At higher concentrations, however, the two phases cannot achieve good diffusion. Results from Mora-Huertas et al. (2011) support this, as they suggested that the interaction between acetone and PVAL delayed solvent migration and so impeded good mixing. Fig. 6c presents the behavior of the PDI as a function of the recirculation rate and PVAL concentration, as discussed previously. The second-order equation for PDI in significant terms is as follow:

$$PDI = 0.21 + 0.01 \cdot X_1 - 0.01 \cdot X_2^2 + 0.01 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (6)$$

3.6. Optimization

The objective of this study was to determine the optimum parameters for achieving a process yield near 100% with a particle size below 300 nm and a PDI of 0.2. A numerical procedure was performed to predict the optimum levels of the independent variables that would generate desirable response goals by Derringer's desirability function (*D*) (Vera Candioti et al., 2014). Because this operation combined all the responses in one measure, it allowed us to predict the optimum levels for the independent variables (Sankalia et al., 2004). A *D* value different from zero implies that all responses are in undesirable ranges simultaneously. A *D* value close to 1 indicates the optimum combination of the different criteria because the response values are near the target values (Sivakumar et al., 2007). The *D* value determined in the present study was 0.89; i.e., close to 1. Hence, the following optimum values were obtained: a) polymer concentration, 1.6 w/v; b) recirculation rate, 4.8 L/min; and c) stabilizer concentration, 1.1 w/v. Under these optimum conditions, the predicted response values are: a) process yield, 99.7%; b) mean diameter, 333 nm; and c) PDI, 0.2. Then we proceeded to prepare NP of PCL using these optimum values. Our results were PY: 99.00 ± 0.94; PS: 305 ± 2, PDI: 0.10 ± 0.03. So, NP were obtained with a desirable quality.

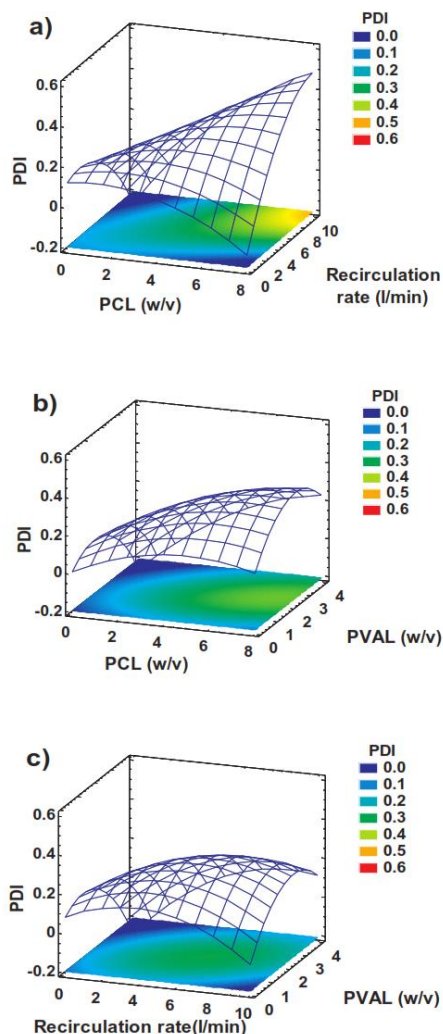


Fig. 6. Estimated response surface for the polydispersity index (PDI) of the nanoparticles as a function of: a) poly-ε-caprolactone (PCL) and the recirculation rate; b) PCL and poly (vinyl alcohol) (PVAL); and c) the recirculation rate and PVAL.

Table 5
NP prepared with different polymers and stabilizers.

Polymer	Stabilizer	Particle size (nm)	Polydispersity index	Yield process (%)
PEC	PVA	305 ± 2	0.10 ± 0.03	99.00 ± 0.94
PEC	PLX	233 ± 3	0.14 ± 0.06	96.17 ± 1.08
PLGA	PVA	232 ± 1	0.18 ± 0.00	94.72 ± 1.45
PLGA	PLX	220 ± 1	0.18 ± 0.05	91.95 ± 3.07
CAP	PVA	218 ± 12	0.53 ± 0.05	99.27 ± 0.40
CAP	PLX	129 ± 3	0.24 ± 0.09	77.44 ± 3.11

3.7. Model versatility

Once the model had been verified, the versatility of the method was tested using optimum values. Table 5 shows NP prepared with three different polymers – PCL, CAP and PLGA – and the stabilizers PVAL and PLX. Steric stabilizers like PVA and PLX are used to ensure good stability of the NP by reducing the PDI and preventing aggregation. The stability of the NP can be explained by the water replacement hypothesis, which posits the formation of hydrogen links that stabilize with polar groups located on the surface of the particles (Zelenkova et al., 2014).

NP prepared with PVAL as the stabilizer had a higher process yield than those made using PLX, possibly because PVAL is adsorbed more strongly on the surface of the particles. Indeed, PVAL is adsorbed particularly strongly on the surface of PLGA molecules because the PVA of the hydroxyl group attaches to the acetyl group of the PLGA by hydrophobic bonding (Murakami et al., 1999). PLX, meanwhile, is a copolymer that improved stabilization due to steric repulsion between the hydrophilic polyethylene oxide blocks (POE) in the solution phase and the fixed hydrophobic polypropylene oxide blocks (PPO) on the particle surface (Quintanar-Guerrero et al., 1988b). This leads us to suppose that PLX has a partial absorption over NP, with fewer anchored polymer chains than PVAL. As can be seen in the Table 5 the PY of NP of poloxamer is less than NP with poly (vinyl alcohol).

4. Conclusions

In this study, we developed a novel, simple and versatile VT method that can be used to prepare NP of nanometric size using PCL, PLGA and CAP to achieve a PY above 90.0%. Taking advantage of the turbulence produced inside the VT due to a change in the area of intersection led to greater proportional mixing. The objective of the experiment was achieved because this method proved to be both robust and reproducible for generating NP. It was possible to optimize the VT method using RSM under the following conditions: a polymer concentration of 1.6 w/v; a recirculation rate of 4.7 L/min; and a stabilizer concentration of 1.1 w/v. According to the statistical analyses, all variables analyzed showed significant effects. We observed, as well, that increasing the polymer concentration decreased PY, while increasing the recirculation rate led to a decrease in PS. Therefore, the VT can be used as a versatile platform because it supports the production of NP made with different polymers, offers the opportunity to use other materials, and opens with the possibility of using high polymer concentrations to achieve industrial scale-up.

Acknowledgments

Gilberto Garcia-Salazar gratefully acknowledges the grant from CONACYT Mexico (240062). The authors acknowledge the financial support for projects PAPIIT 2019143, CONACYT INFRA 251940 and CONACYT CB-221629, PIAP 001. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

References

Chacon, M., Berger, L., Molpeceres, M.R., Aberturas, M.R., Guzman, M., 1996. Optimized preparation of poly D, L (lactic-glycolic) microspheres and nanoparticles for oral administration. *Int. J. Pharm.* 141, 81–91.

Draheim, C., De Crécy, F., Hansen, S., Eva-Maria, C., Claus-Michel, L., 2015. A design of experiment study of nanoprecipitation and nano spray drying as processes to prepare PLGA nano-and microparticles with defined sizes and size distributions. *Pharm. Res.* 32, 2609–2624.

Escalona-Rayo, O., Fuentes-vázquez, P., Leyva-gómez, G., Cisneros, B., Villalobos, R.,

Magaña, J.J., Quintanar-Guerrero, D., 2017. Nanoparticulate strategies for the treatment of polyglutamine diseases by halting the protein aggregation process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 43, 871–888. <http://dx.doi.org/10.1080/03639045.2017.1281949>.

Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J.P., Ammoury, N., Benita, S., 1989. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharm.* 55, R1–R4.

Galindo-Rodríguez, S., Alleman, E., Fessi, H., Doelker, E., 2004. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, nanoprecipitation methods. *Pharm. Res.* 21, 1428–1439.

García Prats, A., Cobacho Jordan, R., 2012. Fundamentos de mecánica de fluidos. Editorial Universitat Politècnica de Valencia, pp. 71–79.

Legrand, P., Lesieur, S., Gref, R., Raatjes, W., Barratt, G., Vauthier, C., 2007. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of poly(lactide) nanoparticles by nanoprecipitation. *Int. J. Pharm.* 344, 33–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.05.054>.

Linee, F., Marchisio, D.L., Barresi, A.A., 2008. Strategies to control the particle size distribution of poly-ε-caprolactone nanoparticles for pharmaceutical applications. *J. Colloid Interface Sci.* 322, 505–515. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2008.03.033>.

Minghua, W., 2014. Venturi Tube False-Twist Bundling Machine. CN103938317A.

Mora-Huertas, C.E., Fessi, H., Elaissari, A., 2011. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods: critical comparison. *Adv. Colloid Interface Sci.* 163, 90–122.

Murakami, H., Kobayashi, M., Takeuchi, H., 1999. Preparation of poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method. *Int. J. Pharm.* 187, 143–152.

Pacek, A., 2015. Emulsions. In: Cullen, P.J., Romañach, R.J., Abatzoglou, N., Rielly, C.D. (Eds.), *Pharmaceutical Blending and Mixing*. Wiley, West Sussex, pp. 183–232.

Piñón-Segundo, E., Ganem-Quintanar, A., Rafael Garibay-Bermúdez, J., Juan Escobar-Chávez, J., López-Cervantes, M., Quintanar-Guerrero, D., 2006. Preparation of nanoparticles by solvent displacement using a novel recirculation system. *Pharm. Dev. Technol.* 11, 493–501. <http://dx.doi.org/10.1080/10837450600940824>.

Quintanar-Guerrero, D., Alléman, E., Fessi, H., Doelker, E., 1998a. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 1113–1128. <http://dx.doi.org/10.3109/03639049809108571>.

Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A., Alléman, E., Fessi, H., Doelker, E., 1988b. Influence of the stabilizer coating layer on the purification and freeze-drying of poly (D, L-lactide acid) nanoparticles prepared by an emulsion-diffusion technique. *J. Microencapsul.* 15, 107–119. <http://dx.doi.org/10.3109/02652049809006840>.

Rietscher, R., Thum, C., Lehr, C., Schneider, M., 2015. Semi-Automated nanoprecipitation-system — an option for operator independent, scalable and size adjustable nanoparticle synthesis. *Pharm. Res.* 32, 1859–1863. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-014-1612-z>.

Sankalia, M., Mashru, R., Sankalia, J., Sutariya, V., 2004. Evaluation and simultaneous optimization of papain entrapped in crosslinked alginate beads using 3 factorial design and the desirability function. *Ars Pharm.* 45, 253–279.

Shayeganfar, F., Javidpour, L., Taghavinia, N., Tabar, M.R.R., Sahimi, M., Bagheri-tar, F., 2010. Controlled nucleation and growth of CdS nanoparticles by turbulent dispersion. *Phys. Rev. E* 81, 1–8. <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.81.026304>.

Sivakumar, T., Manavalan, R., Valliappan, K., 2007. Global optimization using derringer's desirability function: enantioselective determination of ketoprofen in formulations and in biological matrices. *Acta Chromatogr.* 19, 29–47.

Stainmesse, S., Orecchioni, A., Nakache, E., Puisieux, F., Fessi, H., 1995. Formation and stabilization of a biodegradable polymeric colloidal suspension of nanoparticles. *Colloid Polym. Sci.* 273, 505–511.

Sundararaj, S., Selladurai, V., 2013. Flow and mixing pattern of transverse turbulent jet in Venturi-jet mixer. *Arab J. Sci. Eng.* 38, 3563–3573. <http://dx.doi.org/10.1007/s13369-013-0643-9>.

Sundararaj, S., Selladurai, V., 2010. Numerical and experimental study on jet trajectories and mixing behavior of Venturi-jet. *J. Fluid Eng.* 132, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1115/1.4002575>.

Sundararaj, S., Selladurai, V., 2008. An analysis on the proportional mixing of liquids using Venturi jet mixer. *Int. J. Appl. Eng. Res.* 3, 891–902.

Thioune, O., Fessi, H., Devissaguet, J.P., Puisieux, F., 1997. Preparation of pseudo latex by nanoprecipitation: influence of the solvent nature on intrinsic viscosity and interaction constant. *Int. J. Pharm.* 146, 233–238.

Vera Candiotti, L., De Zan, M.M., Cámara, M.S., Goicoechea, H.C., 2014. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta* 124, 123–138. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>.

Warren, L.M., Julian, S., Peter, H., 2007. Transporte y medición de fluidos. In: *Operaciones Unitarias En Ingeniería Química*. MacGraw-Hill Interamericana, México, pp. 238–242.

Zambrano-Zaragoza, M.L., Mercado-Silva, E., Gutiérrez-Cortez, E., 2011. Optimization of nanocapsules preparation by the emulsion-diffusion method for food applications. *LWT – Food Sci. Technol.* 44, 1362–1368. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.004>.

Zelenkova, T., Fissore, D., Marchisio, D.L., Barresi, A.A., 2014. Size control in production and freeze-drying of poly-ε-caprolactone nanoparticles. *Pharm. Nanotechnol.* 103, 1839–1850. <http://dx.doi.org/10.1002/jps.23960>.