

# *Microcápsulas vacías empleadas en aplicaciones de ultrasonidos y sus métodos de fabricación*

Ph.D. Jay Molino

Universidad Especializada de las Américas/Panamá

E-mail: [jay.molino@udelas.ac.pa](mailto:jay.molino@udelas.ac.pa)

## Resumen

A raíz de su baja densidad, dispersión óptica, buen aislamiento térmico y capacidad de almacenaje, las microcápsulas vacías han ganado relevancia en la industria farmacéutica y tecnológica en aplicaciones como cosméticos, recubrimientos, tintas, catalisis, cromatografía de gases, rellenos, bioreactores, fotocopia, terapia genética, dosificación focalizada de fármacos o inclusive en ultrasonidos. Una microcápsula vacía se define como microburbujas (hechas de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, perfluorocarbonos "PFC's") que han sido encapsuladas usando una cubierta de polímero o proteínas. Si las mismas son empleadas para aplicaciones de agentes de contraste de ultrasonidos, una cubierta delgada permite que el núcleo (gas) de la micro cápsula vacía oscile en la presencia del campo acústico de manera tal que se pueda obtener una imagen clara; adicional a esto, dichas cápsulas tienen que ser biodegradables. Por lo tanto, la fabricación y producción en masa de micro cápsulas vacías es de gran relevancia, especialmente porque en aplicaciones biomédicas las mismas deben tener tamaños pequeños y uniformes para poder ser empleadas.

**Palabras clave:** Microcápsulas vacías, EHDA, CAN-BD, capa por capa, microfluídicos.

## Abstract:

Due to their low density, optical scattering, good heat insulation and large useful containers, hollow microcapsules have gained special relevance in the pharmaceutical and technology field such as in cosmetics, coatings, inks, catalysis, chromatography column standards, fillers, bioreactors, electronic photocopying, gene therapy, focalized drug delivery or even in diagnostic ultrasound imaging. A hollow microcapsule is defined as micro bubbles (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, perfluorocarbons "PFC's") encapsulated in a thin polymer or protein shell. If they are employed in ultrasound imaging applications, a thin enough shell is a requirement since it allows the microcapsule gas core to oscillate in the presence of an acoustic field so that the diagnostic frequency can be properly reflected. Therefore, developing methods for fabricating and mass producing hollow biodegradable polymeric microcapsules is of great relevance, especially for biomedical applications since these capsules must be small and uniform in size. This document focuses on such novel fabrication techniques.

**Keywords:** *Hollow microcapsules, EHDA, CAN-BD, Layer by Layer, microfluidics.*

## Introducción

La encapsulación de materiales consiste en contener núcleos sólidos, líquidos o gaseosos dentro una cubierta o lámina hecha de polímero. Se le conoce como microcápsula si el producto final posee un tamaño en escala micrométrica. Si el tamaño es nanométrico se llaman nano cápsulas o nano partículas. De lo expresado se puede inferir que una cápsula se define como cualquier núcleo rodeado por una cubierta independiente de si la cubierta o el núcleo son orgánicos o inorgánicos (Benita, 2006) (Ghosh, 2006) (Lin, Eckersley, & Hall, 2009). La cubierta en mención es continua y puede ser o no ser porosa.

La micro encapsulación tiene numerosas aplicaciones en la industria de la fabricación y en biomédica puesto que representan un mecanismo efectivo para estabilizar el material que está siendo encapsulado, reduce el efecto tóxico y prolonga el tiempo de liberación de químicos funcionales. El proceso de micro encapsulación provee un método efectivo para proteger componentes activos (aislarlos) de condiciones ambientales, evita la desnaturalización de componentes (Caussette, et al., 1999) (Colombié, Gaunand, & Lindet, 2001) (Bommarius & Karau, 2005), y provee estabilidad para fármacos (por ejemplo protección contra fluidos biológicos) (Barrat, 2002), (Allen & Cullis, 2004),. aumenta la incompatibilidad de fármacos convencionales y permite la dosificación controlada de moléculas activas (Wise, et al., 2000), (Yang, Qiao, Hong, & Dong, 2013), (Siepman & A, 2001), sirve de material inerte para el confinamiento de productos incompatibles, pueden ser empleadas como objetivos de fusión por confinamiento inercial (Sang, Yang, Cui, Zhu, & Sheng, 2005), micro reactores (Ikeuchi, Tane, & Ikuta, 2012), (Murphy & Wudl, 2010), andamios para cultivar tejidos, sistemas de purificación de agua (Sohn, et al., 2012), electrodos (Lee, Jung, & Oh, 2003), almacenadores de gas catalizadores, (Shigeru, et al., 2006) y cosméticos. (Cheng, et al., 2009)

El tamaño de las microcápsulas varía de 0.5-5000  $\mu\text{m}$ . Si la aplicación es farmacéutica, las cápsulas deben ser biocompatibles, biodegradables y dentro de un rango de 1 a 1000  $\mu\text{m}$  (N.V.N. Jyothi, Prabha, Ramaiah, Srawan, & Sakarkar, 2009).

Las microcápsulas tienen un futuro prometedor en la industria farmacéutica porque pueden resolver los retos inherentes a la administración de fármacos en el cuerpo humano. Por ejemplo, la ruta oral ha sido la principal vía para tratar cualquier enfermedad crónica, sin embargo como el 40% de los fármacos son lipófilo, la biodisponibilidad oral es baja. Además hay una gran variación en los respuestas de los pacientes y eso es porque no hay una dosis proporcional (Waterbeend, Dennis Smith, & Walker, 2001). Para éstos fármacos, la tasa de adsorción en el lumen digestivo está controlada por disolución. Si se puede modificar las propiedades fisicoquímicas del compuesto, como el tamaño, se puede mejorar la tasa de adsorción del lumen digestivo. Esto puede ser logrado usando micro cápsulas.

Otro gran reto que las microcápsulas pueden resolver es la pobre estabilidad de las burbujas dentro del cuerpo humano. Las burbujas son efectivas como agentes de contraste de ultrasonido pero para ser usadas necesitan ser estables. Para funcionalizar la burbuja, polímeros pueden ser empleados para cubrirlas y estabilizarlas. Las cápsulas que están destinadas a ser agentes de contraste de ultrasonido deben medir entre 1–4  $\mu\text{m}$  para recorrer con facilidad el circuito capilar y asegurar una prolongada circulación antes de que lleguen al hígado (Lathia, Leodore, & Wheatley, 2004).

Actualmente se realizan estudios en la Universidad Especializada de las Américas (UDELAS) sobre la fabricación y la dinámica de fabricación de microcápsulas usando el método de la plantilla de microburbuja desarrollado por Molino et al. (Molino, Daiguji, & Takemura) y cómo sus oscilaciones, ante la presencia de un campo acústico, pueden causar laceraciones en capilares. Determinar computacionalmente si hay daños estructurales en los pasajes sanguíneos cuando se aplican ultrasonidos a agentes de contraste es de gran relevancia para la implementación efectiva de estos agentes. Considerando la realidad de Panamá, este estudio es una ventana para comprender los diferentes métodos de fabricación y las ventajas que cada método de microencapsulación de sustancias ofrece. Sin embargo, aunque la tecnología es prometedor y asequible, la misma puede representar un riesgo para un paciente cuyo sistema circulatorio esté comprometido por una condición existente.

## Micro cápsulas vacías para aplicaciones de ultrasonido

En general, las microcápsulas vacías se definen como estructuras llenas de gas o agua. Esto se debe a que muchos investigadores denotan como vacía aquella estructura que posee un espacio interno lleno de un fluido. Sin embargo en este artículo se denota como vacías aquellas cuyo interior es un gas (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, perfluorocarbonos "PFC's") encapsulado en una cubierta polimérica delgada.

La cubierta de estas cápsulas vacías pueden ser hechas de liposomas, (Fang, Lee, Shen, & Huang., 2006), (Chaize & Fournier, 2004) polimersomas (Meng, Zhong, & Feijen, 2009), coloidosomas, (Kim, Fernandez-Nieves, Nily Dan, MArquez, & Weitz, 2007) hidrogel (Lawrence, Cai, Hu, Marquez, & Dinsmore, 2007), polielectrolitos (Molino, Matsuoka, & Daiguji, 2011), nano partículas inorgánicas (por ejemplo oro, titanio, sílica) (Wu, Yu, & Chu, 2011), (Liu & Wilcox, 1995), proteínas e inclusive carbohidratos (dextran, sacarosa).

Para aplicaciones de imágenes de ultrasonido, las microcápsulas deben ser de tamaño subcapilar y rodeadas por una cubierta delgada. Las mismas han sido empleadas recientemente para mejorar la visualización del flujo sanguíneo dentro de los órganos y así diagnosticar anomalías en los tejidos (Schutt, Klein, Mattrey, & Riess, 2003). En este tipo de aplicaciones, las microcápsulas también pueden ser llamadas potenciadores de eco de ultrasonido. La retrodispersión de las cápsulas es proporcional al cambio de impedancia acústica entre la sangre y el gas que forma la microcápsula. Dado a que esta impedancia es bien alta, la onda es completamente reflejada. Como la longitud de onda para diagnósticos está en el rango de 1-0.1 mm (1.5-15 MHz), lo que es más grande que el tamaño de la burbuja, la misma se comporta como un dispersor Rayleigh, y esto permite que el gas sea empleado como un agente de perfusión de contraste.

El reto de usar microburbujas radica en que las mismas tienen un periodo de vida muy corto en el sistema. La presión interna de la burbuja es el resultado de la presión de equilibrio (Ley de Henry), la presión de Laplace, y la presión del torrente sanguíneo y esto supera con creces la presión de solubilidad del gas en la sangre. En otras palabras, el gas se disuelve en la sangre.

Recordemos que es crítico para una burbuja poseer un tamaño subcapilar para asegurar su recorrido en el circuito sanguíneo y permitir suficiente tiempo para realizar un diagnóstico adecuado. Es crucial que las cápsulas tengan tamaños uniformes para optimizar la retro dispersión.

Una de las formas de hacerle frente a la inestabilidad de las burbujas es emplear perfluorocarbonos (PFCs). La segunda opción es cubrir a las microburbujas para que puedan ser usadas adecuadamente como agentes de contraste de ultrasonido. Es decir, se tienen que encapsular.

## Técnicas para la fabricación de microcápsulas

A pesar de que existen muchas técnicas para la fabricación de micro cápsulas vacías, en general todas se pueden categorizar en cuatro métodos principales: métodos químicos, métodos físico-químicos, métodos electro-químicos y métodos físico-mecánicos. Dentro de los métodos químicos, el método de polimerización interfacial es el más popular. En ésta técnica la cubierta de la cápsula es el resultado de una reacción entre el polímero y la superficie de una gota o una partícula sólida que está siendo usada como núcleo. En muchos casos, monómeros multifuncionales, i.e. isocianatos, son dispersados en los núcleos líquidos, que están suspendidos en una emulsión. Otro polímero reactivo multifuncional (por ejemplo amino) es dispersado en la fase continua y esto permite que se dé una reacción entre los dos polímeros en la interface de los núcleos y la fase continua (polimerización), luego que una capa se ha formado alrededor de los núcleos. Luego los núcleos son removidos para obtener microcápsulas vacías.

Dentro de los métodos físico-químicos se incluyen el método de coacervación o el de separación de fases. Coacervación es un fenómeno coloidal donde un polímero homogéneo se desuelva parcialmente de una solución polimérica homogénea y da como resultado una fase rica en polímero (coacervato) y una fase pobre en polímero (Ghosh, 2006).

Una técnica común dentro de los métodos electroquímicos es el método de Capa por Capa (LBL por su nombre en inglés "Layer by Layer Method"). Con

este método se pueden crear microcápsulas hechas de polielectrolito y la misma se caracteriza por sus interacciones no covalentes entre las cadenas de polímero, de esa manera se puede sintetizar capas en el orden de los nanómetros alrededor de los núcleos al adsorber secuencialmente polianiones y policationes (Decher, 1996), (Knoll, 1996).

En cuanto a procesos físico-mecánicos, el método de evaporación de solvente es el más popular. En este método una emulsión de agua/aceite/agua (W/O/W) o aceites/agua (O/W) creada: núcleos (gotas) hechos de una solución de polímeros disueltos en un líquido (fase de aceite, por ejemplo diclorometano) y éstos a su vez son añadidos a una fase continua (fase de agua, por ejemplo, solución de alcohol de polivinililo) y mezclados vía agitación mecánica. De esta manera una emulsión es creada. La mezcla es calentada y agitada hasta que todo el solvente se evapora y el polímero se sobresatura en la interface agua/aceite formando una capa. (Narayan & Wheatley, 1999)

Dependiendo del núcleo empleado, luego de que la capa ha sido formada, la permeabilidad y fortaleza de la cubierta son degradadas intencionalmente a través de disolución, evaporación o termólisis, y así se obtienen microcápsulas vacías.

A continuación se explican algunas técnicas ampliamente usadas para fabricar micro cápsulas vacías para aplicaciones de ultrasonidos (u otras aplicaciones biomédicas como la dosificación focalizada de fármacos). Los métodos presentados fueron escogidos por su simplicidad y capacidad de escalamiento para producción en masa. Estos cinco métodos son: CAN-BD, LbL, atomización electro hidrodinámica, micro fluidos y evaporación de solvente.

## 1. Fluidos supercríticos: CAN-BD

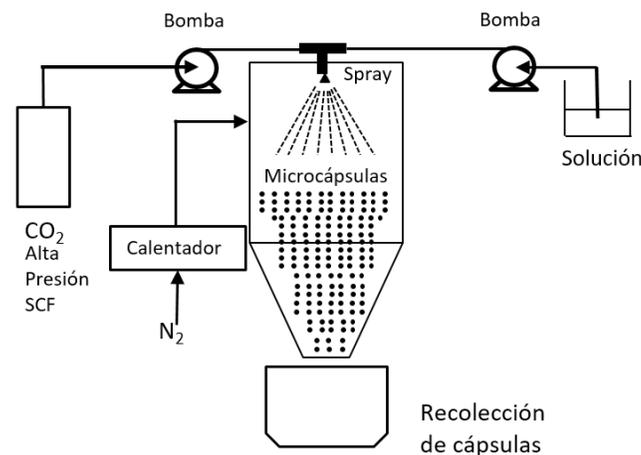
Recientemente, se han desarrollado muchas técnicas que emplean fluidos supercríticos. El interés procede del hecho que esta técnica tiene la ventaja de que el residuo del solvente orgánico es mínimo por lo que el proceso de purificación (limpieza) de las cápsulas es más fácil. Adicional a esto, el producto

final es suficientemente uniforme, el proceso de fabricación toma segundos y dado a que opera a bajas temperaturas, componentes activos sensibles a la temperatura pueden ser cargados a la capsula (Benita, 2006).

Un fluido es supercrítico cuando su presión y temperatura están por arriba de la presión crítica ( $P_c$ ) y la temperatura crítica ( $T_c$ ) respectivamente.

CAN-BD puede ser clasificada dentro de las técnicas de fluidos súper críticos (SCF). El acrónimo procede del inglés Carbon Dioxide Assisted Nebulization with Bubble Dryer (Nebulización asistida por dióxido de carbono con secador de burbuja). El mismo es un proceso físico químico y consiste en la nebulización de una solución líquida que contiene un soluto formado por micro-nano partículas que se precipitan a medida que el solvente es extraído. En otras palabras, la solución supercrítica, que contiene un cosolvente y polímeros disueltos (material para la capa), se mantiene a alta presión y luego atomizado a través de una tobera o capilar en una recámara que se encuentra a presión atmosférica. La expansión rápida da como resultado una especie de aerosol que está formado por micro gotas y microburbujas. De esta manera micro cápsulas vacías pueden ser obtenidas a través de este proceso. Este atomizado es dirigido a una recámara de secado que contiene nitrógeno o aire caliente para mantener una temperatura deseada durante el proceso. Las partículas producidas son recolectadas al final de la recámara. El tamaño de los poros en los filtros está entre los 0.2 y 0.45 $\mu\text{m}$  (Sievers, et al., 2007). Un esquemático de este proceso es mostrado en la Figura 1.

Figura 1: Esquemático de CAN-BD (Sievers, et al., 2007)



Fuente: (Sievers, et al., 2007)

## 2. Electro atomización coaxial

Electro atomización o electro atomización hidrodinámica (EHDA) es un proceso empleado para hacer gotas aplicando un potencial de varios miles de voltios entre una placa y la punta de un capilar de donde líquido está emanando. El tamaño de la gota final, dependiendo de las condiciones de fabricación, puede ser de milímetros a tamaños submicrométricos (Chang, Stride, & Edirisinghe, 2010). La técnica se remonta al año 1915 a través del trabajo realizado por Zeleny, Vonneguton y Neubauer en aerosoles (Zeleny, 1915), (Vonnegut & Neaubauer, 1952). Sin embargo fue hasta hace poco que Chang et al (Chang, Stride, & Edirisinghe, 2010), (Chang, Edirisinghea, & Stride, 2013) y Zhang et al (Zhang, et al., 2012) emplearon EHDA para fabricar de manera efectiva micro cápsulas vacías con tamaños y espesor de capa ajustable. Chang et al empleó perfluorohexano (PFH) como un plantilla (partícula o núcleo) y el polímero biocompatible polimetilsilésquixano (PMSQ) como el material para la cubierta. Las soluciones fueron suplidas vía micro jeringa. PFH fue suministrado con una jeringa de 150 $\mu$ m y PMSQ fue suministrado con una

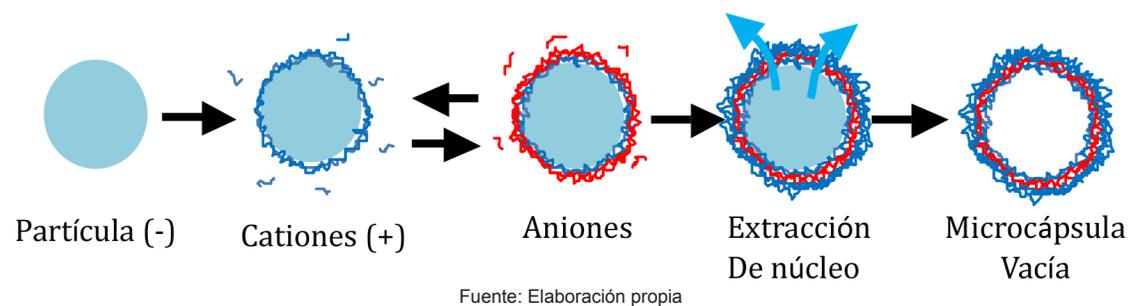
jeringa de 300 $\mu$ m de diámetro. Las agujas son concéntricas de manera tal que el final de la donde se suministra PFH estaba cubierta con la solución de PMSQA, dando como resultado una estructura con núcleo y capa.

El proceso se beneficia de las diferencias en solubilidades y volatilidad de los líquidos que están siendo empleados. En general, la aceleración del flujo externo está dominada por el campo eléctrico, mientras que el flujo interno está dominado por los estreses viscosos, por lo que el flujo debe ser ajustado para que ambos fluidos viajen a la misma velocidad. El proceso de formación de las cápsulas vacías a través de EHDA es diferente dado a que para remover los núcleos o el núcleo es soluble en agua (las cápsulas se depositan en agua luego de su fabricación) de manera tal que el núcleo hidrófilo pueda ser removido o el núcleo tiene un punto de ebullición bajo. En general todas las capas tienen nanoporos que permiten el transporte de gas o líquido del interior al exterior.

## 3. LBL: Plantillas biológicas y de burbujas

Usualmente las cápsulas vacías de poli-electrolito se obtienen a través de la descomposición del núcleo de la cápsula luego de la formación de la capa de electrolito a través del método LBL. La formación de esa capa se lleva a cabo a través de la adsorción de capas por capas (Bertrand, Jonas, Lashewsky, & Legras, 2000), (Caruso F., 1998), (Caruso, Lichtenfield, Giersig, & Mohwald, 1998), (Yin, Lu, Gates, & Xia, 2001) de polielectrolitos cargados a una partícula coloidal (el núcleo). La fuerza que domina la adsorción secuencial es la atracción electrostática entre las especies que poseen cargas opuestas. Por esta razón, el sistema es estable contra la desorción, pero dado a que las interacciones individuales son débiles, la estructura final de la capa depende grandemente de las condiciones de fabricación. Las plantillas o partículas empleadas para el núcleo varían pero se evitan aquellas líquidas (gotas) puesto que representan un reto para la adosrción de estos polielectrolitos y la polidispersidad de los núcleos no es uniforme, por lo que núcleos sólidos son preferidos para LBL. La Figura 2 muestra un esquemático del método de capa por capa (LBL)

Figura 2: Método de capa por capa. Adsorción secuencial de contra iones permite la formación de una capa.



Casi cualquier capa de polielectrolitos puede ser empleada para formar una microcápsula, lo que convierte esta técnica en una de las más versátiles para la fabricación de microcápsulas. La remoción de los núcleos es llevada a cabo a través de unos de los métodos previamente descritos (por ejemplo termólisis, liofilización).

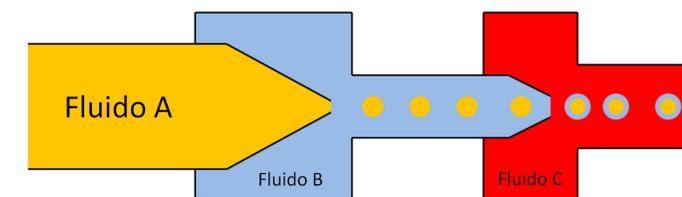
#### 4. Microfluídicos

Desde que se desarrolló el dispositivo de microfluidico (Thorsen, Roberts, Arnold, & Quake, 2001) muchos investigadores han refinado la producción el diseño de éstos dispositivos y con ellos han producido diferentes clases de partículas para diferentes propósitos. La ventaja del uso de dispositivos microfluídicos radica en que pueden producir microcápsulas monodispersas (partículas sólidas también pueden ser fabricadas). A pesar de que otras técnicas como polimerización interfacial, coacervación, o secado por atomización pueden producir microcápsulas casi monodispersas, las propiedades de las cápsulas producidas son determinadas empíricamente dado a que cada parámetro de fabricación no puede ser controlado con precisión. Si el tamaño no es uniforme, las propiedades mecánicas, resonancia y tasas de dosificación tampoco lo son. Dado a que con dispositivos microfluidicos las cápsulas son fabricadas una por una, se puede obtener un gran control en el tamaño y propiedades de las mismas (Shingo Okushima, torii, & Higushi, 2004), (Nie, Xu, Seo, Lewis, & Kumacheva, 2005), (Seo, et al., 2005).

Un dispositivo microfluídico se caracteriza por un flujo laminar que facilita el análisis del comportamiento del fluido en el dispositivo. Además es fácil de confeccionar el dispositivo microfluídico. Un esquemático de microfluidos se muestra en la Figura 3. En dicha imagen, el fluido A será empleado para el núcleo de la cápsula. El mismo puede ser una fase de aceite, mientras que el fluido B puede ser una fase de agua y el fluido C una de aceite lo que da como resultado una emulsión de aceite en agua en aceite (O/W/O) (Wei, et al., 2011). Las soluciones pueden variar a W/O/W. El punto importante de esta fabricación es que la fase intermedia (por ejemplo el fluido B en la imagen) es poco o no miscible en el fluido A o C. Luego de la fabricación, los núcleos son removidos.

Para obtener micro cápsulas vacías, gotas de una solución acuosa que contiene un monómero es preparada e introducida en la fase continua, que posee un foto iniciador que es soluble en la fase de aceite. Al irradiar las gotas con UV, el proceso de polimerización inicia en la interface de la solución acuosa y la fase de aceite. El aspecto primordial de este proceso es que al ser irradiada con UV, las cápsulas se hacen vacías lo que representa una gran ventaja comparada a otros estudios (Kim, Utada, Fernández-Nieves, Hu, & Weitz, 2007) donde luego de ser fabricadas, donde grabado secuencial de los núcleos con potentes solventes es empleado para remover los núcleos.

Figura 3: Esquemático general de un dispositivo microfluídico-dispositivo capilar.

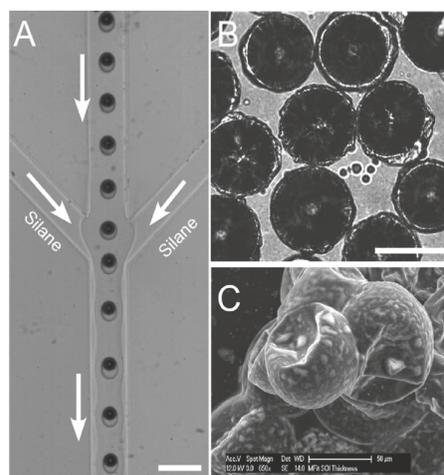


El uso de hidrogeles no está limitado a la capa; microgel también es usado como núcleos que luego son removidos. Gokmenn et al. (Gokmen, Geest, Hennink, & Prez, 2009) demostró esto al usar dispositivos microfluídicos para

crear núcleos de hidrogel y luego empleó LBL para obtener una micro cápsula vacía de varios micrómetros. En ese estudio los núcleos fueron cubiertos por seis capas alternas de nano partículas de platino (Ptnp) y diazoresina (DAR) (Gokmen, Geest, Hennink, & Prez, 2009). Dado a que Dex-Hema fue empleado para fabricar los núcleos, hidróxido de sodio fue empleado para removerlo ya que Dex-Hema es degradable en NaOH. La microcápsula resultante está en el orden de los cientos de micras.

Los estudios mencionados requieren un núcleo que debe ser removido, sin embargo, en el trabajo de Wan et al. (Wan & Stone, 2012) las burbujas fueron cubiertas independientemente con una cubierta polimérica usando un dispositivo microfluídico. El método consiste en la fabricación de micro gotas que poseen un único núcleo de gas y las mismas están dispersas en una fase de aceite. La fase de aceite contiene precursores que permiten una reacción sol-gel entre la fase acuosa que rodea las burbujas y la fase continua. El resultado es una cápsula vacía (núcleo de gas) con una cubierta dura como se muestra en la Figura 4, la cual tiene un tamaño de 60µm, sin embargo nanopartículas también fueron obtenidas de este proceso.

Figura 4: Cápsulas de dispositivos microfluídicos.



Fuente: (Wan & Stone, 2012).

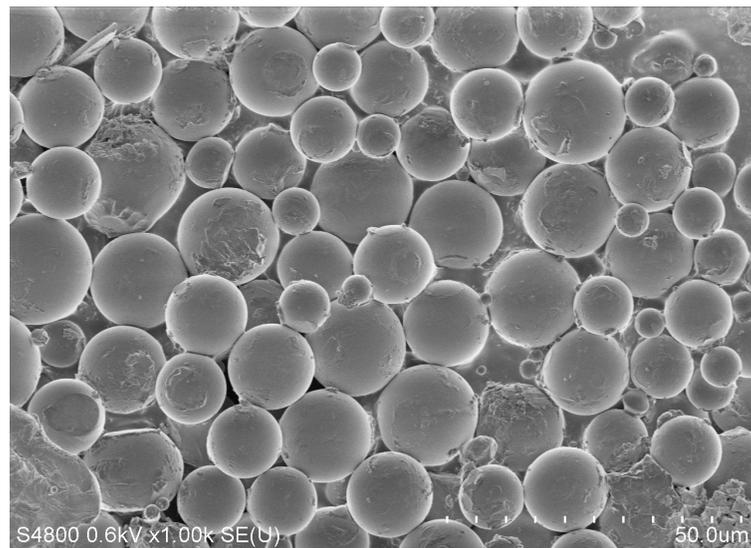
## 5. Método de evaporación de solvente

El método de evaporación de solvente es un método común. La evaporación de solvente es un aspecto clave en el proceso de formación de micro cápsulas vacías dado a que la formación de la capa consiste en supersaturar la concentración del polímero alrededor del núcleo y luego el mismo se remueve para finalmente obtener una cápsula vacía. Makuta et al. (Makuta, takada, Daiguji, & Takemura, 2009) introdujo un nuevo proceso para funcionalizar microburbujas con una cubierta polimérica delgada y que estuviera en un rango micrométrico para aplicaciones de ultrasonido. Este método fue llamado el "método de la plantilla de burbuja." En este método microcápsulas vacías de ácido poli láctico (PLA) fueron fabricadas usando dentro de gotas de una solución de PLA en diclorometano usando burbujas. El proceso consiste en la nucleación de burbujas dentro de las gotas de la solución de diclorometano y PLA que son sumergidas en una fase continua acuosa de ya sea de PVA o sólo agua (Molino, Daiguji, & Takemura, 2011). Las microburbujas cubiertas con PLA se forman cuando PLA se adsorbe a la superficie de la microburbujas y entonces, espontáneamente, son liberadas del interior de las gotas de la solución de PLA en diclorometano PLA.

El proceso puede ser escalado para la producción masiva de microburbujas para propósitos de aplicaciones de contraste para ultrasonidos. Si bien es cierto que las cápsulas obtenidas son de menor tamaño que las producidas con otros métodos, la uniformidad de las mismas no fue comprometida y el tamaño final de las cápsulas es el requerido para diagnósticos de ultrasonido (Cornejo, Sakurai, Daiguji, & Takemura, 2013). Microscopía fluorescente reveló que las cápsulas tienen un mono núcleo de aire. Adicional a esto, Sakurai et al. (Sakurai, Cornejo, Daiguji, & Takemura, 2013) desarrollaron una variante del procedimiento, el método de Gas/O/W, en el mismo se incrementó el tamaño de la cápsula para poder emplear esas cápsulas en aplicaciones ingenieriles.

Las microcápsulas creadas en Gas/O/W son más grandes que aquellas fabricadas en el método de la plantilla de burbuja. No solo se apreciaron cápsulas con un mono núcleo sino además cápsulas con varios núcleos. La Figura 5 es una imagen representativa de dichas microcápsulas.

Figura 5: Microcápsulas vacías fabricadas con el método Gas/O/W.



Fuente: Elaboración propia

## Conclusión

Para lograr que una microburbuja tenga una vida útil larga (días o inclusive meses), la cubierta protectora debe ser sólida para eliminar los problemas de tensión superficial y reducir la permeabilidad a través de los poros de la cubierta polimérica; pero lo suficientemente flexible para permitir que oscile si la misma es empleada como agente de contraste de ultrasonido.

Ciertamente, la técnica de micro flúidicos permite controlar con mayor precisión el tamaño del producto final y por ende las propiedades mecánicas de las mismas pueden ser controladas. Sin embargo, EHDA y CAN-BD tienen la capacidad de producir en gran escala y con la mayor rentabilidad en el proceso de producción. En el caso del método de evaporación de solvente, su mérito consiste en la simplicidad del método de fabricación puesto que no se necesita ningún tipo de fuerza o mecanismo externo para nuclear la burbuja lo que permite el análisis del fenómeno de nucleación y estabilización de la burbuja.

## Referencias Bibliográficas

- Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2004). Drug delivery systems: Entering the Mainstream. *Science*, 303, 1818-1822.
- Barrat, G. (2002). Colloidal drug carriers: achievements and perspectives. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60, 21-37.
- Benita, S. (2006). *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications* (2nd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Bertrand, P., Jonas, A., Lashewsky, A., & Legras, R. (2000). Ultrathin polymer coatings by complexation of polyelectrolytes at interfaces-suitable materials, structure and properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 21, 319-348.
- Bommarius, A. S., & Karau, A. (2005). Deactivation of Formate Dehydrogenase (FDH) in Solution and at Gas-Liquid Interfaces. *Biotechnology Progress*, 21, 1663-1672.
- Caruso F., C. R. (1998). Nanoengineering of Inorganic and Hybrid Hollow Spheres by colloidal Templating. *Science*, 282, 1111-1114.
- Caruso, F., Lichtenfield, H., Giersig, M., & Mohwald, H. (1998). Electrostatic Self-Assembly of Silica Nanoparticle-Polyelectrolyte Multilayers on Polystyrene Latex Particles. *Journal of the American Chemical Society*, 120, 8523-8524.
- Caussette, M., Gaunand, A., Planche, H., Colombié, S., Monsan, P., & Lindet, B. (1999). Lysozyme inactivation by inert gas bubbling: Kinetics in a bubble column reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 24, 412-418.
- Chaize, B., & Fournier, D. (2004). Sorting out molecules reacting with acetylcholinesterase by enzyme encapsulation in liposome. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 628-632.
- Chang, M.-W., Edirisinghea, M., & Stride, E. (2013). Ultrasound mediated release from stimuli-responsive core-shell capsules. *Journal of Material Chemistry B*, 1, 3962-3971.
- Chang, M.-W., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2010). Controlling the thickness of hollow polymeric microspheres prepared by electrohydrodynamic atomization. *Journal of the Royal Society Interface*, 7, 451-460.
- Cheng, S. Y., Yuen, M. C., Kan, C. W., Cheuk, K. K., Chui, C. H., & Lam, K. H. (2009). Cosmetic textiles with biological benefits: Gelatin microcapsules containing Vitamin C. *International Journal of Molecular Medicine*, 24, 411-419.
- Colombié, S., Gaunand, A., & Lindet, B. (2001). Lysozyme inactivation and aggregation in stirred-reactor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11, 559-565.

- Cornejo, J. J., Sakurai, D., Daiguji, H., & Takemura, F. (2013). Kinetics of Formation of Hollow Poly(lactic acid) Microcapsules Fabricated from Microbubbles Templates. *Soft Matter*, Submitted.
- Decher, G. (1996). *Comprehensive Supramolecular chemistry* (1st ed., Vol. 9). Pergamon Press, Oxford.
- Fang, Y.-Y., Lee, W.-R., Shen, S.-C., & Huang, Y.-L. (2006). Effect of liposome encapsulation of tea catechins on their accumulation in basal cell carcinomas. *Journal of Dermatological Science*, 42, 101-109.
- Ghosh, S. L. (2006). *Functional Coatings by Polymer Encapsulation* (1st ed.). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Gokmen, M. T., Geest, B. G., Hennink, W. E., & Prez, F. E. (2009). "Giant" Hollow Multilayer Capsules by Microfluidic Templating. *Applied Materials & interfaces*, 1, 1196-1202.
- Ikeuchi, M., Tane, R., & Ikuta, K. (2012). Electro spray Deposition and Direct Patterning of Polylactic Acid Nanofibrous Microcapsules for Tissue Engineering. *Biomedical Microdevices*, 14, 35-43.
- Kim, J.-W., Fernandez-Nieves, A., Nily Dan, A. U., Marquez, M., & Weitz, D. (2007). Colloidal assembly route for responsive colloidosomes with tunable permeability. *Nano Letters*, 7, 2876-2880.
- Kim, J.-W., Utada, A., Fernández-Nieves, A., Hu, Z., & Weitz, D. (2007). Fabrication of Monodisperse Gel Shells and Functional Microgels in Microfluidic Devices. *Angewandte Chemie International Edition*, 46, 1819-1822.
- Knoll, W. (1996). Self-Assembled microstructures at interfaces. *Current Opinions in Colloid & Interface Science*, 1, 137-143.
- Lathia, J. D., Leodore, L., & Wheatley, M. (2004). Polymeric contrast agent with targeting potential. *Ultrasonics*, 42, 763-768.
- Lawrence, D., Cai, T., Hu, Z., Marquez, M., & Dinsmore, A. (2007). Temperature-Responsive Semipermeable Capsules Composed of Colloidal Microgel Spheres. *Langmuir*, 23, 395-398.
- Lee, K., Jung, Y., & Oh, S. (2003). Synthesis of Tin-Encapsulated Spherical Hollow Carbon for Anode Material in Lithium Secondary Batteries. *Journal of American Chemical Society*, 125, 5652-5653.
- Lin, P.-L., Eckersley, R. J., & Hall, E. A. (2009). Ultrabubble: A Laminated Ultrasound Contrast Agent with Narrow Size Range. *Advanced Materials*, 21, 3949-3952.
- Liu, J., & Wilcox, D. (1995). Factors influencing the formation of hollow ceramic microspheres by water extraction of colloidal droplets. *Journal of Material*

- Research, 10, 84-94.
- Makuta, T., Takada, S., Daiguji, H., & Takemura, F. (2009). Simple fabrication of hollow poly-lactic acid microspheres using uniform microbubbles as templates. *Materials Letters*, 63, 703-705.
- Meng, F., Zhong, Z., & Feijen, J. (2009). Stimuli-Responsive Polymersomes for Programmed Drug Delivery. *Biomacromolecules*, 10, 197-209.
- Molino, J. J., Daiguji, H., & Takemura, F. (s.f.). Factors Affecting the Size and Uniformity of Hollow Poly(lactic acid) Microcapsules Fabricated from Microbubble Templates.
- Molino, J., Daiguji, H., & Takemura, F. (2011). Factors Affecting the Size and Uniformity of Hollow Poly(lactic acid) Microcapsules Fabricated from Microbubble Templates. *Journal of Physical Chemistry B*, 115, 13828-13834.
- Molino, J., Matsuoka, E., & Daiguji, H. (2011). Size control of hollow poly-allylamine hydrochloride/poly-sodium styrene sulfonate microcapsules using the bubble template method. *Soft Matter*, 7, 1897-1902.
- Murphy, E., & Wudl, F. (2010). The World of Smart Healable Materials. *Progress in Polymer Science*, 35, 223-251.
- N.V.N. Jyothi, M. P., Prabha, S., Ramaiah, P. S., Srawan, G., & Sakarkar, S. (2009). Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency: A Review. *The Internet Journal of Nanotechnology*, 3.
- Narayan, P., & Wheatley, M. (1999). Preparation and characterization of hollow microcapsules for use as ultrasound contrast agents. *Polymer Engineering and Science*, 39, 2242-2255.
- Nie, Z., Xu, S., Seo, M., Lewis, P., & Kumacheva, E. (2005). Polymer Particles with Various Shapes and Morphologies Produced in Continuous Microfluidic Reactors. *Journal of American Chemical Society*, 127, 8058-8063.
- Sakurai, D., Cornejo, J. J., Daiguji, H., & Takemura, F. (2013). Hollow Poly(lactic acid) Microcapsules Fabricated in Gas/O/W Method and Bubble Template Method. *Journal of Material Chemistry A*, DOI: 10.1039/C3TA12587D.
- Sang, X. M., Yang, X. J., Cui, Z. D., Zhu, S. L., & Sheng, J. J. (2005). Nano-SiO<sub>2</sub> Doped Polystyrene Materials for Inertial Confinement Fusion Targets. *Macromolecular Science B*, 44, 237-248.
- Schutt, E. G., Klein, D. H., Mattrey, R. M., & Riess, J. G. (2003). Injectable Microbubbles as Contrast Agents for Diagnostic Ultrasound Imaging: The Key Role of Perfluorochemicals. *Angewandte Chemie International Edition*, 42, 3218-3235.
- Seo, M., Nie, Z., Xu, S., Mok, M., Lewis, P., Graham, R., & Kumacheva, E. (2005). Continuous Microfluidic Reactors for polymer Particles. *Langmuir*, 21, 11614-11622.

- Shigeru, I., Satoru, I., Harada, T., Okamoto, N., Sakata, T., Mori, H., . . . Matsumura, M. (2006). Ligand-Free Platinum Nanoparticles Encapsulated in a Hollow Porous Carbon Shell as a Highly Active Heterogeneous Hydrogenation Catalyst. *Angewandte Chemie*, 45, 7063-7066.
- Shingo Okushima, T. N., torii, T., & Higushi, T. (2004). Controlled Production of Monodisperse Double Emulsions by Two-Step Droplet Breakup in Microfluidic Devices. *Langmuir*, 20, 9905-9908.
- Siepmann, J., & A, G. (2001). Mathematical modeling of bioerodible, polymeric drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Review*, 48, 229-247.
- Sievers, R., Quinn, B., Cape, S., Searles, J., Braun, C., Bhagwat, P., . . . Chen, D. (2007). Near-Critical fluid micronization of stabilized vaccines; antibiotics and anti-virals. *Journal of Supercritical Fluids*, 42, 385-391.
- Sohn, K., Na, Y., Chang, H., Roh, K.-M., Jang, H., & Huang, J. (2012). Oil absorbing graphene capsules by capillary molding. *Chemical Communications*, 48, 5968-5970.
- Thorsen, T., Roberts, R., Arnold, F., & Quake, S. (2001). Dynamic Patter Formation in a Vesicle-Generating Microfluidic Devie. *Physical Review Letters*, 86, 4163-4166.
- Vonnegut, B., & Neaubauer, R. (1952). Production of monodisperse liquid particles by electrical atomization. *Journal of Colloid Science*, 6, 616-622.
- Wan, J., & Stone, H. (2012). Coated Gas Bubbles for the Continuous Synthesis of Hollow Inorganic Particles. *Langmuir*, 28, 37-41.
- Waterbeend, H. v., Dennis Smith, K. B., & Walker, D. (2001). Property-Based Design: Optimization of Drug Absorption and Pharmacokinetics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1313-1332.
- Wei, J., Ju, X.-J., Xie, R., Mou, C.-L., Lin, X., & Chu, L.-Y. (2011). Novel cationic pH-responsive poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) microcapsules prepared by a microfluidic technique. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357, 101-108.
- Wise, D., L, B.-P., Klibanow AM, M. A., Peppas, N., Trantolo, D., & Wnek GE, Y. M. (2000). *Handbook of pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker.
- Wu, C., Yu, C., & Chu, M. (2011). A gold nanoshell with a silica inner shell synthesized using liposome templates for dextrorubicin loading and near-infrared photothermal therapy. *International journal of Nanomedicine*, 6, 807-813.
- Yang, H., Qiao, X., Hong, W., & Dong, L. (2013). Core-Shell Microcapsules with Embedded Microactuators for Regulated Release. *Microelectromechanical Systems*, 22(509-518).

- Yin, Y., Lu, Y., Gates, B., & Xia, Y. (2001). Synthesis and Characterization of Mesoscopic Hollow Spheres of Ceramic Materials with Functionalized Interior Surfaces. *Chemistry of Materials*, 13, 1146-1148.
- Zeleny, J. (1915). On the conditions of instability of electrified drops with applications to the electrical discharge from liquid points. *Proceedings of Cambridge Philosophical Society*, 18, 71-83.
- Zhang, Q., Wang, L., Wei, Z., Wang, X., Long, S., & Yang, J. (2012). A new simple method to prepare hollow PES microspheres. *Colloid Polymer Science*, 290, 1257-1263.