

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ СИНТЕЗА НАНОЭМУЛЬСИИ ВИТАМИНА А

**А.А. Гвозденко, А.В. Блинов, А.Б. Голик, З.А. Рехман,
М.А. Колодкин, Я.А. Облогин, Е.С. Кузнецов**

Алексей Алексеевич Гвозденко (ORCID 0000-0001-7763-5520) *, Андрей Владимирович Блинов (ORCID 0000-0002-4701-8633), Алексей Борисович Голик (ORCID 0000-0003-2580-9474), Зафар Абдулович Рехман (ORCID 0000-0003-2809-4945), Максим Андреевич Колодкин (ORCID 0009-0004-2045-4787), Ярослав Александрович Облогин (ORCID 0009-0003-5180-9045)

Кафедра физики и технологии наноструктур и материалов, Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина 1, Ставрополь, Российская Федерация, 355017

E-mail: gvozdenko.1999a@gmail.com*, blinov.a@mail.ru, lexgooldman@gmail.com, koliduk@yandex.ru, jaroslav.oblogin@yandex.ru

Егор Станиславович Кузнецов (ORCID 0009-0003-3712-1535)

Педиатрический факультет, Ставропольский государственный медицинский университет, ул. Мира 310, Ставрополь, Российская Федерация, 355017

E-mail: egorka_kuznetsov_96@list.ru

В статье представлены результаты оптимизации методики синтеза наноэмульсии витамина А. Для синтеза наноэмульсий смешивали витамин А и неионогенное ПАВ Tween 80, к полученной смеси добавляли дистиллированную воду и перемешивали при помощи диспергатора. Для оптимизации методики синтеза наноэмульсии витамина А проводили многофакторный эксперимент, который включал в себя 4 входных параметра. В качестве входных параметров рассматривали скорость перемешивания, время перемешивания, содержание дисперсной фазы, содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе. В качестве выходного параметра выступил средний гидродинамический радиус мицелл витамина А. Средний гидродинамический радиус мицелл эмульсий исследовали методом динамического рассеяния света на установке «Photocor-Complex». В результате проведенных исследований получены тернарные поверхности зависимости среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А от параметров синтеза наноэмульсий. Установлено, что все образцы имеют мономодальное распределение по размерам. Анализ полученных данных позволил установить, что на средний гидродинамический радиус мицелл витамина А оказывают значительное влияние все исследуемые параметры. Установлены оптимальные параметры синтеза наноэмульсии витамина А: скорость перемешивания (v) – от 17000 до 22500 об/мин, время перемешивания (τ) – от 180 до 270 с, содержание дисперсной фазы (ω (дисперсной фазы)) – от 1 до 4%, содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе (ω (витамина А)) – от 50 до 70%. Полученный при данных параметрах образец наноэмульсии имеет средний гидродинамический радиус мицелл 62 ± 13 нм.

Ключевые слова: наноэмульсии, витамин А, оптимизация, гидродинамический радиус, мицеллы

Для цитирования:

Гвозденко А.А., Блинов А.В., Голик А.Б., Рехман З.А., Колодкин М.А., Облогин Я.А., Кузнецов Е.С. Оптимизация методики синтеза наноэмульсии витамина А. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2024. Т. 67. Вып. 6. С. 94–99. DOI: 10.6060/ivkkt.20246706.6966.

For citation:

Gvozdenko A.A., Blinov A.V., Golik A.B., Rekhman Z.A., Kolodkin M.A., Oblogin Y.A., Kuznetsov E.S. Optimization of the synthesis method for vitamin A nanoemulsions. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2024. V. 67. N 6. P. 94–99. DOI: 10.6060/ivkkt.20246706.6966.

OPTIMIZATION OF THE SYNTHESIS METHOD FOR VITAMIN A NANOEMULSIONS

A.A. Gvozdenko, A.V. Blinov, A.B. Golik, Z.A. Rekhman, M.A. Kolodkin, Y.A. Oblogin, E.S. Kuznetsov

Alexey A. Gvozdenko (ORCID 0000-0001-7763-5520)*, Andrey V. Blinov (ORCID 0000-0002-4701-8633), Alexey B. Golik (ORCID 0000-0003-2580-9474), Zafar A. Rekhman (ORCID 0000-0003-2809-4945), Maxim A. Kolodkin (ORCID 0009-0004-2045-4787), Yaroslav A. Oblogin (ORCID 0009-0003-5180-9045)

Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasian Federal University, Pushkina st., 1, Stavropol, 355017, Russia

E-mail: gvozdenko.1999a@gmail.com*, blinov.a@mail.ru, lexgoldman@gmail.com, koliduk@yandex.ru, yaroslav.oblogin@yandex.ru

Egor S. Kuznetsov (ORCID 0009-0003-3712-1535)

Faculty of Pediatrics, Stavropol State Medical University, Mira st., 310, Stavropol, 355017, Russia

E-mail: egorka_kuznetsov_96@list.ru

The article presents the results of optimizing the procedure for the synthesis of vitamin A nanoemulsions. For the synthesis of nanoemulsions, vitamin A and Tween 80 were mixed, distilled water was added to the resulting mixture and mixed with a dispersant. To optimize the method for synthesizing vitamin A nanoemulsions, a multifactorial experiment was carried out, which included 4 input parameters. As input parameters, we considered the stirring speed, stirring time, the content of the dispersed phase, the content of fat-soluble vitamin A in the dispersed phase. The average hydrodynamic radius of vitamin A micelles was used as an output parameter. As a result of the studies, ternary surfaces of the dependence of the average hydrodynamic radius of vitamin A micelles on the parameters of nanoemulsion synthesis were obtained. It was found that all samples have a monomodal size distribution. The analysis of the data obtained made it possible to establish that the average hydrodynamic radius of vitamin A micelles is significantly affected by all the studied parameters. The optimal parameters for the synthesis of vitamin A nanoemulsions have been established: stirring speed (ν) - from 17000 to 22500 rpm, mixing time (τ) - from 180 to 270 s, content of the dispersed phase (ω (dispersed phase) - from 1 to 4%, the content of fat-soluble vitamin A in the dispersed phase (ω (vitamin A)) is from 50 to 70%. The nanoemulsion sample obtained with these parameters has an average hydrodynamic micelle radius of 62 ± 13 nm.

Keywords: nanoemulsions, vitamin A, optimization, hydrodynamic radius, micelles

ВВЕДЕНИЕ

Наноэмульсия – коллоидная система, в которой в качестве дисперсной фазы и дисперсионной среды выступают несмешивающиеся жидкости. Размер капель дисперсной фазы наноэмульсий не превышает 100 нм [1]. Наноэмульсии нашли широкое применение в различных отраслях науки и техники: медицина, пищевая промышленность, нефтегазовая промышленность, косметология и т. д. [2-6]. В работе [7] авторы использовали наноэмульсии на основе смеси агароза/хитозан для адресной доставки 5-фторурацила и куркумина к раковым клеткам. Известно о применении наноэмульсий для повышения биодоступности жирорастворимых биологически активных компонентов [8].

Для получения наноэмульсий необходимо использовать солюбилизатор, который равномерно распределяется на границе раздела фаз и снижает

межфазную энергию [9]. В качестве солюбилизатора могут использоваться поверхностно-активные вещества, в частности полисорбаты разной молекулярной массы, полиэтиленгликоли разной молекулярной массы, полиоксиэтиленнонилфениловый эфир, гуммиарабикон и т.д. [10-14].

Вид и концентрация солюбилизатора оказывает значительное влияние на физико-химические характеристики наноэмульсий, в частности размер, дисперсность, стабильность, заряд мицелл [15-17]. В работе [15] авторы установили, что увеличение концентрации эмульгаторов (глицирризиновая кислота, Tween 80, SDS) значительно уменьшает размер мицелл гесперидина. На дисперсность наноэмульсий могут влиять и другие параметры: скорость перемешивания, соотношение солюбилизатор : действующее вещество, время перемешивания [18-22]. В связи с этим целью данной работы является оптимизация методики синтеза наноэмуль-

сии витамина А, которая включает изучение влияния различных параметров (концентрация дисперсной фазы, концентрация витамина А, скорость перемешивания и время перемешивания) на средний гидродинамический радиус мицелл наноэмульсии витамина А.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Синтез проводили с использованием следующих реактивов: витамин А (ретинола ацетат) («ч.», ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург, Россия), Tween 80 (полисорбат 80) («ч.д.а.», ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург).

Для синтеза наноэмульсии витамина А на первом этапе смешивали витамин А и Tween 80, который использовался в качестве солюбилизатора. К полученной смеси добавляли дистиллированную воду. Полученный раствор перемешивали на диспергаторе T 25 easy clean control (ИКА, Германия). Синтез проводили при комнатной температуре.

Исследование среднего гидродинамического радиуса мицелл эмульсий витамина А проводили методом динамического рассеяния света на установке «Photocor-Complex» (ООО «Антек-97», Россия).

Параметры исследования:

- угол детектируемого рассеяния – 90°;
- температура – 25°.

Для оптимизации методики синтеза наноэмульсии витамина А проводили многофакторный эксперимент, который включал в себя 4 входных параметра и 4 уровня варьирования. В качестве входных параметров рассматривали скорость перемешивания (v , об/мин), время перемешивания (τ , с), содержание дисперсной фазы (ω (дисперсной фазы), %), содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе (ω (витамина А), %). В качестве выходного параметра выступил средний гидродинамический радиус мицелл витамина А.

Математическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы *Statistica 12.0* и пакета прикладных программ *Statistica Neural Networks*. Исследования проводили в трехкратной повторности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведения многофакторного эксперимента получены образцы эмульсий, средний гидродинамический радиус мицелл (R) которых представлен в таблице.

Таблица

Результаты многофакторного эксперимента
Table. Results of a multivariate experiment

№ опыта	Скорость перемешивания, об/мин	Время перемешивания, с	Содержание дисперсной фазы, %	Содержание витамина А в дисперсной фазе, %	R , нм
1	3000	30	1	10	801
2	3000	110	4	30	277
3	3000	190	7	50	99
4	3000	270	10	70	42
5	9500	30	4	50	567
6	9500	110	1	70	186
7	9500	190	10	10	57
8	9500	270	7	30	27
9	16000	30	7	70	366
10	16000	110	10	50	114
11	16000	190	1	30	37
12	16000	270	4	10	21
13	22500	30	10	30	801
14	22500	110	7	10	277
15	22500	190	4	70	99
16	22500	270	1	50	42

Анализ полученных данных показал, что все образцы имеют мономодальное распределение по размерам. В результате проведенной математической обработки экспериментальных данных получены тернарные поверхности, представленные на рис. 1-3.

Анализ рис. 1 показал, что тернарная поверхность имеет нелинейный вид. Установлено, что на средний гидродинамический радиус мицелл витамина А оказывают значительное влияние все исследуемые параметры. На рис. 1 присутствует область максимума со следующими параметрами:

$v = 3000-8000$ об/мин, $\tau = 30-110$ с, ω (дисперсной фазы) = 7-10%. Наблюдается область минимума среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А при следующих параметрах: $v = 17000-22500$ об/мин, $\tau = 180-270$ с, ω (дисперсной фазы) = 1-4%.

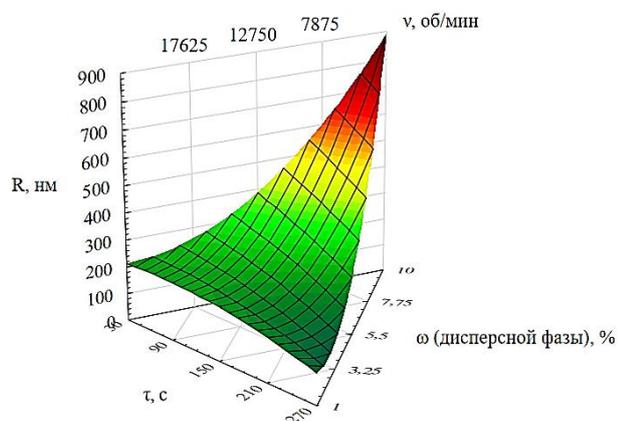


Рис. 1. Тернарная поверхность зависимости среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А (R) от скорости перемешивания, времени перемешивания и содержания дисперсной фазы

Fig. 1. Ternary surface of the dependence of the average hydrodynamic radius of vitamin A micelles (R) on the stirring speed, stirring time and the content of the dispersed phase

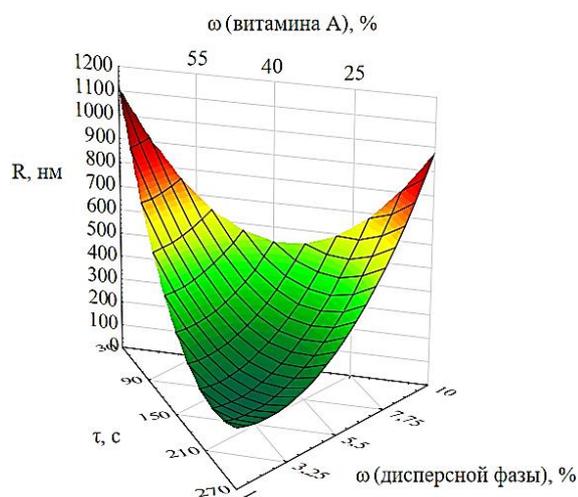


Рис. 2. Тернарная поверхность зависимости среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А (R) от времени перемешивания, содержания дисперсной фазы и содержания витамина А в дисперсной фазе

Fig. 2. Ternary surface of the dependence of the average hydrodynamic radius of vitamin A micelles (R) on the mixing time, the content of the dispersed phase, and the content of vitamin A in the dispersed phase

Анализ рис. 2 показал, что тернарная поверхность имеет нелинейный вид. Установлено, что на средний гидродинамический радиус мицелл витамина А оказывают значительное влияние все

исследуемые параметры. Показано, что на тернарной поверхности присутствуют две области максимума со следующими параметрами: $\tau = 30-90$ с, ω (дисперсной фазы) = 8-10%, ω (витамина А) = 50-70% и $\tau = 210-270$ с, ω (дисперсной фазы) = 8-10%, ω (витамина А) = 10-25%. Наблюдается область минимума среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А при следующих параметрах: $\tau = 180-270$ с, ω (дисперсной фазы) = 1-4%, ω (витамина А) = 50-70%.

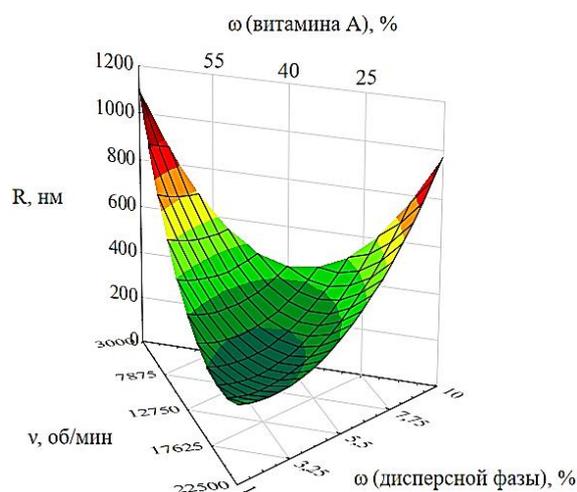


Рис. 3. Тернарная поверхность зависимости среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А (R) от скорости перемешивания, содержания дисперсной фазы и содержания витамина А в дисперсной фазе

Fig. 3. Ternary surface of the dependence of the average hydrodynamic radius of vitamin A micelles (R) on the stirring rate, the content of the dispersed phase and the content of vitamin A in the dispersed phase

Анализ рис. 3 показал, что тернарная поверхность имеет нелинейный вид. Установлено, что на средний гидродинамический радиус мицелл витамина А оказывают значительное влияние все исследуемые параметры. Показано, что на тернарной поверхности присутствуют две области максимума со следующими параметрами: $v = 3000-8000$ об/мин, ω (дисперсной фазы) = 8-10%, ω (витамина А) = 50-70% и : $v = 18000-22500$ об/мин, ω (дисперсной фазы) = 8-10%, ω (витамина А) = 10-25%. Наблюдается область минимума среднего гидродинамического радиуса мицелл витамина А при следующих параметрах: $v = 17000-22500$ об/мин, ω (дисперсной фазы) = 1-4%, ω (витамина А) = 50-70%.

В результате анализа полученных данных установлены оптимальные параметры синтеза наноэмульсии витамина А: скорость перемешивания (v) – от 17000 до 22500 об/мин, время переме-

шивания (τ) – от 180 до 270 с, содержание дисперсной фазы (ω (дисперсной фазы) – от 1 до 4%, содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе (ω (витамина А) – от 50 до 70%.

Для подтверждения полученных выводов проводили синтез наноэмульсии витамина А со следующими параметрами: скорость перемешивания (v) – 20000 об/мин, время перемешивания (τ) – 200 с, содержание дисперсной фазы (ω (дисперсной фазы) – 4%, содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе (ω (витамина А) – 50%. Гистограмма распределения гидродинамического радиуса мицелл наноэмульсии витамина А представлена на рис. 4.

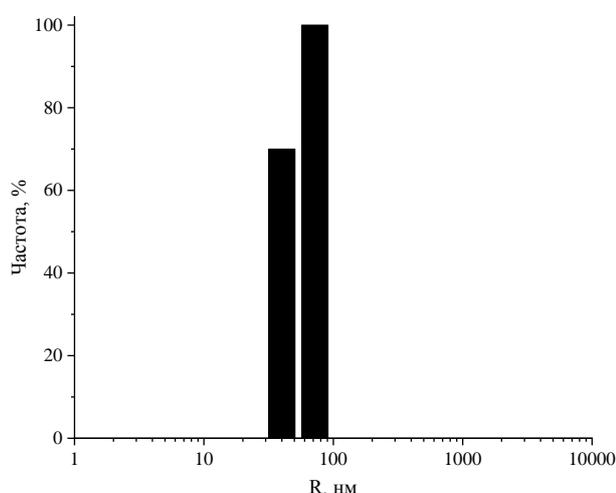


Рис. 4. Гистограмма распределения гидродинамического радиуса мицелл наноэмульсии витамина А
Fig. 4. Histogram of distribution of hydrodynamic radius of micelles of vitamin A nanoemulsion

Анализ полученной гистограммы показал, что средний гидродинамический радиус мицелл наноэмульсии витамина А составил 62 ± 13 нм.

ВЫВОДЫ

В рамках данной работы проведена оптимизация методики синтеза наноэмульсии витамина А. Показано, что на средний гидродинамический радиус мицелл витамина А оказывают значительное влияние все исследуемые параметры. Установлены оптимальные параметры синтеза наноэмульсии витамина А: скорость перемешивания (v) – от 17000 до 22500 об/мин, время перемешивания (τ) – от 180 до 270 с, содержание дисперсной фазы (ω (дисперсной фазы) – от 1 до 4%, содержание жирорастворимого витамина А в дисперсной фазе (ω (витамина А) – от 50 до 70%. Полученный при данных параметрах образец наноэмульсии имеет средний гидродинамический радиус мицелл 62 ± 13 нм.

БЛАГОДАРНОСТЬ И ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (проект МК-478.2022.5).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The work was carried out with the financial support of the Grant Council of the President of the Russian Federation (project МК-478.2022.5).

The authors declare the absence of a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. **Mason T.G.** Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *J. Phys.: Condens. Matter.* 2006. V. 18. N 41. P. R635. DOI: 10.1088/0953-8984/18/41/R01.
2. **Naseema A., Kovooru L., Behera A. K., Kumar K. P., Srivastava P.** A critical review of synthesis procedures, applications and future potential of nanoemulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2021. V. 287. P. 102318. DOI: 10.1016/j.cis.2020.102318.
3. **Elzayat A., Adam-Cervera I., Álvarez-Bermúdez O., Muñoz-Espí R.** Nanoemulsions for synthesis of biomedical nanocarriers. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 2021. V. 203. P. 111764. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.111764.
4. **Kumar J., Jaswal S.** Role of nanotechnology in the world of cosmetology: A review. *Mater. Today: Proc.* 2021. V. 45. P. 3302-3306. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.12.638.
5. **Kumar N., Verma A., Mandal A.** Formation, characteristics and oil industry applications of nanoemulsions: A review. *J. Petrol. Sci. Eng.* 2021. V. 206. P. 109042. DOI: 10.1016/j.petrol.2021.109042.
6. **Aswathanarayan J.B., Vittal R.R.** Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Front. Sust. Food Systems.* 2019. V. 3. P. 95. DOI: 10.3389/fsufs.2019.00095.
7. **Pourmadadi M., Ahmadi M., Abdouss M., Yazdian F., Rashedi H., Navaei-Nigjeh M., Hesari Y.** The synthesis and characterization of double nanoemulsion for targeted Co-Delivery of 5-fluorouracil and curcumin using pH-sensitive agarose/chitosan nanocarrier. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2022. V. 70. P. 102849. DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102849.
8. **Banasaz S., Morozova K., Ferrentino G., Scampicchio M.** Encapsulation of lipid-soluble bioactives by nanoemulsions. *Molecules.* 2020. V. 25(17). P. 3966. DOI: 10.3390/molecules25173966.
9. **Çınar K.** A review on nanoemulsions: preparation methods and stability. *Trakya Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi.* 2017. V. 18(1). P. 73-83.
10. **Нагдальян А.А., Блинов А.В., Голик А.Б., Блинова А.А., Гвозденко А.А., Маглакелидзе Д.Г.** Влияние ионной силы и активной кислотности среды на стабильность наноэмульсий витамина Е (альфа-токоферол ацетат). *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2022. Т. 65. Вып. 12. С. 24-29. DOI: 10.6060/ivkkt.20226512.6677.
Nagdalian A.A., Blinov A.V., Golik A.B., Blinova A.A., Gvozdenko A.A., Maglakelidze D.G. Effect of ionic strength and active acidity of the medium on the stability of vitamin E nanoemulsions (alpha-tocopherol acetate). *ChemChemTech [Изв. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.].* 2022. V. 65. N 12. P. 24-29 (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20226512.6677.

11. **Mansuri A., Chaudhari R., Nasra S., Meghani N., Ranjan S., Kumar A.** Development of food-grade antimicrobials of fenugreek oil nanoemulsion-bioactivity and toxicity analysis. *Environ. Sci. Poll. Res.* 2023. V. 30(10). P. 24907-24918. DOI: 10.1007/s11356-022-19116-y.
12. **Hashemnejad S.M., Badruddoza A.Z.M., Zarket B., Ricardo Castaneda C., Doyle P.S.** Thermoresponsive nanoemulsion-based gel synthesized through a low-energy process. *Nat. Commun.* 2019. V. 10(1). P. 2749. DOI: 10.1038/s41467-019-10749-1.
13. **Mustafa I.F., Hussein M.Z.** Synthesis and technology of nanoemulsion-based pesticide formulation. *Nanomaterials.* 2020. V. 10(8). P. 1608. DOI: 10.3990/nano10081608.
14. **Chawla P., Kumar N., Kaushik R., Dhull S.B.** Synthesis, characterization and cellular mineral absorption of nanoemulsions of Rhododendron arboreum flower extracts stabilized with gum arabic. *J. Food Sci. Technol.* 2019. V. 56. P. 5194-5203. DOI: 10.1007/s13197-019-03988-z.
15. **Liao Y., Zhong L., Liu L., Xie L., Tang H., Zhang L., Li X.** Comparison of surfactants at solubilizing, forming and stabilizing nanoemulsion of hesperidin. *J. Food Eng.* 2020. V. 281. P. 110000. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110000.
16. **Sarheed O., Shouqair D., Ramesh K.V.R.N.S., Khaleel T., Amin M., Boateng J., Drechsler M.** Formation of stable nanoemulsions by ultrasound-assisted two-step emulsification process for topical drug delivery: Effect of oil phase composition and surfactant concentration and loratadine as ripening inhibitor. *Int. J. Pharm.* 2020. V. 576. P. 118952. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118952.
17. **da Silveira T.F.F., Laguerre M., Bourlieu-Lacanal C., Lecomte J., Durand E., Figueroa-Espinoza M. C., Ville-neuve P.** Impact of surfactant concentration and antioxidant mode of incorporation on the oxidative stability of oil-in-water nanoemulsions. *LWT.* 2021. V. 141. P. 110892. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.110892.
18. **Блинов А.В., Нагдалян А.А., Гвозденко А.А., Голик А.Б., Сляднева К.С., Пирогов М.А.** Исследование влияния параметров синтеза на средний гидродинамический радиус мицелл витамина Е (альфа-токоферол ацетат). *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2022. V. 65. N 7. P. 45-53. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6571.
19. **Asadinezhad S., Khodaiyan F., Salami M., Hosseini H., Ghanbarzadeh B.** Effect of different parameters on orange oil nanoemulsion particle size: combination of low energy and high energy methods. *J. Food Measur. Charact.* 2019. 13. P. 2501-2509. DOI: 10.1007/s11694-019-00170-z.
20. **Pengon S., Suchaoin W., Limmatvapirat C., Limmatvapirat S.** Development of nanoemulsions containing coconut oil with mixed emulsifiers: Effect of mixing speed on physical properties. *Key Eng. Mater.* 2019. V. 819. P. 181-186. DOI: 10.4028/www.scientific.net/KEM.819.181.
21. **Zhang L., Zhang F., Fan Z., Liu B., Liu C., Meng X.** DHA and EPA nanoemulsions prepared by the low-energy emulsification method: Process factors influencing droplet size and physicochemical stability. *Food Res. Int.* 2019. V. 121. P. 359-366. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.03.059.
22. **Roselan M.A., Ashari S.E., Faujan N.H., Mohd Faudzi S.M., Mohamad R.** An improved nanoemulsion formulation containing kojic monooleate: optimization, characterization and in vitro studies. *Molecules.* 2020. V. 25(11). P. 2616. DOI: 10.3390/molecules25112616.

Поступила в редакцию 05.09.2023

Принята к опубликованию 20.11.2023

Received 05.09.2023

Accepted 20.11.2023