

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

Stabilized liquid-crystalline emulsions with triethanolamine stearate and stearic acid: preparation method influence in the properties and formation of secondary droplets

PASQUALI RC*, BREGNI C.

Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 6° piso (1113) Buenos Aires, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: rcpasquali@yahoo.com

Fuente de financiación del trabajo: UBACyT, Proyecto BO 43.

RESUMEN

Se desarrolló una metodología que permite obtener emulsiones de vaselina líquida estabilizadas con estearato de trietanolamina y ácido esteárico con características líquida-cristalinas en las que las gotas se agrupan formando gotas secundarias de unos 15 μm de diámetro. La formación de estas gotas secundarias, que es una consecuencia de la presencia de cristales líquidos liotrópicos en las emulsiones, trae como consecuencia una disminución de la viscosidad. El reemplazo de parte de la vaselina líquida de estas emulsiones por otros emolientes de mayor capacidad de penetración dérmica, tales como el miristato de isopropilo y el 2-octil-1-dodecanol, no disminuye las características líquida-cristalinas, lo que permite obtener otras emulsiones más adecuadas para usos farmacéutico y cosmético.

PALABRAS CLAVE: Cristales líquidos liotrópicos. Emulsiones. Gotas secundarias. Estearato de trietanolamina.

ABSTRACT

It has been developed a methodology which allows obtaining mineral oil emulsions stabilized with triethanolamine stearate and stearic acid with liquid-crystalline characteristics where droplets cluster themselves forming secondary droplets of 15 μm diameter. The formation of the mentioned secondary droplets, which are a consequence of the presence of lyotropic liquid crystals in the emulsions, produces a diminution of the viscosity. The replacement of part of the mineral oil of these emulsions for others emollients with greater dermal penetration capacity, such as isopropyl myristate and 2-octyl-1-dodecanol, does not diminish the liquid-crystalline characteristics, granting the obtainment of more adequate emulsions for pharmaceutical and cosmetic usage.

KEYWORDS: Emulsions. Lyotropic liquid crystals. Secondary droplets. Triethanolamine stearate.

INTRODUCCIÓN

Los cristales líquidos liotrópicos contribuyen a la formación y estabilización de las emulsiones. De acuerdo con Suzuki ¹, se pueden obtener

INTRODUCTION

The lyotropic liquid crystals help with the emulsions formation and stabilization. According to Suzuki ¹, emulsions formed by very small

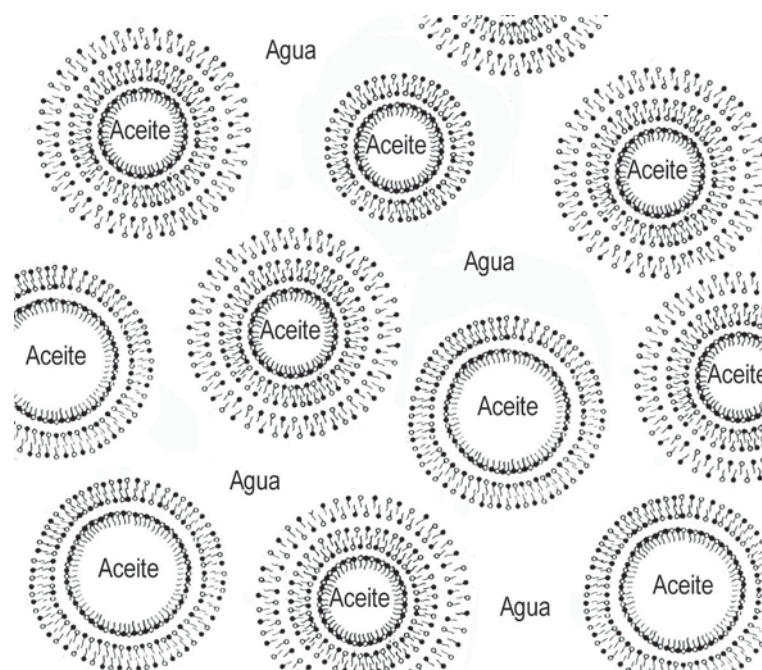
emulsiones formadas por gotas muy pequeñas agregando la fase oleosa sobre una fase líquida-cristalina que contiene parte de la fase acuosa –incluido el emulsionante. Después de formada una emulsión aceite en cristal líquido con apariencia de gel se agrega el resto de la fase acuosa, lo que conduce a la formación de una emulsión del tipo aceite en agua finamente dividida.

En las emulsiones con características líquido cristalinas se adsorben las moléculas del emulsionante (incluidas las de alcoholes de cadena larga y ácidos grasos, entre otras sustancias anfifílicas) en la interfase aceite-agua formando una multicapa ^{2, 3} (Figura 1). Esta multicapa que rodea a las gotas de la emulsión reduce las interacciones de van der Waals entre las gotas de aceite y actúa como una barrera contra la coalescencia ⁴. Susuki, Takei y Yamazaki ⁵ atribuyen la estabilidad de las emulsiones con cristales líquidos al incremento de la resistencia mecánica de la interfase aceite-agua y la fijación de las gotas de la emulsión a la estructura líquida-cristalina.

gouts can be obtained adding the oily phase over a liquid-crystalline phase which contains part of the aqueous phase- including the emulsifier. After the formation of an oil emulsion in liquid crystal with a gel appearance the rest of the aqueous phase is added, which carries to the formation of an oil-in-water emulsion type with small particles.

In emulsions with liquid-crystalline characteristics emulsifiers molecules are adsorbed (molecules of alcohols with long chain and oily acids, among others amphiphilic substances, included) in the oil-in-water middle phase forming a multiple-phase ^{2, 3} (Figure 1). This multiple-phase which surrounds the droplets of the emulsion reduces the interactions of van der Waals among the oil droplets and act as a barrier against the coalescence ⁴. Susuki, Takei and Yamazaki ⁵ attribute the stability of the emulsions with liquid crystals to the increment of the mechanic resistance of the oil-in-water middle phase and the fixing of the droplets of the emulsion to the liquid-crystalline structure.

FIGURA 1. Esquema de una emulsión con interfase líquida-cristalina.
FIGURE 1. Schema of a emulsion with liquid-crystalline interphase (aceite = oil and agua = water).



Los objetivos de este trabajo fueron los siguientes:

- a) Desarrollar una metodología que permita obtener emulsiones por dilución con agua, o una solución acuosa, de un concentrado que posee características líquido cristalinas y que contiene al emulsionante, a los componentes lipofílicos y a parte de la fase acuosa. Para determinar la composición de este concentrado, previamente se tuvo que confeccionar un diagrama de fases en el cual se delimitaron las zonas correspondientes a sistemas con características líquido cristalinas y a emulsiones. Estas emulsiones están constituidas por ácido esteárico, trietanolamina, vaselina líquida, agua, metil parabeno y propil parabeno.
- b) Comparar las características de esas emulsiones con otras de igual composición pero preparadas por técnicas convencionales, que no incluyen el paso por estructuras líquido cristalinas.
- c) Modificar la composición de las emulsiones ensayadas con el fin de obtener otras que las hagan más adecuadas para usos farmacéutico y/o cosmético.

MATERIALES Y MÉTODOS

La vaselina líquida usada poseía una viscosidad de 168 mPa.s a 20 °C. El "ácido esteárico" –en el sentido que se le da en las farmacopeas– era de calidad comercial y fue provisto por Materia Oleochemicals; su masa molecular relativa media, calculada a partir del índice de acidez, era igual a 270. De acuerdo al protocolo de análisis del fabricante, poseía 44,66 % de ácido palmítico y 47,05 % de ácido esteárico, además de los ácidos mirístico (2,15 %), pentadecanoico (1,40 %), margárico (3,70 %), oleico (0,31 %), nonadecanoico (0,34 %) y araquídico (0,39 %). En la elaboración de las emulsiones se realizó un duplicado con un ácido esteárico, también comercial, procedente de una droguería y sin datos del elaborador, cuyo punto de fusión, determinado por calorimetría diferencial de barrido, era de 57,20 °C y su masa molecular relativa media, determinada por titulación con hidróxido de sodio 0,1 M, era igual a 276 ± 1 .

La trietanolamina, de calidad comercial, cumplía con los requisitos establecidos en la

The aims of this work were the following ones:

- a) To develop a methodology which allows obtaining emulsions by water dilution, or an aqueous solution, of a concentrate which has liquid crystalline characteristics and which contains the emulsifier, the lipophilic components and part of the aqueous phase. To determinate the composition of this concentrate, it has been previously made a phases diagram where zones corresponding to systems with liquid-crystalline and emulsion characteristics were delimited. These emulsions are constituted by stearic acid, triethanolamine, mineral oil, water, methylparaben and propylparaben.
- b) To compare the characteristics of these emulsions with others with the same composition but prepared by conventional techniques, which do not include the passage through liquid-crystalline structures.
- c) To modify the composition of the experimented emulsions with the aim of being able to obtain others more suitable for the pharmaceutical and cosmetic usage.

MATERIALS AND METHODS

The mineral oil used had a viscosity equal to 168 mPa at 20 °C. The "stearic acid" –in the sense which is given in the pharmacopoeia– had a commercial quality and was provided by Materia Oleochemicals; its mean relative molecular mass, calculated according to the acidity index, was 270. According to the analysis protocol of the manufacturer, it had 44, 66% of palmitic acid and 47,05% of stearic acid, apart from myristic acid (2,15 %), pentadecanoic acid (1,40 %), margaric acid (3,70 %), oleic acid (0,31 %), nonadecanoic acid (0,34 %) and arachidic acid (0,39 %). In the emulsions' elaboration it has been realized a duplicate with an stearic acid, commercial too, proceeding from a drug store and without any information from the manufacturer, which fusion point, determinate by differential scanning calorimetry, was at 57,20 °C and its mean relative molecular mass, determinate by titration with sodium hydroxide 0,1 M, was equal to 276 ± 1 .

The triethanolamine, of a commercial quality, obeyed with the established requirements of the

Farmacopea Nacional Argentina VI. También se empleó 2-octil-1-dodecanol y miristato de isopropilo (Cognis), glicerina (Materia Oleochemicals), metil parabeno y propil parabeno (Ueno Fine Chemicals Industry Ltd).

Diagrama de fases

Se realizó un diagrama de fases del sistema formado por una mezcla emulsionante, vaselina líquida y agua. La mezcla emulsionante consistió de cantidades equimoleculares de ácido esteárico y de estearato de trietanolamina, que corresponde a una mezcla formada por 78,3 % en masa de un ácido esteárico cuya masa molecular relativa media es igual a 270 y 21,7 % de trietanolamina.

Se prepararon 53 muestras de 10 gramos cada una con cantidades variables de vaselina líquida, agua y mezcla emulsionante. Los componentes se pesaron en frascos de 20 cm³ de vidrio incoloro provistos de tapa y se mantuvieron durante una hora en estufa a 70-75 °C, agitándolos manualmente a intervalos de 15 minutos. Transcurrido ese tiempo, y sin dejarlas enfriar, se observaron en el microscopio polarizante con los polarizadores cruzados para detectar estructuras líquido cristalinas y con los polarizadores paralelos para observar emulsiones.

Preparación de las emulsiones

La composición de las emulsiones con ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 270 (E1 a E4) fue la siguiente:

Fase oleosa

Ácido esteárico: 15,00 %
Vaselina líquida: 20,00 %
Propil parabeno: 0,03 %

Fase acuosa

Trietanolamina: 4,14 %
Agua: 60,76 %
Metil parabeno: 0,07 %

En el duplicado (emulsiones E1', E2', E3' y E4'), realizado con un ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 276, se emplearon 4,05 % de trietanolamina y 60,85 % de agua.

Farmacopea Nacional Argentina VI. It has been also used 2-octyl-1-dodecanol and isopropyl myristate (Cognis), glycerine (Materia Oleochemicals), methylparaben and propylparaben (Ueno Fine Chemicals Industry Ltd).

Phases Diagram

It has been done a phases diagram of the system formed by a emulsifier mixture, mineral oil and water. The emulsifier mixture consisted on equimolecular quantities of stearic acid and triethanolamine stearate.

There have been prepared 53 samples of 10 grams each one with variable quantities of mineral oil, water and emulsifier mixture. The components were weighted in 20 cm³ glass flasks provided with cover and they were kept during an hour on a stove at 70-75 °C, shaking them manually at 15-minutes intervals. After this time, and without letting them get cold, they were observed in the polarizing microscope with the polarizers crossed to detect liquid crystalline structures and with the polarizers parallels to observe emulsions.

Emulsion's preparation

The emulsion's composition with stearic acid of mean relative molecular mass equal to 270 (E1 a E4) was the following one:

Oily phase

Stearic acid: 15,00 %
Mineral oil: 20,00 %
Propylparaben: 0,03 %

Aqueous phase

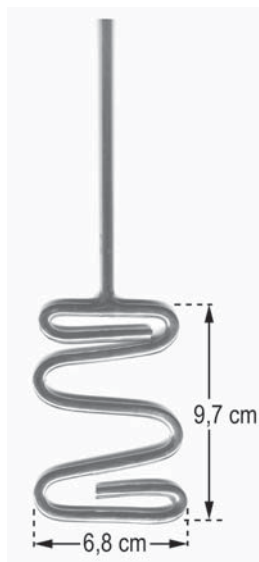
Triethanolamine: 4,14 %
Water: 60,76 %
Methylparaben: 0,07 %

In the duplicate (emulsions E1', E2', E3' and E4'), done with an stearic acid of mean relative molecular mass equal to 276, it was used 4,05 % of triethanolamine and 60,85 % of water.

It was prepared 500 g of each emulsion in a 1.000 ml beaker and mixed at 500 rpm through a stirrer with a blade with shape of grid (Figure 2). Emulsions were obtained at 70-75 °C in the following way:

Se prepararon 500 g de cada emulsión en un vaso de precipitados de 1.000 ml y se mezcló a 500 rpm mediante un agitador con paleta en forma de rejilla (Figura 2). Las emulsiones se obtuvieron a 70 y 75 °C de la siguiente manera:

FIGURA 2. Paleta del agitador usado en la preparación de las emulsiones.
FIGURE 2. Blade of the stirrer used in the preparation of emulsions.



- Emulsiones E1 y E1': Se prepararon por dilución con una solución acuosa de metil parabeno de un concentrado resultante de la incorporación de vaselina líquida y propil parabeno a la estructura líquido cristalina de una mezcla formada por ácido esteárico, trietanolamina y parte del agua.
- Emulsiones E2 y E2': Se preparó el concentrado con características líquido cristalinas agregando el ácido esteárico, la vaselina líquida y el propil parabeno, en caliente y agitando, a una mezcla formada por trietanolamina y parte del agua. Después de homogeneizar, se diluyó la mezcla anterior con el agua restante que contenía disuelto al metil parabeno.
- Emulsiones E3 y E3': Se agregó lentamente y agitando la fase oleosa —ácido esteárico, vaselina líquida y propil parabeno— sobre la acuosa —agua, trietanolamina y metil parabeno—.
- Emulsiones E4 y E4': Se agregó lentamente y agitando la fase acuosa sobre la oleosa.
- Emulsions E1 and E1': They were prepared by dilution with an aqueous solution of methylparaben of a concentrate obtained after adding mineral oil and propylparaben to the liquid crystalline structure of a mixture formed by stearic acid, triethanolamine and part of water.
- Emulsions E2 and E2': The concentrate with liquid crystalline characteristics was prepared adding the stearic acid, the mineral oil and the propylparaben, hot and shaking it to a mixture formed of triethanolamine and part of water. After homogenizing it, the mentioned mixture was diluted with the rest of the water which contained methylparaben dissolved.
- Emulsions E3 and E3': While shaking, it was slowly added the oily phase —stearic acid, mineral oil and propylparaben— to the aqueous one —water, triethanolamine and methylparaben.
- Emulsions E4 and E4': While shaking, it was slowly added the aqueous phase to the oily one.

En todos los casos se agitó hasta que la temperatura descendió a algo menos de 40 °C.

Ensayos realizados sobre las emulsiones

Todos los ensayos realizados sobre las emulsiones se efectuaron después de un almacenamiento de por lo menos 30 días a temperatura ambiente.

Tipo de emulsión

Con el fin de confirmar que las emulsiones formadas eran del tipo aceite en agua se utilizó un papel indicador con cloruro de cobalto (II): el viraje del azul al rosado en pocos segundos indica que la fase externa es la acuosa. También se realizaron medidas de la conductividad eléctrica específica con un conductímetro Parsec modelo Antares VI a $25 \pm 0,5$ °C.

Observación microscópica

Se emplearon un microscopio óptico Arcano modelo XSZ-107 E provisto de ocular graduado y cámara fotográfica y un microscopio polarizante Nikon modelo HFX-DX, también con cámara fotográfica.

Tamaño de partículas

Para determinar la distribución del tamaño de las gotas de las emulsiones se utilizó un equipo Malvern Mastersizer X y como circulador una unidad de pequeño volumen MSX-1.

Se dispersaron unos 100 mg de cada muestra en 10 ml de agua destilada y se dejaron estabilizar durante aproximadamente dos minutos. Se utilizó una lente de distancia focal de 100 mm.

Este ensayo se realizó solamente sobre las emulsiones E1, E2, E3 y E4.

Viscosidad

Las mediciones se realizaron a $25 \pm 0,5$ °C utilizando un viscosímetro Brookfield con rotor N° 5 y una velocidad angular de 0,5 rpm. Se realizaron lecturas cada 5 minutos durante 1 hora.

In every case it had been shaken until the temperature dropped below 40 °C.

Examinations done on the emulsions:

All the examinations done on the emulsions were done after a storage of at least 30 days at ambient temperature.

Emulsion type

With the aim of confirming that emulsions obtained were from the oil-in-water type, an indicator paper was used with chloride of cobalt (II); the sudden change from blue to pink, indicates that the external phase is the aqueous one. It has also been measured the specific electric conductivity with a conductimeter Parsec Antares VI model at a $25 \pm 0,5$ °C.

Microscope observation

There have been employed an Arcano optic microscope XSZ-107 E model provided of a graduated ocular and a photographic camera, and a polarizer Nikon microscope HFX-DX model with photographic camera, too.

Particle size

To determine the distribution of the emulsions' droplets size it was used a Malvern Mastersizer X equipment, and as a circulator, an unit of small volume MSX-1.

100 mg of each sample were dispersed in 10 ml of distilled water and were let stabilized during two minutes approximately. It was used a lens with focal length of 100 mm.

This examination was only done on emulsions E1, E2, E3 y E4.

Viscosity

Measures were done at $25 \pm 0,5$ °C using a Brookfield with spindle N° 5 at an angular speed of 0,5 rpm. There were made lectures every 5 minutes during 1 hour.

Estrés térmico

Las emulsiones se sometieron a estrés térmico consistente en almacenamientos consecutivos durante 48 horas a cada una de las siguientes temperaturas: 40 ± 2 °C, 5 ± 2 °C y 40 ± 2 °C. Al finalizar este ensayo se observaron las muestras a simple vista y con microscopio polarizante con el fin de detectar separación de fases y cambios en las características líquido cristalinas.

Estabilidad física a 40 °C

Las muestras se almacenaron durante 1 mes a 40 ± 2 °C. Al finalizar este ensayo se observó visualmente para detectar separación de fases y con microscopio polarizante.

Centrifugación

Se utilizó una centrífuga Rolco modelo 2036. Se centrifugaron 10,0 g de cada emulsión, contenidos en tubos graduados de fondo cónico, durante 30 minutos y a 2.500 rpm. La distancia desde el centro de cada tubo al eje de la centrífuga es de 8,5 cm, lo que origina una aceleración 590 veces superior a la de la gravedad.

pH

Se midió el pH de las dispersiones al 10 % en masa con un instrumento Altronix TPA III. Para cada emulsión se tomó el promedio de tres mediciones y se expresó el resultado con un decimal.

RESULTADOS

Diagrama de fases

De las 53 muestras preparadas, 24 presentaban birrefringencia al ser observadas bajo el microscopio polarizante, lo que indica que poseían una estructura líquido cristalina, 9 eran emulsiones y el resto eran sistemas homogéneos no birrefringentes o bien presentaban separación de fases. La zonas correspondientes a cristales líquidos y a emulsiones están representadas en el diagrama triangular de la Figura 3.

Thermal stress

Emulsions were submitted to thermal stress consisted in consecutive storages during 48 hour at each of the followings temperatures: 40 ± 2 °C, 5 ± 2 °C y 40 ± 2 °C. At the end of the test, samples were observed at first sight and with polarizer microscope in order to detect phases dissociation and changes in the liquid crystalline characteristics.

Physic stabilization at 40 °C

The samples were store during 1 month at 40 ± 2 °C. At the end of this test, it was visually observed to detect phases separation. It was also observed with polarizer microscope.

Centrifugation

It was used a Rolco centrifuge 2036 model. 10,0 g at each emulsion were spun inside graded tubes with conical bottom, during 30 minutes and at 2.500 rpm. The distance from the centre of each tube to the axis of the centrifuge is of 8,5 cm, what originates an acceleration 590 times superior to gravity one.

pH

The pH of the dispersions was measured at 10 % in weight with an Altronix TPA III instrument. For each emulsion it was taken into account the average of three measures and the result was expressed with one decimal.

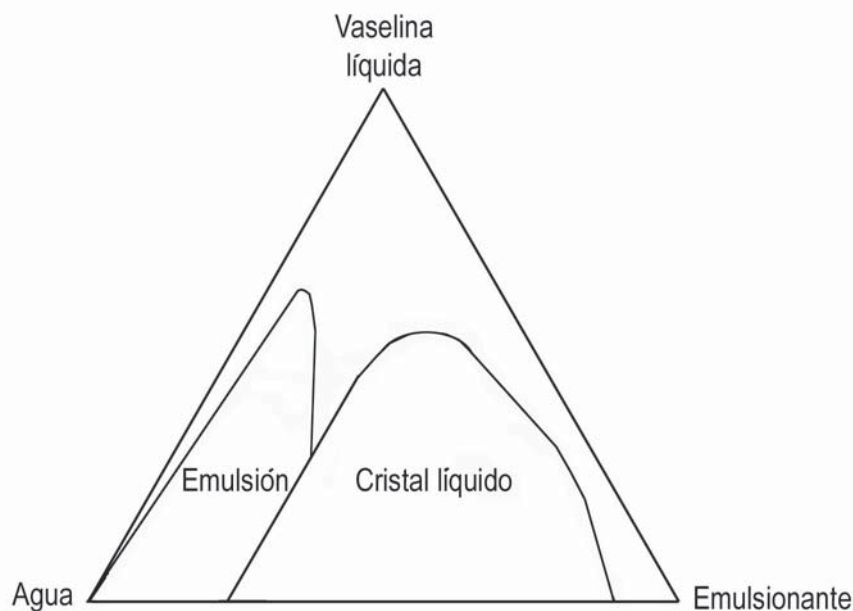
RESULTS

Phases Diagram

From the 53 samples, 24 presented birefringence when observed with the polarizer microscope, this indicates that they had a liquid crystalline structure; 9 were emulsions and the rest were homogeneous systems no birefringents or which showed phases dissociation. The liquid crystals and emulsions zones are represented in the triangular diagram of Figure 3.

FIGURA 3. Diagrama de fases del sistema constituido por emulsionante (mezcla equimolecular de estearato de trietanolamina y ácido esteárico comercial), vaselina líquida y agua. Figuran únicamente las zonas correspondientes a sistemas líquido cristalinos y emulsiones.

FIGURE 3. Phase diagram of the system constituted by emulsifier (equimolecular blend of triethanolamine stearate and commercial stearic acid), mineral oil and water. Only the zones of liquid-crystalline systems and emulsions was drawn.



La apariencia al microscopio con los polarizadores cruzados, la alta viscosidad, la textura filamentosa y la conductividad eléctrica específica sugieren que la fase líquido cristalina es la hexagonal normal (H_1).

Sobre la base del diagrama de fases obtenido se determinaron las composiciones de dos puntos (1 y 2) con características líquido cristalinas, que corresponden a las dos primeras etapas de la elaboración de las emulsiones E1 y E1' (Tabla 1). Para determinar la composición del punto 2, el contenido de vaselina líquida se hizo igual a 40 %.

The appearance at the microscope with the polarizers crossed, the high viscosity, the filamentous texture and the specific electric conductivity suggest that the liquid crystalline phase is the hexagonal normal (H_1).

Taking as basis the obtained phases diagram, the composition of two points with liquid crystalline characteristics (1 and 2) were determined, which corresponded to the two first stages of emulsions E1 and E1' elaboration (Table 1). To determinate the composition of point 2, the mineral oil enclosure was done equal to 40%.

TABLA 1. Composiciones de los puntos 1 y 2 del diagrama de fases.
TABLE 1. Compositions of the points 1 and 2 of the phase diagram.

Componente	Porcentaje en el punto 1		Porcentaje en el punto 2	
	E1	E1'	E1	E1'
Ácido esteárico	50,00	50,00	30,00	30,00
Vaselina líquida	0,00	0,00	40,00	40,00
Propil parabeno	0,00	0,00	0,06	0,06
Trietanolamina	13,80	13,50	8,28	8,10
Metil parabeno	0,00	0,00	0,00	0,00
Agua	36,20	36,50	21,66	21,84

En la Figura 4 se representaron las tres etapas de la preparación de las emulsiones E1 y E1'. La composición de las emulsiones está representada por el punto 3 del diagrama de fases. El punto 2 corresponde al concentrado con características líquido cristalinas que contiene parte del agua, el emulsionante y la vaselina líquida, mientras que el punto 1 corresponde al mismo sistema anterior, pero sin la vaselina líquida. La Figura 5 corresponde a las microfotografías obtenidas con polarizadores cruzados que corresponden a los sistemas representados por los puntos 1 y 2.

In Figure 4 were represented the three stages of emulsions E1 and E1' preparation. The composition of the emulsions is represented by point 3 of the phases diagram. Point 2 corresponds to the concentrate with liquid crystalline characteristics which contents part of the water, the emulsifier and the mineral oil, while point 1 corresponds to the same system previously mentioned, but without mineral oil. Figure 5 corresponds to microphotographies obtained with crossed polarizers which corresponds to systems represented by points 1 and 2.

FIGURA 4. Etapas de la preparación de las emulsiones E1 y E1'.
FIGURE 4. Steps in the preparation of the emulsions E1 and E1'.

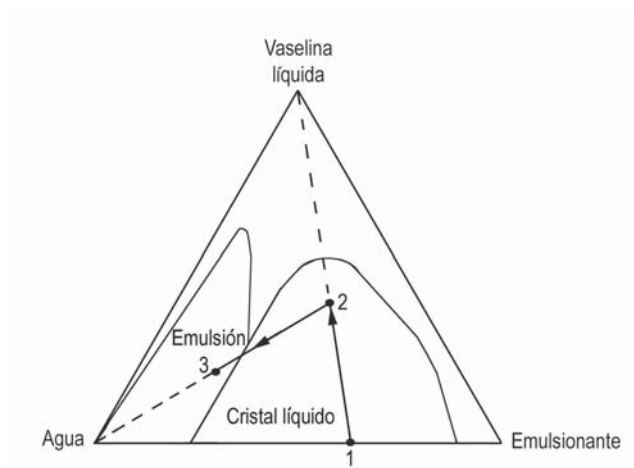
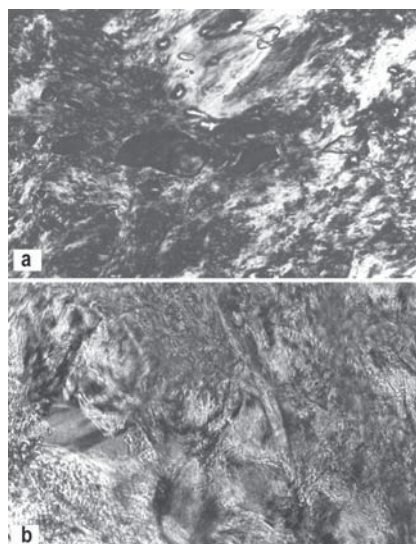


FIGURA 5. Microfotografías obtenidas con polarizadores cruzados y 200 aumentos: (a) sistema representado por el punto 1 en el diagrama de fases de la Figura 4; (b) sistema representado por el punto 2 en el diagrama de fases de la misma figura.

FIGURE 5. Microphotographies obtained with crossed polarizers and a magnification of 200 X: (a) system represented by the point 1 in the phases diagram of the Figure 4; (b) system represented by the point 2 in the phase diagram of the same Figure.



Tipo de emulsión

Por medio del papel indicador con cloruro de cobalto (II) se determinó que todas las emulsiones eran del tipo aceite en agua. Este resultado es concordante con las mediciones de conductividad eléctrica específica (Tabla 2).

Emulsion type

Thanks to the indicator paper with chloride of cobalt (II) it was determined that all the emulsions were from the oil-in-water type. This result is concordant to the measures of specific electric conductivity (Table 2).

TABLA 2. Conductividad eléctrica específica a 25 °C de las emulsiones.
TABLE 2. Specific electric conductivity at 25 °C of the emulsions.

Emulsión	Conductividad eléctrica específica (μS/cm)	Emulsión	Conductividad eléctrica específica (μS/cm)
E1	118	E1'	248
E2	387	E2'	149
E3	283	E3'	165
E4	227	E4'	194

Observación microscópica

Observadas al microscopio óptico con luz ordinaria y 400 aumentos (Figura 6), en las emulsiones E2, E3, E4, E2', E3' y E4' predominaban dos tipos de partículas con tamaños bien diferenciados entre sí: (a) partículas pequeñas con bordes mal definidos y (b), partículas grandes (gotas secundarias) resultantes de la aglomeración de las pequeñas. Por dilución 1:10 con agua destilada se pudieron observar a las gotas pequeñas y a las secundarias con mayor nitidez (Figura 7). En las emulsiones E1 y E1' se observaron únicamente las partículas pequeñas.

Microscope Observation

Observed at optic microscope with ordinary light and 400 augmentations (Figure 6), in emulsions E2, E3, E4, E2', E3' and E4' predominated two types of particles with different size between them: (a) small particles with bad definite borders and (b) big particles (secondary droplets) resulting of the agglomeration of the small ones. Little and secondary droplets could be observed with greater neatness by dilution 1:10 with distilled water (Figure 7). Only small particles were observed in emulsions E1 and E1'.

FIGURA 6. Microfotografías de las emulsiones sin diluir obtenidas con luz ordinaria.
FIGURE 6. Microphotographies of the emulsions without dilution obtained with ordinary light.

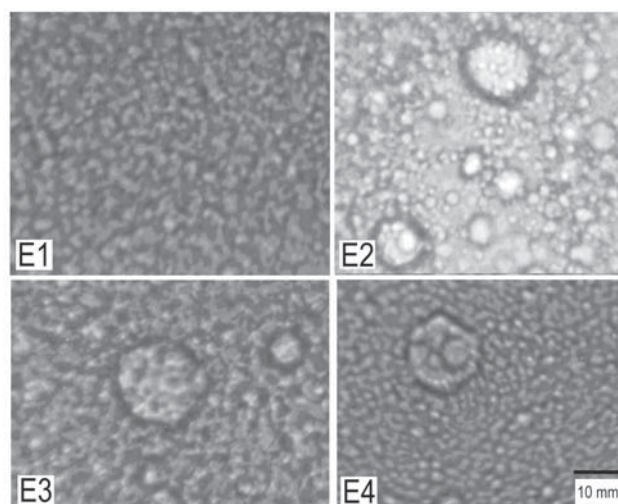
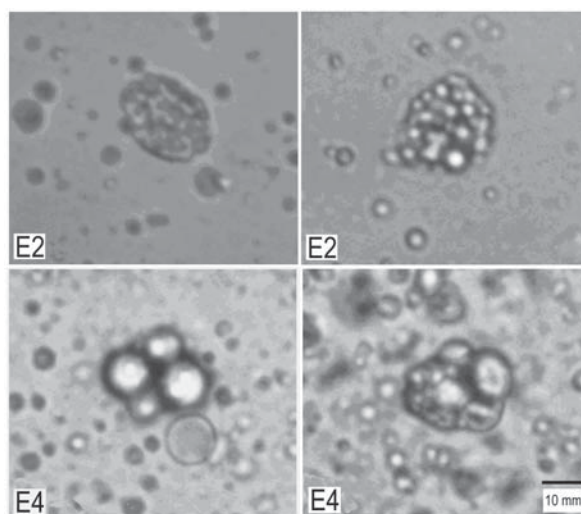


FIGURA 7. Microfotografías de las gotas secundarias de las emulsiones E2 y E4 (diluidas 1:10 con agua destilada) obtenidas con luz ordinaria.

FIGURE 7. Microphotographies of the secondary droplets of the emulsions E2 and E4 (diluted 1:10 with distillate water) obtained with ordinary light.



Bajo el microscopio polarizante, con 200 aumentos y los polarizadores cruzados, en todas las emulsiones se observaron cruces de extinción^{6, 7, 8}(Figura 8) que son características de la fase líquido cristalina laminar⁹. Las emulsiones que poseían mayor birrefringencia fueron E2, E2', E3 y E3'. Luego le seguían las emulsiones E1 y E1', mientras que las de menor birrefringencia eran las emulsiones E4 y E4'. En las emulsiones E2 y E2' predominaban las cruces de extinción uniaxiales positivas (Figura 9a) y en las restantes las uniaxiales negativas (Figura 9b)¹⁰.

Under the polarizer microscope, with 200 augmentations and with crossed polarizers, in every emulsion extinction crosses^{6, 7, 8} were observed (Figure 8) which are characteristics of the laminar liquid crystalline phase⁹. The emulsions which had more birefringence were E2, E2', E3 and E3'; followed by emulsions E1 and E1'. While the ones with less birefringence were emulsions E4 and E4'. In emulsions E2 and E2' predominated positive uniaxial extinction crosses (Figure 9a) and in the rest, negative uniaxial extinction crosses (Figure 9b)¹⁰.

FIGURA 8. Microfotografías de las emulsiones E1, E2, E3 y E4 x 200 aumentos obtenidas con polarizadores cruzados.

FIGURE 8. Microphotographies of the emulsions E1, E2, E3 and E4 (200 X) obtained with crossed polarizers.

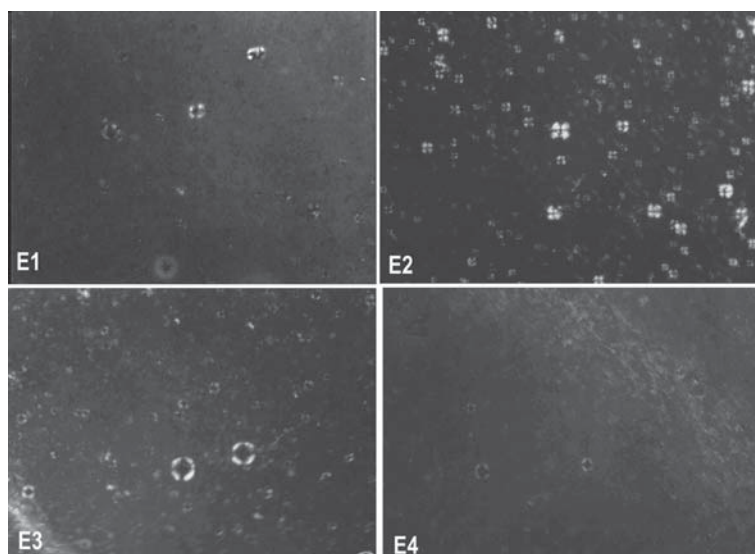
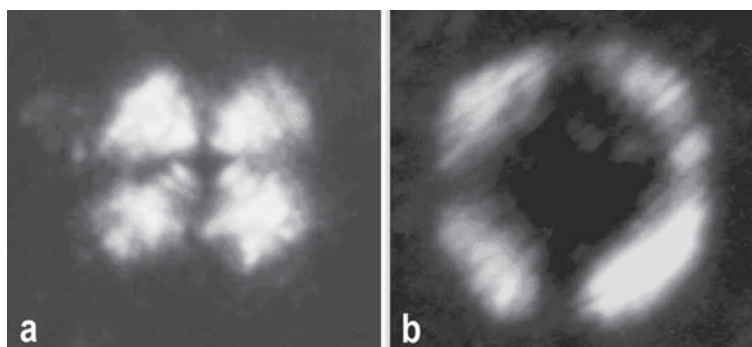


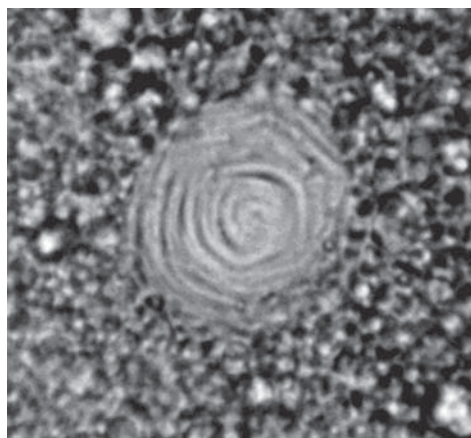
FIGURA 9. Cruces de extinción: (a) uniaxial positiva (emulsión E2) y (b) uniaxial negativa (emulsión E3).
FIGURE 9. Extinction crosses: (a) uniaxial positive (emulsion E2) and (b) uniaxial negative (emulsion E3).



En las emulsiones E2 y E2' se observan cristales planos de forma hexagonal, de $20\ \mu\text{m}$ a $50\ \mu\text{m}$ de diámetro, muchos de los cuales presentan un crecimiento en espiral (Figura 10). Este tipo de crecimiento fue descrito en cristales de ácido esteárico obtenidos por evaporación de soluciones diluidas ^{11, 12, 13, 14}.

In emulsions E2 and E2', plane crystals were observed with a hexagonal shape with a diameter from $20\ \mu\text{m}$ to $50\ \mu\text{m}$, most of them showed a spiral growth (Figure 10). This type of growth was described in stearic acid crystals obtained by evaporation of diluted solutions ^{11, 12, 13, 14}.

FIGURA 10. Cristal con crecimiento en espiral.
FIGURE 10. Crystal with spiral growth.



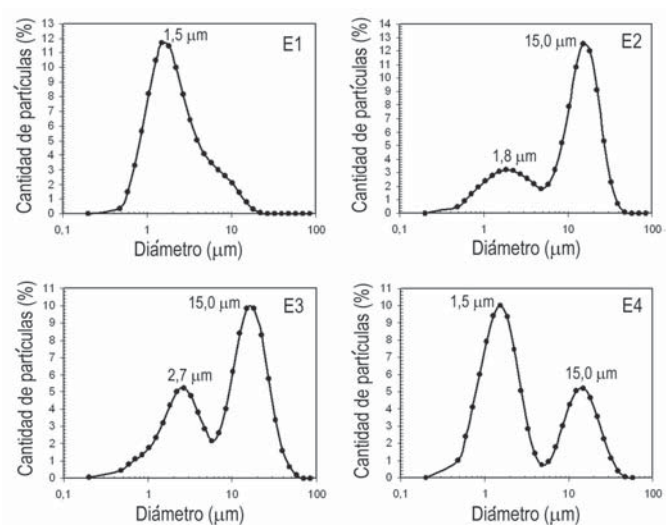
Tamaño de partículas

La curva que corresponde a la emulsión E1 (Figura 11) presenta solo máximo, que corresponde a un diámetro de partículas igual a $1,5\ \mu\text{m}$. Las curvas para las restantes emulsiones poseen dos máximos. El primero se presenta en $1,8\ \mu\text{m}$ para la emulsión E2, en $2,7\ \mu\text{m}$ para E3 y en $1,5\ \mu\text{m}$ para E4. El segundo máximo, que no aparece en E1, corresponde a $15,0\ \mu\text{m}$. En las emulsiones E1 y E4 predominan las partículas pequeñas y en E2 y E3 las grandes.

Particles size

Emulsion E1 curve (Figure 11) presents only one maximum, which corresponds to a particle diameter equal to $1,5\ \mu\text{m}$. The rest of the emulsions curves have two maximums. The first of them is found at $1,8\ \mu\text{m}$ for emulsion E2, at $2,7\ \mu\text{m}$ for E3 and at $1,5\ \mu\text{m}$ for E4. The second one, which does not appeared in E1, corresponds to $15,0\ \mu\text{m}$. In emulsions E1 and E4 predominate little particles but in E2 and E3 predominate the big ones.

FIGURA 11. Distribución de los tamaños de las gotas en las emulsiones E1, E2, E3 y E4.
FIGURE 11. Droplet size distribution in the emulsions E1, E2, E3 and E4.



Viscosidad

En la Figura 12 se representó la dependencia con el tiempo de la viscosidad de las emulsiones preparadas con el ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 270. Los valores obtenidos después de transcurrida 1 hora figuran en la Tabla 3. Se observa que, con respecto a la viscosidad, hay un comportamiento similar entre las emulsiones E2 y E3 (baja viscosidad) y E1 y E4 (alta viscosidad). Algo similar ocurre con las emulsiones obtenidas con el ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 276 (Figura 13).

Viscosity

In Figure 12 was represented the dependence with the viscosity time of emulsions prepared with stearic acid of mean relative molecular mass equal to 270. The obtained results after 1 hour are shown in Table 3. It is observed that, according to viscosity, there is a similar behaviour between emulsions E2 and E3 (low viscosity) and between emulsions E1 and E4 (high viscosity). Something similar occurs with the emulsions obtained with the stearic acid of mean relative molecular mass equal to 276 (Figure 13).

FIGURA 12. Viscosidad de las emulsiones con ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 270 en función de la duración de la medición.

FIGURE 12. Viscosity vs. duration of the measures in the emulsions with stearic acid of mean relative molecular mass equal to 270.

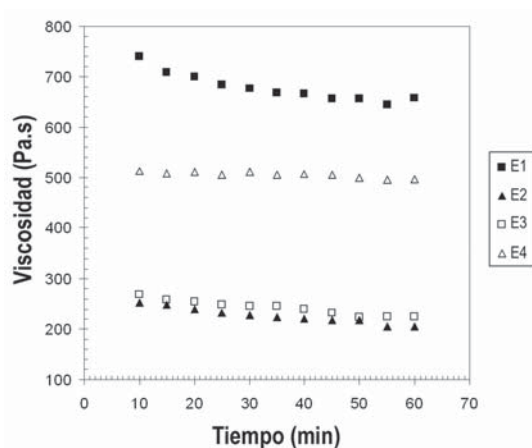
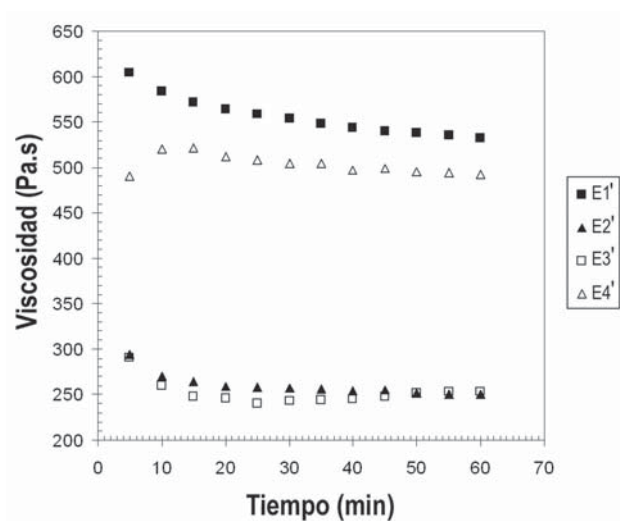


TABLA 3. Viscosidad de las emulsiones para una duración de las mediciones de 1 hora con rotor N° 5 a 0,5 rpm.**TABLE 3.** Viscosity of the emulsions for a duration of the measures of 1 hour with spindle N° 5 at 0,5 rpm.

Emulsión	Viscosidad (Pa.s)	Emulsión	Viscosidad (Pa.s)
E1	532	E1'	658
E2	250	E2'	204
E3	254	E3'	225
E4	492	E4'	496

FIGURA 13. Viscosidades de las emulsiones con ácido esteárico de masa molecular relativa media igual a 276 en función de la duración de la medición.**FIGURE 13.** Viscosity vs. duration of the measures in the emulsions with stearic acid of mean relative molecular mass equal to 276.

Estabilidad física

En ninguna de las emulsiones se observó separación de fases ni cambios en las características líquido cristalinas después de los ensayos de estrés térmico, estabilidad física a 40 °C y centrifugación.

pH

El pH de las emulsiones estuvo comprendido entre 8,6 y 8,7 (Tabla 4).

Physic stability

In any of the emulsions could either be observed phases dissociation nor the liquid crystalline characteristics after the examination of thermal stress, physic stabilization at 40 °C and centrifugation.

pH

The pH of the emulsions was within 8,6 and 8,7 (Table 4).

TABLA 4. Valores del pH de las emulsiones.**TABLE 4.** Values of the pH of the emulsions.

Emulsión	pH	Emulsión	pH
E1	8,6	E1'	8,7
E2	8,7	E2'	8,6
E3	8,6	E3'	8,6
E4	8,7	E4'	8,6

Modificación de la fórmula de las emulsiones

Utilizando la misma técnica que la empleada para elaborar la emulsión E2 se prepararon seis nuevas emulsiones, E5, E6, E7, E8, E9 y E10, cuyas fórmulas finales se dan en la Tabla 5.

Modifications to emulsions formula

With the same technique employed when emulsion E2 was elaborated, six new emulsions were prepared: E5, E6, E7, E8, E9 and E10; their final formulas are described in Table 5.

TABLA 5. Composición de las emulsiones obtenidas modificando la fórmula común a las emulsiones E1, E2, E3 y E4.

Componente	E5 (%)	E6 (%)	E7 (%)	E8 (%)	E9 (%)	E10 (%)
Ácido esteárico	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Vaselina líquida	20,00	20,00	10,00	10,00	5,00	5,00
2-octil-1-dodecanol	---	---	10,00	---	10,00	10,00
Miristato de isopropilo	---	---	---	10,00	5,00	5,00
Propil parabeno	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Agua	58,76	55,76	60,76	60,76	60,76	55,76
Glicerina	2,00	5,00	---	---	---	5,00
Trietanolamina	4,14	4,14	4,14	4,14	4,14	4,14

Las características de estas emulsiones son:

- Emulsión E5: Contiene 2 % de glicerina. La glicerina actúa como humectante y protector de la piel ¹⁵. Posee una alta birrefringencia (abundantes cruces de extinción) y presenta gotas secundarias (Figura 14).
- Emulsión E6: Contiene 5 % de glicerina. Posee una baja birrefringencia (pocas cruces de extinción) y se observan pocas gotas secundarias.
- Emulsión E7: En esta emulsión se reemplazó a la mitad de la vaselina líquida de la fórmula original por 2-octil-1-dodecanol, sustancia que actúa como emoliente ¹⁵. Es altamente birrefringente y presenta abundantes gotas secundarias (Figura 14).
- Emulsión E8: Se reemplazó a la mitad de la vaselina líquida de la fórmula original por miristato de isopropilo, componente que actúa como emoliente ¹⁵ y potenciador de la penetración dérmica ¹⁶. Posee una alta birrefringencia y presenta gotas secundarias (Figura 14). Posee abundantes cristales hexagonales planos con crecimiento en espiral de 10 μm a 50 μm de diámetro.
- Emulsión E9: Se reemplazó a la mitad de la vaselina líquida por 2-octil-1-dodecanol y a la cuarta parte por miristato de isopropilo. Esta emulsión es birrefringente y posee gotas secundarias (Figura 14).

The characteristics of these emulsions are the following ones:

- Emulsion E5: It contains 2% of glycerine. The glycerine acts as both a moistening and skin protector. It has high birefringence (abundant amount of extinction crosses) and presents secondary droplets (Figure 14).
- Emulsion E6: It contains 5 % of glycerine. It has low birefringence (few extinction crosses) and few secondary droplets are observed.
- Emulsion E7: In this emulsion half of the mineral oil of the original formula was replaced by 2-octyl-1-dodecanol, substance that acts as emollient ¹⁵. It is highly birefringent and presents lots of secondary droplets (Figure 14).
- Emulsion E8: Half of mineral oil of the original formula was replaced by isopropyl myristate, component which acts as emollient ¹⁵ and enhancer of dermal permeation ¹⁶. It has high birefringence and presents secondary droplets (Figure 14). It has plane hexagonal crystals with spiral growth with a diameter which goes from 10 μm to 50 μm.
- Emulsion E9: Half of mineral oil was replaced by 2-octyl-1-dodecanol and a quarter part of it was replaced by isopropyl

Presenta abundantes cristales hexagonales planos (sin crecimiento en espiral) de 10 μm a 20 μm .

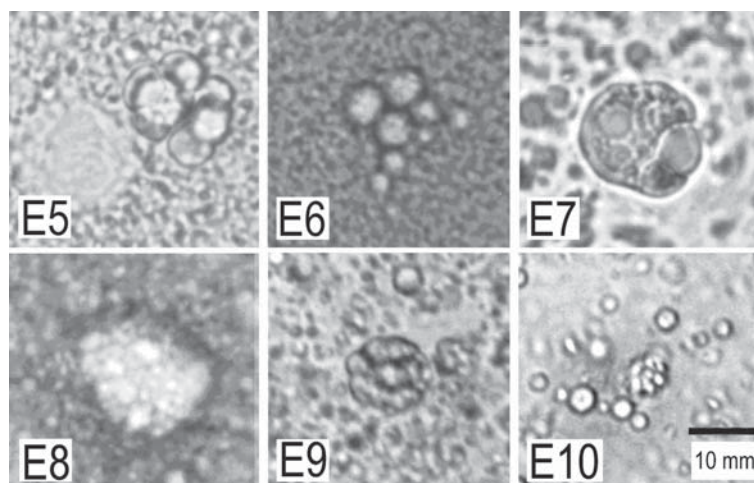
- Emulsión E10: Es similar a la anterior, pero se reemplazó el 5 % del agua por glicerina. Es poco birrefringente y posee una baja proporción de gotas secundarias (Figura 14).

myristate. This emulsions are birefringent and has secondary droplets (Figure 14). It presents abundant amount of hexagonal crystals (without spiral growth) with a diameter of 10 μm to 20 μm .

- Emulsion E10: It is similar to the one before, but in this emulsion 5% of water was replaced with glycerine. It is little birefringent and has low proportion of secondary droplets (Figure 14).

FIGURA 14. Microfotografías de las gotas secundarias de las emulsiones E5, E6, E7, E8, E9 y E10 obtenidas con luz ordinaria.

FIGURE 14. Microphotographies of the secondary droplets of the emulsions E5, E6, E7, E8, E9 and E10 obtained with ordinary light.



DISCUSIÓN

En este trabajo se demostró que la forma de preparación de una emulsión influye en forma significativa sobre la proporción de estructuras líquida-cristalinas que posee, estimada a través de efectos ópticos derivados de la birrefringencia, tales como la observación de cruces de extinción. La mayor birrefringencia se presenta en las emulsión E2 y en su duplicado E2', que se prepararon diluyendo con la fase acuosa al concentrado líquido-cristalino formado al agregar la fase oleosa a parte de la acuosa que contiene toda la trietanolamina. Una birrefringencia algo menor se observa en las emulsiones E3 y E3', que se obtuvieron agregando la fase oleosa sobre la totalidad de la fase acuosa. Las emulsiones menos birrefringentes fueron las E4 y E4', obtenidas agregando la fase acuosa sobre la oleosa.

Las emulsiones E2, E2', E3, E3', E4 y E4' presentan gotas secundarias, que son agregados

DISCUSSION

This work helped to demonstrate that the way emulsions are prepared influences significantly on the proportion of liquid crystalline structures that it possesses, estimated through optic effects derived from the birefringence, such as extinction crosses observation. The greatest birefringence is found in emulsion E2 and its duplicate E2', both were prepared diluting with the aqueous phase, the liquid crystalline concentrate formed when added to the oily phase part of the aqueous phase which contains all the triethanolamine. A smaller birefringence is observed in emulsions E3 and E3', which were obtained adding the oily phase into the all the aqueous one. The least birefringents emulsions were E4 and E4', obtained adding the aqueous phase into the oily one.

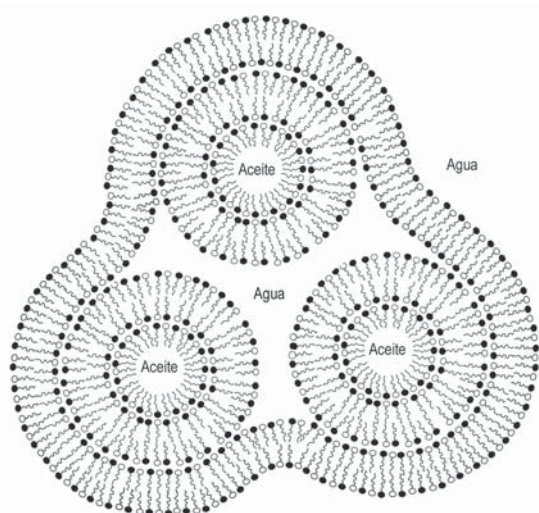
Emulsions E2, E2', E3, E3', E4 and E4' present secondary droplets, which are aggregates of droplets surrounded by a laminar lyotropic structure

de gotas rodeadas por una estructura liotrópica laminar formada por un tensioactivo, un alcohol de cadena larga –o un ácido graso– y agua (Figura 15). Las curvas de distribución de tamaños de partículas en emulsiones con este tipo de agregados presenta dos máximos: uno para las gotas sin agrupar y otro para las gotas secundarias ¹⁶.

formed by a surfactant, a long chain alcohol –or a fatty acid– and water (Figure 15). The curves of the particle size distribution in emulsions with this type of aggregation present two maximums: one for droplets that are not joined and another for secondary droplets ¹⁶.

FIGURA 15. Esquema de una gota secundaria.

FIGURE 15. Schema of a secondary droplet (aceite= oil and agua= water).



Las emulsiones con mayor proporción de gotas secundarias (E2 y E3) son las que poseen menor viscosidad y las que presentan mayor birrefringencia cuando se observan al microscopio polarizante con los polarizadores cruzados. La baja viscosidad de estas emulsiones se puede atribuir a la reducción del área de la interfase aceite-agua debida a la formación de las gotas secundarias, que es favorecida por la presencia de estructuras líquida-cristalinas. En la emulsión E4 la proporción de gotas secundarias es, por lo menos, un 50 % menor que en las anteriores, mientras que la viscosidad es algo mayor al doble. La mayor viscosidad se presenta en la emulsión E1, que no posee gotas secundarias. Estas dos últimas emulsiones son las menos birrefringentes.

En todas las emulsiones con gotas secundarias, la curva de distribución de tamaños presenta un máximo a 15 μm , por lo cual la cantidad de gotas presentes en promedio en una gota secundaria varía entre algo más de 500 (E3) y aproximadamente 1.000 (E4).

The emulsions with greater proportion of secondary droplets (E2 and E3) are the ones that possess more birefringence when observed with the crossed polarizer. The low viscosity of these emulsions can be attributed to the reduction of the area of the oil-water middle phase due to the formation of secondary droplets, which is helped by the presence of liquid crystalline structures. In emulsion E4 the proportion of secondary droplets is, at least, 50 % less than in the previously ones; while viscosity is a bit more than twice the previously ones. Greatest viscosity is presented in emulsion E1, which does not have secondary droplets. These two last emulsions are the least birefringents.

In all the emulsions with secondary droplets, the curve of the size distribution presents a maximum at 15 μm , that is why the quantity of current droplets, on average, in a secondary droplet, varies among a bit more of 500 (E3) and approximately 1000 (E4).

Los ensayos realizados demostraron que es posible modificar la composición de la emulsión E2 para obtener otras más adecuadas para usos farmacéutico y/o cosmético que mantienen las características líquido cristalinas. El reemplazo de parte de la vaselina líquida por 2-octil-1-dodecanol (emoliente no grasoso) o por miristato de isopropilo (emoliente no grasoso y potenciador de la penetración dérmica) no modifica las características líquido cristalinas. El agregado de glicerina, en cambio, hace a las emulsiones menos birrefringentes, razón por la cual debe regularse su concentración a un valor adecuado o bien se deben ensayar otras sustancias humectantes tales como el propilenglicol y el sorbitol. En estas emulsiones, al igual que en E1, E2, E3 y E4, también se observa una relación entre características líquida-cristalinas y presencia de gotas secundarias.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el aporte financiero para este trabajo provisto por UBACyT (Proyecto BO 43) y a la licenciada Mirta González, del Laboratorio de Mineralogía del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", por permitirnos utilizar el microscopio polarizante con el que se obtuvieron las microfotografías.

The examinations done demonstrate that is possible to modify the composition of emulsion E2 to obtained other ones more adequate for chemical and/or cosmetic usage, that keep the liquid crystalline characteristics. The replacement of part of the mineral oil for 2-octyl-1-dodecanol (no greasy emollient) or for isopropyl myristate (no greasy emollient and enhancer of dermal permeation) does not modify the liquid crystalline characteristics. On the other hand, the glycerine aggregate makes emulsions less birefringents, which is way its concentration must be regulated to an adequate value or other moistening substances should be studied such as propylenglycol and sorbitol. In these emulsions, as in emulsions E1, E2, E3 and E4 is also observed a relationship between liquid crystalline characteristics and the presence of secondary droplets.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors thank the financial support for this investigation provided by UBACyT (Project BO 43) and to the licentiate Mirta González, from the Mineralogy Laboratory from the Argentine Nature Science Museum "Bernardino Rivadavia", for giving the possibility to use the polarizer microscope from where microphotographies were obtained.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Suzuki T. Application of lyotropic liquid crystals to cosmetics. *Ekisho* 1998; 2 (3): 24-31.
2. Friberg S. Liquid crystalline phases in emulsions. *J Colloid Interf Sci* 1971; 37 (2): 291-295.
3. Eccleston GM. Multiple-phase oil-in-water emulsions. *J Soc Cosmet Chem* 1990; 41: 1-22.
4. Engels T, Von Rybinski W. Liquid crystalline surfactant phases in chemical applications. *Henkel-Referate* 1999; 35: 38-46.
5. Suzuki T, Takei H, Yamazaki S. *J Colloid Interf Sci* 1989; 129 (2): 491-500.
6. Rosevear FB. The microscopy of the liquid crystalline neat and middle phases of soaps and synthetic detergents. *J Am Oil Chem Soc* 1954; 31: 628-639.
7. Rosevear FB. Liquid crystals: The mesomorphic phases of surfactant compositions. *J Soc Cosmet Chem* 1968; 19: 581-594.
8. Pasquali RC, Bregni C, Serrao, R. Identificación de fases líquido cristalinas con el microscopio polarizante. *Cosmética, revista de la Asociación Argentina de Químicos Cosméticos* 2005; 59: 25-36.
9. Pasquali RC, Bregni C, Serrao R. Estructura de las principales fases líquido-cristalinas liotrópicas. *Acta Farm Bonaerense* 2005; 24 (3): 453-457.
10. Phillips R. *Mineral Optics. Principles and Techniques*. W. H. Freeman and Company, cap. 5, Estados Unidos; 1971, pp. 75-88.
11. Verma AR, Reynolds PM. Interferometric Studies of the growth of stearic acid crystals and their optical properties. *Proc Phys Soc B* 1953; 66: 414-420.
12. Reynolds PM, Verma AR. Growth and Optical Properties of Stearic Acid Crystals. *Nature* 1953; 171 (4350): 486-487.
13. Sato K, Okada M. Growth mechanism of stearic acid single crystals. *Journal of Crystal Growth* 1977; 42: 264-271.

14. Beckmann W, Boistelle R. Growth kinetics of the (110) face of stearic acid growing from butanone solutions-pure solutions and in the presence of an emulsifier. *Journal of Crystal Growth* 1985; 72 (3): 621-630.
15. CTFA. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*. Tenth Edition, versión en CD; 2004.
16. Kibbe AH. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 3rd edition. American Pharmaceutical Association, Washington; 2000.
17. Suzuki T, Tsutsumi H, Ishida A. Secondary droplet emulsion: mechanism and effects of liquid crystal formation in o/w emulsion. *Journal of Dispersion Science and Technology* 1984; 5 (2): 119-141.