

RAPORT STIINTIFIC SI TEHNIC

Rezumatul etapei

In cadrul acestei etape a fost proiectat si dezvoltat dispozitivul experimental de producere a emulsiilor si au fost stabiliti parametrii de lucru si protocolul de functionare al acestuia. Au fost obtinute emulsii prin metoda Tessari si analizata stabilitatea lor. Emulsiile generate cu sistemul dezvoltat au fost analizate prin microscopie optica. De asemenea, au fost masurate proprietatile spectroscopice (prin spectroscopie de absorbtie UV-Vis si FTIR, spectroscopie Raman), optice si microfluidice pentru compusii utilizati (STS si vitamina A) in generarea nanoemulsiilor, inainte si dupa expunerea lor la radiatie laser. Structurile moleculare ale compusilor utilizati la formarea nanoemulsiilor au fost optimizate si spectrele lor vibrationale au fost calculate cu Gaussian09. Obiectivele proiectului pentru aceasta etapa au fost indeplinite si au fost obtinute rezultatele estimate.

Raport stiintific si tehnic in extenso

Etapa 1 a proiectului șDispozitiv de producere de nanoemulsii asistat laserö, denumita șDezvoltarea unor metode specifice adaptate pentru producerea/generarea de emulsii compuse din agenti sclerozanti si caracterizarea acestora in vederea tratarii venelor varicoase. Evaluarea efectelor radiatiei laser asupra componentelor utilizate in generarea emulsiilor cu agenti sclerozanti.ö are ca activitate principala șProiectarea dispozitivului pentru generarea emulsiilor. Dezvoltarea sistemului experimental de producere de nanoemulsii.ö

Activitatile desfasurate in prima etapa includ: *proiectarea dispozitivului experimental; *determinarea parametrilor critici de stabilit in dezvoltarea sistemului; actualizarea conceptului proiectului la ultimele realizari publicate; *montarea set-up-ului experimental; *producerea si caracterizarea emulsiilor; realizarea de masuratori spectroscopice, optice si microfluidice pentru a caracteriza compusii utilizati in generarea nanoemulsiilor, inainte si dupa expunerea lor la radiatie laser; *realizarea de masuratori optice pentru a caracteriza nanoemulsiile si *implementarea strategiei de risc si reevaluarea acestora.

1. Proiectarea si montarea dispozitivului experimental de emulsionare asistat laser

Schema de principiu

Metoda de obtinere a emulsiei presupune utilizarea a doua seringi actionate automat (mecanic), S1 si S2, conectate intre ele prin intermediul unor circuite capilare si a unor valve automate, V1 si V2, si pomparea/tragerea concomitenta a solutiilor de lucru, intre cele doua seringi, un numar de cicluri care sa permita formarea si omogenizarea emulsiei. Intr-un stadiu intermediar al formarii emulsiei sau la finalul formarii acesteia, volumul de emulsie va fi supus iradierii in intregime (in stoc) sau succesiv, pe volume mai mici. Se are in vedere stabilirea unor conditii experimentale optime pentru obtinerea de emulsii omogene si dimensiuni ale structurilor coloidale formate cat mai mici, iar prin iradierea cu fascicul laser, sa se imbunatateasca acestor valori. Pentru fiecare experiment vor fi evaluate modificarile care sunt induse de fascicul laser in emulsie fata de cazul emulsiei neiradiata.

Obtinerea emulsiei utilizand un sistem dublu-seringa automat de generare este prezentata in Figura 1 si consta in:

A. Incarcarea automata a solutiilor din volume stoc. In fiecare seringa S1 si S2 va fi incarcat un volum prestabilit si reproductibil cu o acuratete / precizie determinata de caracteristicile tehnice ale sistemului dublu-seringa automat. Prin pastrarea parametrilor de lucru se obtinemulsii cu proprietati reproductibile. Seringa stanga S1 va incarca un volum initial 1 din volumul de solutie stoc 1 prin intermediul valvei automate V1, iar seringa dreapta

S2 va incarca un volum initial 2 din volumul de solutie stoc 2 prin intermediul valvei automate V2.

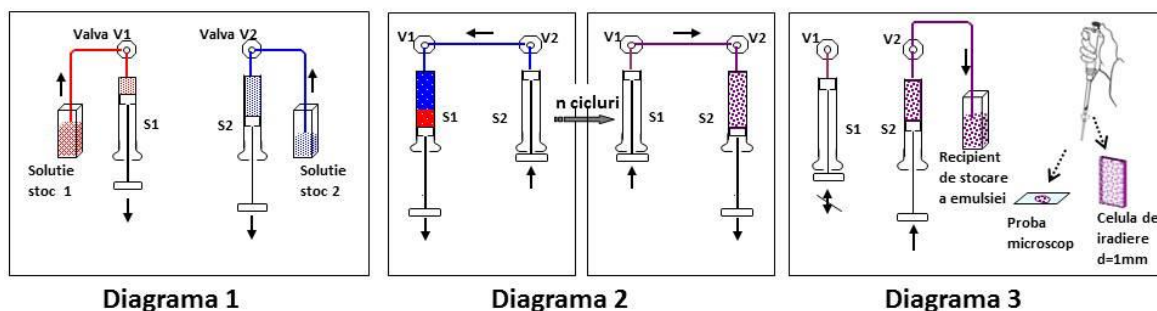


Fig. 1. Principiul metodei: Diagrama 1. Incarcarea solutiilor; Diagrama 2. Numarul (n) de cicluri de pompare intre seringi; Diagrama 3. Extragerea volumului de emulsie, urmat de iradierea si/sau analiza ei

B. Cicluri continue sau secventiale de pompare automata a solutiilor dintr-o seringa in alta pana la formarea emulsiei (omogenizarea amestecului). In acest caz, dupa incarcarea solutiilor cu volumele initiale, v_1 si v_2 , si conectarea intre ele a seringilor, seringa S1 va trage in continuare un volum v_2 iar seringa S2 va pompa concomitent volumul v_2 ; dupa acest prim-ciclu, urmeaza cicluri complete de pompare/tragere a volumului v_1+v_2 intre seringile S1 si S2 pana la omogenizarea emulsiei.

C. Formarea emulsiei si extragerea acesteia intr-un recipient de stocare urmata de utilizarea pentru analize optice inainte sau/si dupa iradiere cu fascicul laser. In acest caz volumul de emulsie va fi stocat initial in seringa din dreapta dupa care va fi extras in recipient cu posibilitate de iradiere sau producerea de probe pentru investigare.

In etapa urmatoare a proiectului se are in vedere implementarea unei metode de colectare si trimitere automata a emulsiei catre sistemul de iradiere si stocarea acesteia dupa iradiere.

Proiectarea si realizarea dispozitivului experimental

Dispozitivul experimental de generare a emulsiilor asistat laser este format din sistemul de emulsionare (amestecare a solutiilor imiscibile) si sistemul de iradiere laser a emulsiilor in diferite etape ale generarii acesteia: iradierea distincta a componentelor emulsiei; iradierea distincta a emulsiei dupa generarea acesteia; iradierea continua a emulsiei inainte de a fi stocata; iradierea emulsiei intr-o formarii ei. Sistemul de emulsionare are la baza un Sistem automat dublu-seringa, tip Hamilton Microlab ML635, Stand Alone Dual-Syringe Pumps, achizitionat in cadrul proiectului, conceput cu functii de dilutie, dispersie si pompare continua a solutiilor. Acesta a fost adaptat, prin reconfigurarea circuitelor de capilare care conecteaza cele doua seringi si prin implementarea unui nou program de control, pentru pomparea (translatarea) continua a solutiilor dintr-o seringa in alta (cicluri de pompare), cu posibilitatea de a controla volumele initiale de solutii, numarul de cicluri si vitezele de lucru (debite de pompaj).

Caracteristicile tehnice ale Sistemului Hamilton ML 600 sunt:

Parametru	Domeniu / Valoare
Dimensiune seringa (vol.)	10 μ l \hat{c} 50 ml
Acuratetea (\pm)	1% din volumul seringii
Precizia	0.2% din volumul seringii
Mecanism de actionare a seringilor	1.8 ⁰ motor pas cu pas; debit de pompare variabil
Viteza de lucru	recomandat 625 μ l/s; min. 0.7 μ l/s; max. 1250 μ l/s
Domeniul volumelor de lucru	10 μ l \hat{c} 50 ml

Tipul de material al componentelor de trecere a fluidelor	Sticla borosilicat, Teflon (PTFE), sau plastic CTFE (Clorotrifluoroetilena)
Tip de conexiune cu PC	UTP
Tensiunea de alimentare	1006240 V 1.5A max 50/60 Hz
Dimensiuni	177.8 x 139.7 x 266.7 mm
Greutate	5.9 kg
Domeniul temperaturilor de lucru	5640°C
Umiditatea mediului ambiental	20690%, necondensat
Compatibilitate substante	Compatibil cu majoritatea solutiilor chimice uzuale, inclusiv acidul sulfuric

In cazul rezultatelor raportate in etapa curenta a proiectului experimentele au fost realizate utilizand doua seringi cu volumul de 2.5 ml.

In cadrul experimentelor de iradiere s-a utilizat un laser cu solid (YAG: Nd) cu funcționare în regim pulsant, tip Surelite II, Continuum. Laserul YAG: Nd emite in mod natural la lungimea de undă = 1064 nm, iar cu ajutorul cristalelor neliniare se pot genera armonicile a doua (= 532 nm), a treia (=355 nm) și a patra (= 266 nm). Dintre acestea, pentru iradierea probelor s-au folosit armonicile a doua sau a patra. Caracteristicile principale ale fasciculului laser generat sunt următoarele: frecvența pulsurilor 10 Hz; durata pulsului 6 ns (FWHM); energii pe puls de până la 200 mJ. Varierea intensității radiației s-a realizat prin ajustarea valorii de întârziere a declanșării Q-switch-ului (valoare mică pentru întârziere se traduce într-o valoare scăzută a energiei pulsului).

In cazul rezultatelor raportate in etapa curenta a proiectului experimentele au fost realizate utilizand o energie a pulsului laser de 35 mJ la lungimea de undă =532 nm.

Schema de functionare a dispozitivului experimental, Varianta A; volum de solutie tampon $V_T = 537\mu\text{l}$.

In acest caz sistemul de emulsionare a fost realizat conectand cele doua seringi S1 și S2 prin intermediul unui sistem de 2 valve automate, 2 valve manuale și 3 capilare cu lungimea de 50 mm, care permit evacuarea aerului din capilare, respectiv umplerea volumului cu solutiile ce urmeaza a fi amestecate. Volumul tampon de solutie este determinat de volumul capilarelor și al valvelor care unesc cele doua seringi. Pentru aceasta varianta de montaj experimental volumul tampon a fost $V_T = 537\mu\text{l}$. In Figura 2 sunt prezentate imagini ale dispozitivului experimental de emulsionare (Fig. 2a) și schema de functionare a acestuia (Fig. 2b).

In Figura 2c sunt prezentate imagini ale valvelor automate tip prevazute de sistemul automat dublu-seringa, stanga ÓL (left) și dreapta-R (right). Fiecare valva are aceeasi distribuție a porturilor de conectare: P1 óstanga; P2-dreapta; P3-frontal.

Seringile S1 și S2 sunt conectate prin intermediul celor doua Valve automate, V1 și V2, doua valve manuale, tip šTö și šLö, și 3 capilare. Volumul tampon total al celor 4 valve este de 66 μl , iar al celor trei capilare, 1, 2 și 3, este de 157 μl fiecare (lungimea de 50mm; 3.14 $\mu\text{l}/\text{mm}$).

Valvele tip šTö au 3 porturi care se pot conecta oricare doua cate doua sau toate trei, iar cea de tip šLö (de distribuție) are de asemenea 3 porturi, dar care pot fi conectate numai doua cate doua, un port de conectare fiind comun celor doua variante.

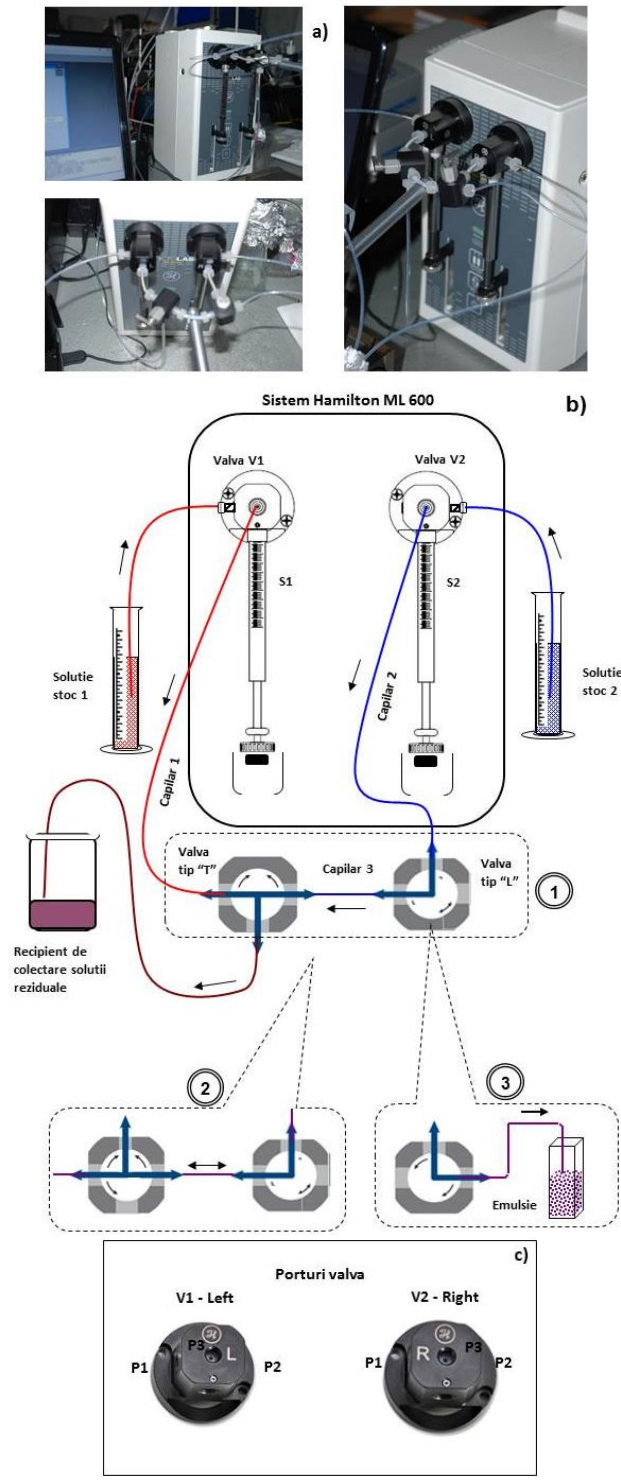


Fig. 2. Dispozitivul experimental de emulsionare. a) Imaginea foto a dispozitivului; si b) Schema dispozitivului in Varianta A. Volum tampon de solutie $V_T = 537\mu\text{l}$. c) Prezentarea porturilor valvelor automate.

Pentru functionarea dispozitivului de emulsionare in varianta A este necesara setarea valvelor manuale in diferite configuratii de interconectare a porturilor acestora pe parcursul procedurii de producere a emulsiei:

- **Configuratia 1** ó asigura umplerea circuitelor cu solutie (eliminarea aerului) si golirea seringilor (respectiv, pregatirea pentru secventa de incarcare a seringilor cu volumele de lucru);

- **Configuratia 2** ó asigura mutarea (trecerea/translatarea) solutiilor/emulsiei dintr-o seringă in alta;
- **Configuratia 3** ó asigura evacuarea emulsiei din seringă catre un recipient de stocare a acesteia.

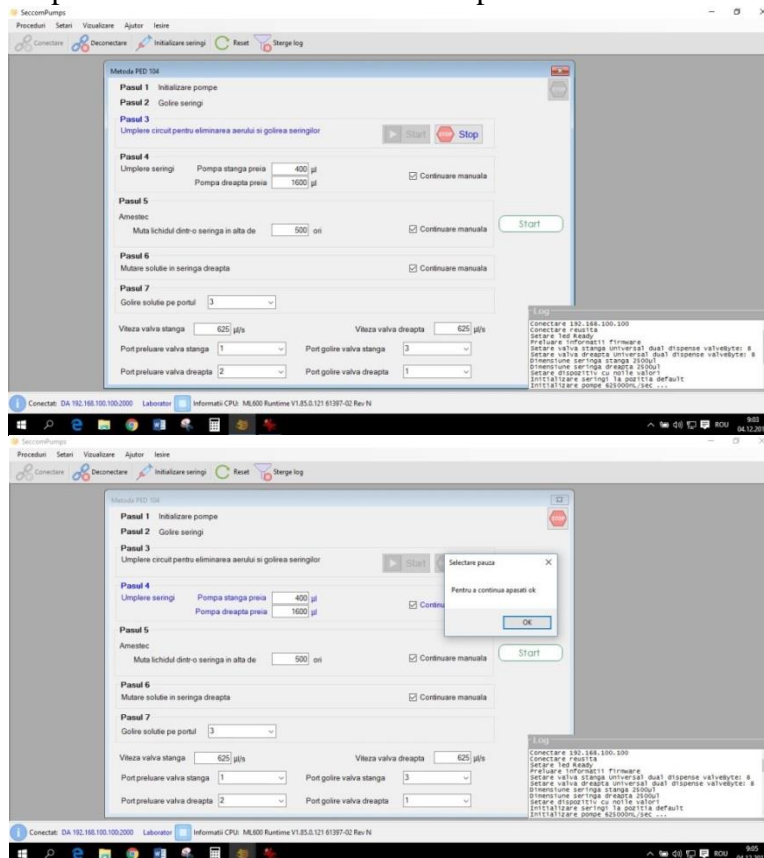
Programul de control al sistemului Hamilton ML600 realizat pentru implementarea procedurii de emulsionare (pompare automata si controlata dintr-o seringă in alta).

Programul a fost realizat in mediul de programare Visual Basic si incorporeaza liniile de comanda care controleaza functiile aparatului, conform manualului de programare furnizat de producatorul Sistemul Hamilton Microlab ML635. Astfel programul (interfata de control) contine o bara de meniuri si o bara de optiuni.

Bara de meniuri contine butoanele: șProceduriö, - unde se poate selecta șMetoda de lucru PED104ö adaptata diferitelor variante de lucru; șSetariö ó unde se pot seta tipurile de seringi utilizate; șVizualizareö ó unde se poate inchide/deschide bara de optiuni; șAjutorö, - unde sunt incorporate manualele de lucru si programare ale aparatului; si șIesireö pentru inchiderea ferestrei / programului.

Bara de optiuni contine butoanele: șConectareö, de realizare a comunicarii prin rețeaua UTP a sistemului de comanda PC cu aparatul ML 600; șDeconectareö, pentru inchiderea comunicarii prin rețea; șInitializare seringiö, utilizat pentru calibrarea seringilor (stabilirea referintei); șResetö, utilizat pentru resetarea conexiunii UTP in caz de blocare a programului; si șSterge Logö, utilizat pentru stergerea mesajelor de informare din fereaștra șLogö.

Odata realizata conexiunea dintre PC si aparatul ML 600, iar seringile setate si initializate, din meniul șProceduriö se poate accesa interfata de comanda șMetoda PED 104ö care permite setarea parametrilor de functionare ai dispozitivului de emulsionare.



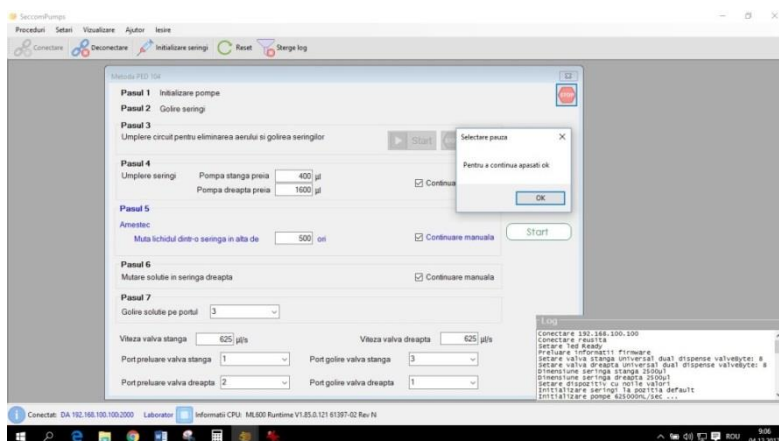


Fig. 3. Programul de control (interfața PC) al dispozitivului experimental de emulsionare.

Interfața de comandă conține pașii pe care îi urmează sistemul (procedura) pentru obținerea emulsiei, precum și parametrii de funcționare, astfel:

Pas	Actiune
1	Comanda: Start/ Initializeaza pompe / stabilirea referintelor
2	Seringile sunt golite de orice volum de lichid existente in ele
3	Umplerea circuitului (capilarelor) cu solutiile de lucru pentru eliminarea aerului / cicluri nelimitate de incarcare si golire a seringilor, alternativ, stanga ó dreapta, pana la Comanda: Stop.
4	Umplerea seringilor cu volumele de lucru, stanga ó dreapta, specificate
5	Amestecarea solutiilor prin translatarea dintr-o seringa in alta un numar de cicluri specificat
6	Emulsia stocata in seringa din stanga la finalul ciclurilor este translatata in seringa din dreapta
7	Volumul de emulsie este golit din seringa din dreapta pe portul specificat al valvei
Viteza valva stanga / dreapta	Permite setarea vitezelor (debitelor) de lucru
Porturi preluare ó golire valva stanga / dreapta	Permite setarea porturilor de incarcare, respectiv golire, pentru cele doua valve. In variantele A si B ale dispozitivului experimental, acestea sunt fixe.

Protocolul de operare a Sistemului de emulsionare conform montaj- Varianta A (Fig. 3).

A. Pregatirea secvenței de emulsionare.

- Se verifica circuitele (capilarele) de incarcare a solutiilor, respectiv ca acestea sunt introduse in recipientele cu solutiile stoc 1 si 2.
- Se verifica capilarele de conectare a valvelor, precum si pozitia valvelor manuale, care trebuie sa fie setate conform Configuratiei 1.
- Se porneste sistemul Hamilton ML 600, precum si programul de control instalat pe PC;
- In programul de control (bara de optiuni) se actioneaza butonul șConectareö si se verifica in fereastra de interogare șLOGö mesajul de confirmare șConectare reusitaö, precum si activarea butonului șDeconectareö in bara de optiuni.
- In meniul șSetariö din bara de optiuni, meniul șValveö, se seteaza tipul seringii (volumul in ml) si se bifeaza butonul șSaveö, la fiecare repornire a programului.
- Pentru calibrarea seringilor se actioneaza optiunea șInitializare seringiö din bara de optiuni, la fiecare repornire a secvențelor de emulsionare, respectiv a Procedurii de emulsionare, pct. B (urmator).

B. Setarea procedurii de emulsionare.

- In meniul șProceduriö se selecteaza optiunea șMetoda PED 104ö

- In fereastra șMetoda PED 104ö se actioneaza butonul șStartö ó Pasul 3 pentru golirea capilarelor de aer si introducerea solutiilor de lucru in acestea (pe circuitul dintre valvele automate V1 si V2), dupa care se actioneaza optiunea șStopö ó Pasul 3 in momentul cand solutiile ajung in recipientul de colectare a solutiilor reziduale.

- In fereastra șMetoda PED 104ö se introduc parametrii:

- **Valvele manuale (tip „T” si „L”)** vor fi setate in **Configuratia 2** ó asigura mutarea (trecerea) solutiilor dintr-o seringă in alta;

- **Pasul 4:** Setarea volumelor de lucru pentru seringă (pompa) stanga si seringă dreapta (μl).

Obs. *Volumele de lucru insumate pentru cele 2 seringi NU trebuie sa depaseasca volumul seringii cu volumul cel mai mic!*

- **Pasul 5:** se seteaza numarul de cicluri de pompare dintr-o seringă in alta.

- **Pasul 7:** se seteaza portul de golire al valvei automate dreapta (portul de evacuare a emulsiei). **Obs.** *In varianta A a montajului se va utiliza portul 1 sau 3.*

- Se seteaza viteza de pompare a seringilor intre valorile: recomandat 625 μl/s; minim 0.7 μl/s; maxim 1250 μl/s. **Obs.** *Pentru solutii vascoase tip solutii uleioase se va utiliza viteza recomandata!*

- Porturile de incarcare (preluare) valve stanga si dreapta sunt presetate si fixe: stanga Port 1 si dreapta Port 2.

- Porturile de golire (evacuare) pentru valvele stanga si dreapta sunt presetate si fixe: stanga Port 3 si dreapta Port 1.

- Pentru o trecere manuala de la Pasul 4 spre 7 se pot bifa casutele șContinuare manualaö.

Obs. *Pentru Varianta A a montajului este obligatoriu bifarea acestor optiuni intrucat este necesar actionarea valvelor manuale intre acesti pasi! Orice actionare a valvelor manuale in timpul secventelor de pompare va conduce la blocarea (inchiderea) circuitelor capilare si oprirea automata a sistemului ML 600 ca protectie la supra-presiune (> 7 bar)!*

- Se actioneaza butonul șStartö ó Pas 5 pentru pornirea procedurii de emulsionare.

- Dupa șPasul 4ö ó umplerea seringilor cu volumele setate, se trece la șPasul 5ö ó cicluri de pompare dintr-o seringă in alta, prin actionarea butonului șOkö din fereastra de avertizare șSelectare pauzaö.

- șPasul 5ö ó cicluri de pompare dintr-o seringă in alta, are o durata de ordinul a 11 minute / 100 cicluri complete. La finalul ciclurilor, emulsia va fi stocata in seringă stanga permitand o prima evaluare vizuala a emulsiei obtinute; se trece la șPasul 6ö prin selectarea butonului șOkö din fereastra de avertizare.

- Dupa finalizarea șPasului 5ö si trecerea la șPasul 6ö ó transferarea emulsiei in seringă din partea dreapta, **Valvele manuale (tip „T” si „L”)** vor fi setate in **Configuratia 3**, care asigura evacuarea emulsiei din seringă catre un recipient de stocare a acesteia;

- Finalizarea șPasului 6ö prin actionarea butonului șOkö din fereastra de avertizare conduce la golirea seringii dreapta, respectiv evacuarea emulsiei in recipientul de stocare.

C. Repetarea procedurii de emulsionare.

- Procedura de emulsionare se poate repeta pentru acelasi raport al volumelor initiale sau rapoarte diferite (in acest caz ajustand valorile volumelor) astfel: **Valvele manuale (tip „T” si „L”)** vor fi setate din nou in **Configuratia 2** ó asigura mutarea (trecerea) solutiilor dintr-o seringă in alta; dupa care se selecteaza optiunea șStartö óPasul 5, si urmand apoi procedura de mai sus (Pasii 4- 7).

- In caz ca se doreste utilizarea altor solutii stoc, instalatia trebuie in prealabil curatata si apoi urmata procedura de la punctul B (Pasii 4-7).

D. Curatarea instalatiei.

- In acest caz se urmeaza procedura de la punctul B (Pasii 1-3) unde in loc de solutii de lucru se va utiliza aceeasi solutie de curatare pentru ambele seringi, un timp specific pentru fiecare

solutie (a se vedea mai jos), iar dupa fiecare interval se va continua cu Pasii 4-7 , cu un numar setat de 5 cicluri (Pasul 5), in ordinea:

- Solutie de detergent, 10 minute cicluri de umplere- golire;
- apa distilata, 5 minute cicluri de umplere- golire;
- alcool etilic, 5 minute cicluri de umplere- golire;
- apa distilata, 5 minute cicluri de umplere- golire.

2. Determinarea parametrilor critici de urmarit in dezvoltarea sistemului

In dezvoltarea sistemului experimental au fost urmariti mai multi parametri ce pot influenta caracteristicile emulsiilor obtinute. In primul rand, dispozitivul utilizat pentru amestecarea solutiilor a fost selectat pentru a putea modifica volumul de emulsie obtinut, proportia solutiilor ce participa la formarea emulsiilor, viteza de pompare a seringilor ce amesteca solutiile, cat si numarul de cicluri de pompaj. Volumul de emulsie obtinut este de interes in functie de aplicatii: in scop terapeutic poate fi nevoie de un volum mai mare pentru administrare, dar si daca volumul solutiilor componente este limitat din anumite considerente (de exemplu: toxicitate pentru organism peste un anumit volum sau costuri prea mari) atunci este necesar ca dispozitivul sa poata emulsiona un volum mic, iar pierderile de solutie intrate pe capilare sa fie reduse la minim. Restul de parametri ce pot fi variati cu ajutorul dispozitivului experimental - proportia solutiilor, viteza de pompare a seringilor si numarul de cicluri de pompaj, influenteaza durata perioadei in care se formeaza emulsia si stabilitatea acesteia. De asemenea, si volumul tampon format de suma volumelor capilarelor care leaga cele doua seringi reprezinta un parametru care trebuie controlat si analizat pentru a determina ce influente are asupra caracteristicilor emulsiei.

In al doilea rand, parametrii ce tin de iradierea emulsiilor pot fi modificati pentru a obtine rezultate optime. Lungimea de unda a radiatiei laser a fost aleasa tinand cont de spectrul de absorbtie al solutiilor, astfel incat la aceasta lungime radiatia sa nu fie absorbita, ci doar sa aiba loc efecte mecanice asupra emulsiei. De asemenea, energia medie a radiatiei laser, geometria de iradiere si timpul de expunere la radiatie laser au fost variate pentru a pentru a obtine efectele dorite.

3. Producerea si caracterizarea nanoemulsiilor. Realizarea de masuratori optice pentru a caracteriza nanoemulsiile.

Dispozitivul experimental prezentat anterior a fost utilizat la emulsionarea a doua solutii: o solutie de sodiu tetradecil sulfat (STS) in apa ultra pura, cu concentratia procentuala de 10%, cu o solutie uleioasa de vitamina A.

STS este un agent sclerozant, aprobat de Food and Drug Administration in SUA, ce se injecteaza intravenos pentru tratamentul venelor varicoase [1]. Pentru prepararea solutiilor de STS s-a folosit Tetradecyl sulfat sodium salt 95% sub forma de pudra cristalina de la Sigma ó Aldrich.

Solutiile de STS 10% au fost preparate in apa ultra pura, deionizata, obtinuta de la un sistem TKA Genpure, cu un filtru steril TKA Pacific UP/UPW6, avand continut bacterian <1CFU/ml si continut de particule <1, la o rezistivitate de 18,2M xcm si conductivitate de 0.055 S/cm, la 25°C.

Vitamina A este un nutrient esential pentru organismul uman. Aceasta are un rol important in reglarea cresterii celulelor epidermale, in diferentierea celulara sau in functii fiziologice critice, precum vederea. Vitamina A utilizata a fost sub forma uleioasa de la Biofarm, 100 g picaturi orale, solutie continand acetat de retinol 2,1786 g (1500000 UI/g) si excipienti: acetat de -tocoferol si ulei de floarea soarelui rafinat.

Un prim experiment de producere a emulsiilor a implicat folosirea metodei Tessari. Aceasta metoda a fost dezvoltata de Tessari in 1999 si a presupus folosirea a doua seringi conectate printr-un perfuzor cu 3 cai pentru a produce spuma din STS si aer [2,3].

Experimentul nostru a constatat in producerea emulsiilor de STS 10% in apa ultra pura cu vitamina A prin metoda Tessari si urmarirea stabilitatii in timp a emulsiilor pentru 600 ore. Au fost realizate emulsii cu 3 raporturi diferite ale solutiilor de vitamina A si STS: 1:1; 0,6:1,4 si 0,2:1,8. Pentru emulsionare au fost repetate 50 de cicluri de pompare. Din Figura 4 se poate observa ca volumul de vitamina A influenteaza timpul de viata al emulsiei. In cazul raportului 0,2:1,8, desi separarea solutiilor incepe din primele 5 minute, se poate observa dupa aproximativ o ora prezenta a doua zone in seringă: spre ac un volum de 0,1 ml de emulsie cu aspect albicios, iar spre baza restul de solutie de STS aproape transparenta, dar cu aspect inca tulbure indicand inca prezenta picaturilor de vitamina A dispersate in STS. Dupa 24 de ore se poate observa ca solutia de STS de la baza este transparenta, separata de restul emulsiei cu volumul de aproximativ 0,1 ml, emulsie ce ramane stabila in primele 24h de la preparare.

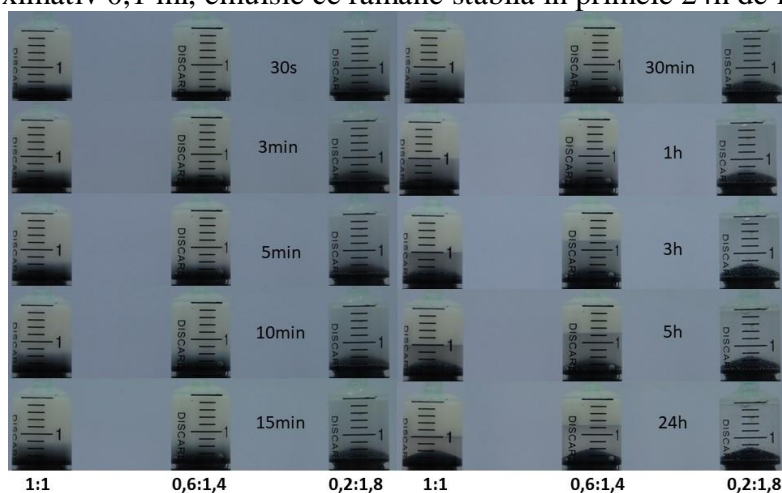


Fig. 4. Evolutia emulsiilor de vitamina A si STS obtinute prin metoda Tessari in primele 24 ore de la preparare

Un comportament similar se observa si in cazul raporturilor 0,6:1,4 si 1:1, insa volumul mai mare de vitamina A mareste timpul de viata al emulsiilor. Dupa 24 de ore, in ambele cazuri, se observa doua zone in seringi: zona dinspre ac cu aspect albicios, ce reprezinta emulsia, si o zona cu solutia de STS cu picaturi de vitamina A dispersate, cu aspect tulbure. In aceste doua cazuri, dupa 24 de ore de la preparare, solutia de STS nu este complet separata de vitamina A.

In cazul emulsiilor preparate din solutiile de vitamina A si STS in proportii 0,6:1,4 si 1:1, zona cu picaturi de ulei dispersate in solutie de STS isi pastreaza aspectul tulbure timp de 72 de ore (Fig. 5). Incepand cu 144 de ore se observa separarea totala a emulsiei de solutia de STS. Emulsia astfel separata ramane stabila pana la sfarsitul celor 600 ore de experiment.

In cazul emulsiilor preparate cu ajutorul dispozitivului experimental au fost folosite doua proportii de vitamina A:STS ó 1,6:0,4 si 0,4:1,6. Pentru emulsionare, experimentele au cuprins 3 valori ale ciclurilor de pompare a seringilor: 100, 300 si 500 de cicluri. Viteza de pompare a seringilor a fost de 625 μ l/s. Emulsia a fost iradiata la lungimea de unda 532 nm, cu o energie medie a fasciculului laser de 35 mJ, intr-o cuva cu volumul de 400 μ l.

Imaginile emulsiilor au fost inregistrate inainte si dupa expunerea la fascicul laser cu ajutorul unui microscop optic Imager Z1m Zeiss cu o camera pentru inregistrarea imaginilor axio Cam MRc 5 (HR); rezolutia camerei poate varia de la 1388x1040 la 4164x3120 pixeli. Microscopul poate lucra in transmisie, reflexie sau fluorescenta.

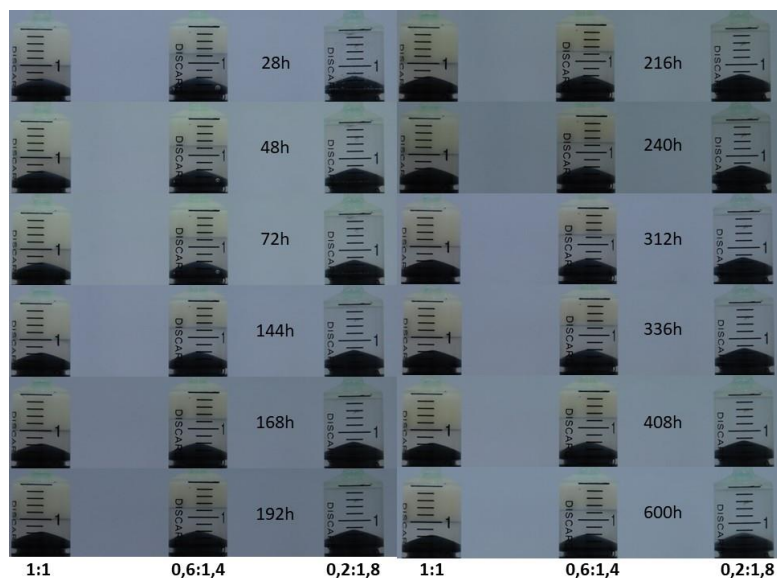


Fig. 5. Evoluția emulsiilor de vitamina A și STS obținute prin metoda Tessari în perioada 28h - 600h după preparare

După emulsionare se poate observa cu ochiul liber prezența a 3 zone distincte determinate de componenta emulsiei: o zonă cu picături de vitamina A dispersate în soluția de STS, una cu picături de STS dispersate în vitamina A și una cu spuma ce pare să aibă în componenta vitamina A, STS și aer. Cu ajutorul microscopului optic au fost înregistrate imagini din toate cele 3 zone, înainte și după iradiere.

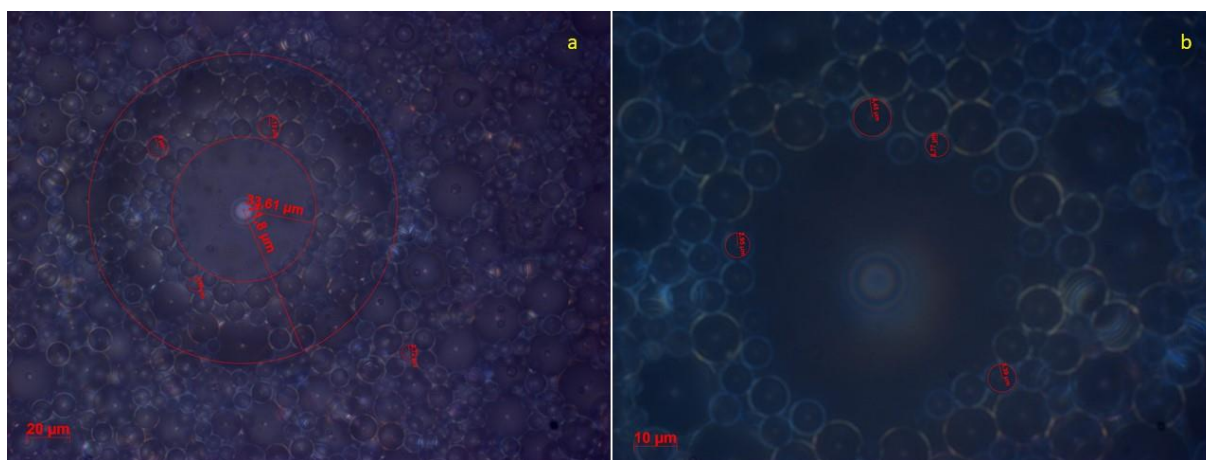


Fig. 6. Imagini microscopice ale spumei formate în timpul emulsificării soluțiilor de vitamina A și STS în raport 1,6:0,4: a) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 50X; b) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 100X.

În Figura 6 sunt prezentate imagini ale spumei ce se formează în timpul amestecării soluțiilor de vitamina A cu STS. Proba analizată conține un raport al soluțiilor de Vitamina A și STS 10% în apă ultra pură de 1,6 la 0,4. Spuma s-a obținut în timpul a 500 de cicluri de pompare a seringilor, cu o viteză de 625 $\mu\text{l/s}$. În Figura 6a este prezentată o imagine înregistrată în reflexie, cu mărirea 50X, iar în Figura 6b o imagine cu mărirea 100X, înregistrată tot în reflexie. Proba a fost analizată la microscop într-o cuva cu grosimea de 1 mm. Imaginile au fost înregistrate în mai multe planuri de adâncime. Din imaginile înregistrate pare că amestecul de soluții STS și vitamina A înglobează aer, ceea ce duce la formarea spumei. Apariția aerului în instalație poate să aibă loc în momentul încărcării seringii cu vitamina A din cauza vâscozității mari a soluției uleioase. O altă ipoteză a formării spumei poate fi apariția unor gaze datorată ruperii unor legături chimice și recombinația unor

molecule sub forma gazoasa in timpul emulsificarii. Bulele formate au dimensiuni variate, pornind de la un diametru de 2-3 μm .

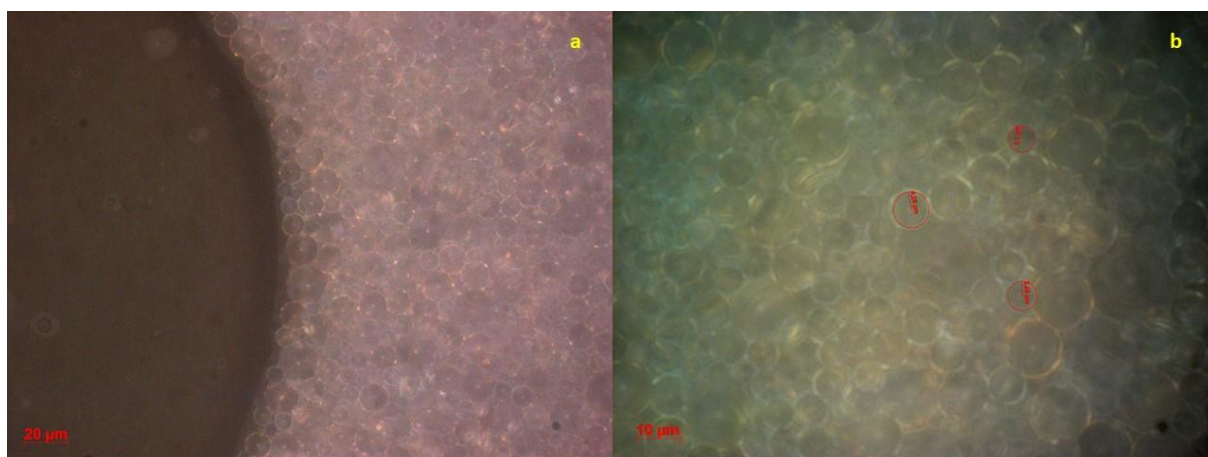


Fig. 7. Imagini ale spumei formate in timpul emulsificarii solutiilor de vitamina A si STS in raport 1,6:0,4, dupa expunerea la radiatie laser ($\lambda=532\text{ nm}$, $E_n=35\text{ mJ}$, $t=30\text{ min}$): a) imagine inregistrata in reflexie, cu marire 50X; b) imagine inregistrata in reflexie, cu marire 100X.

Emulsia de vitamina A si STS, cu raport 1,6:0,4, a fost expusa la radiatie laser cu lungimea de unda 532 nm si $E=35\text{ mJ}$ timp de 30 minute. Dupa iradiere, proba a fost analizata la microscop, iar doua dintre imaginile obtinute, inregistrate in reflexie, sunt prezentate in Figura 7. In Figura 7a este prezentata o imagine cu marirea 50X, iar in Figura 7b cu marirea 100X. La fel ca si in cazul probei neiradiate, spuma obtinuta prezinta caracteristicile generale de organizare a spumelor si ocupa tot spatiul avut la dispozitie. Bulele au dimensiuni variate, iar aspectul general al spumei nu pare diferit fata de proba neiradiata.

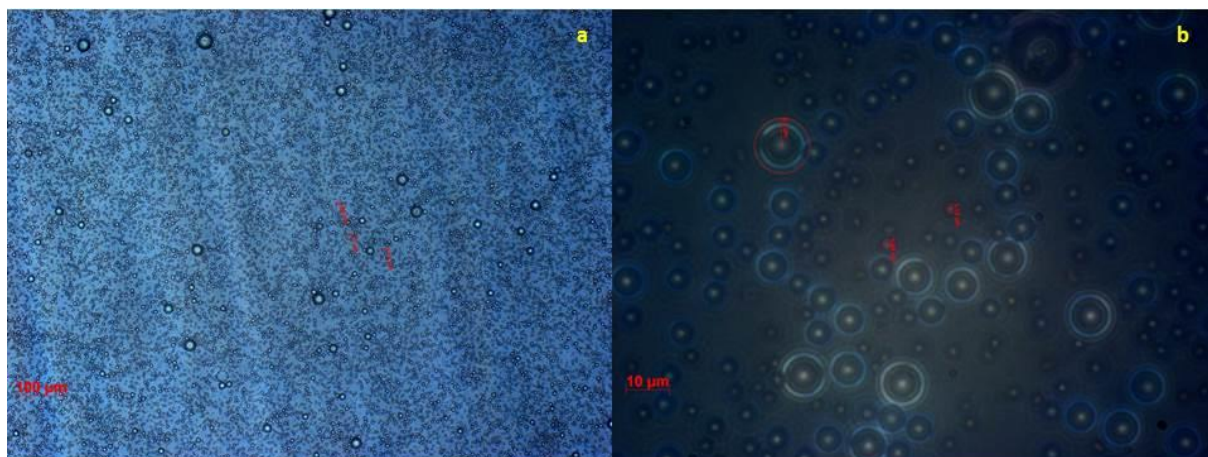


Fig. 8. Imagini ale emulsiei (zona cu picaturi de STS dispersate in vitamina A) de vitamina A si STS in raport 1,6:0,4: a) imagine inregistrata in reflexie, cu marire 10X; b) imagine inregistrata in reflexie, cu marire 100X.

In Figura 8 sunt prezentate imaginile emulsiei cu un raport al solutiilor de vitamina A si STS 10% in apa ultra pura de 1,6 la 0,4, realizata in timpul a 500 de cicluri de pompare a seringilor, cu o viteza de 625 $\mu\text{l/s}$. Figura 8a reprezinta o imagine inregistrata in reflexie, cu o marire 10X a zonei din emulsie in care sunt picaturi de STS dispersate in vitamina A, iar in Figura 8b o imagine a aceleiasi zone, dar cu marire 100X. Dimensiunile picaturilor de STS sunt variate, pornind de la diametre de 1 μm . In picaturile de STS cu diametre mai mari se pot observa picaturi mai mici de ulei.

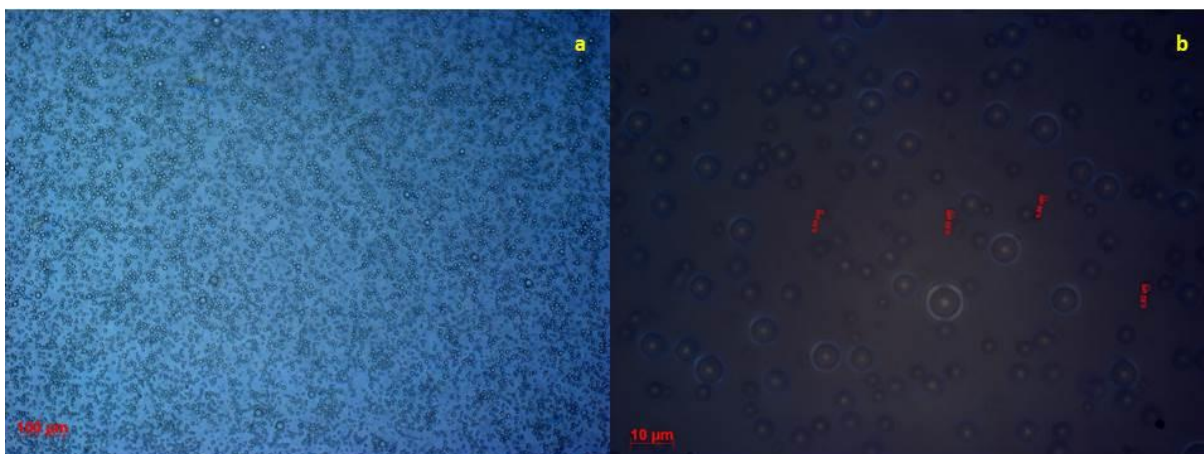


Fig. 9. Imagini ale emulsiei iradiate (zona cu picături de STS dispersate în vitamina A) de vitamina A și STS în raport 1,6:0,4: a) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 10X; b) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 100X. Condițiile de iradiere au fost $\lambda = 532$ nm, $E_n = 35$ mJ, $t = 30$ min.

Imaginile zonei cu picături de STS dispersate în vitamina A din proba iradiată de emulsie de vitamina A și STS, cu raport 1,6:0,4, sunt prezentate în Figura 9. În Figura 9a este prezentată o imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 10X, iar în Figura 9b cu mărire 100X. La fel ca în cazul probei neiradiate, picăturile de STS au dimensiuni diferite, însă în urma iradierii ($\lambda = 532$ nm, $E_n = 35$ mJ, $t = 30$ min), se obțin și picături cu dimensiuni mai mici, având diametre și de 550 nm.

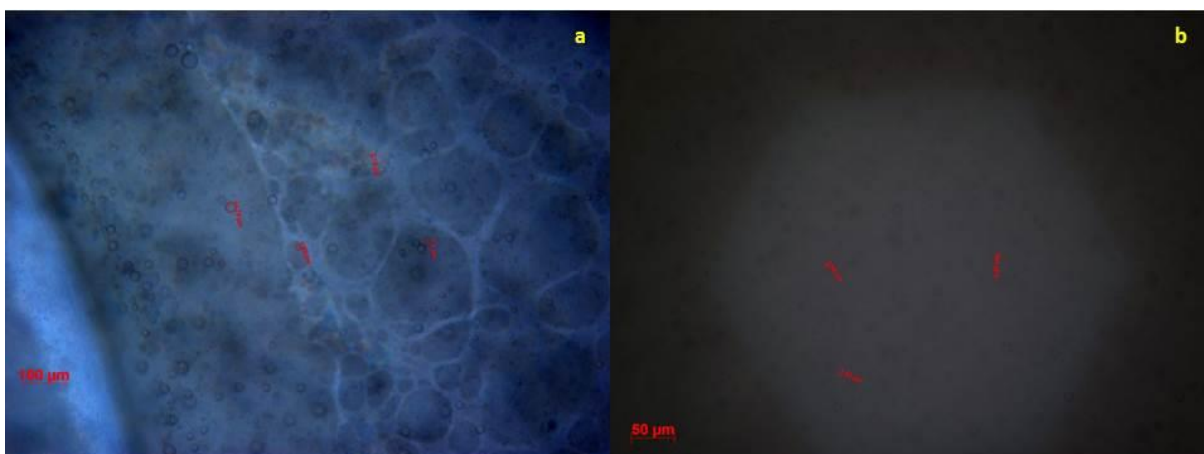


Fig. 10. Imagini ale emulsiei (zona cu picături de vitamina A dispersate în STS) de vitamina A și STS în raport 1,6:0,4: a) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 10X; b) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 20X.

În Figura 10 sunt prezentate imagini ale zonei din emulsie cu picături de vitamina A dispersate în STS, înregistrate în reflexie cu mărire 10X (Fig. 10a) și mărire 20X (Fig. 10b). În imagini se poate observa că, spre deosebire de zona cu emulsie de picături de STS în vitamina A, densitatea picăturilor de vitamina A în STS este mult mai mică. Dimensiunile picăturilor de vitamina sunt variate, pornind de la picături cu diametre de 2-3 μ m.

În Figura 11 sunt prezentate imagini ale emulsiei iradiate ($\lambda = 532$ nm, $E_n = 35$ mJ, $t = 30$ min) înregistrate în zona emulsiei cu picături de vitamina A dispersate în STS. Imaginile au înregistrate în reflexie cu mărire 10X (Fig. 11a) și mărire 20X (Fig. 11b).

La fel ca în cazul emulsiei neiradiate, densitatea picăturilor de vitamina A în STS este mult mai mică în comparație cu densitatea picăturilor de STS în vitamina A. În urma iradierii, se obțin picături de vitamina A cu diametre variate, începând de la 1-2 μ m.

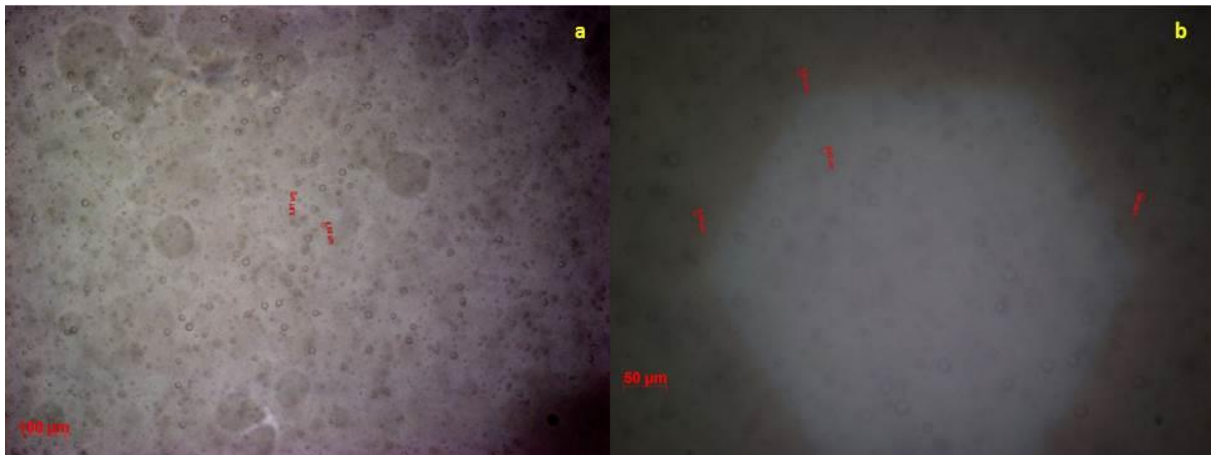


Fig. 11. Imagini ale emulsiei iradiate (zona cu picături de vitamina A dispersate în STS) de vitamina A și STS în raport 1,6:0,4: a) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 10X; b) imagine înregistrată în reflexie, cu mărire 20X. Condițiile de iradiere au fost $\lambda = 532$ nm, $E_n = 35$ mJ, $t = 30$ min.

4. Realizarea de măsurători spectroscopice, optice și microfluidice pentru a caracteriza compuşii utilizați în generarea nanoemulsiilor, înainte și după expunerea lor la radiație laser.

Spectroscopia de absorbție în UV-Vis-NIR

Spectrele de absorbție se înregistrează cu ajutorul unui spectrofotometru de absorbție în UV-Vis-NIR Lambda 950 de la Perkin-Elmer, SUA. Domeniul spectral al spectrofotometrului este 175 \leq 3300 nm. Acesta are o rezoluție $\times 0,05$ nm în domeniul UV-Vis și $\times 0,20$ nm în NIR. Eroarea intrinsecă a spectrofotometrului este de 0,004%.

Spectrele de absorbție a soluției uleioase de vitamina A 20 mg/ml au fost înregistrate înainte și după 30 min de iradiere cu fasciculul laser la lungimea de undă 266 nm și o energie medie a fasciculului de 7,5 mJ. Volumul probei expuse a fost 1 ml.

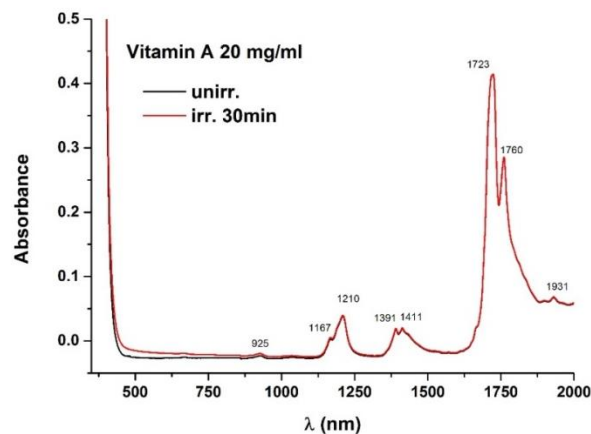


Fig. 12. Spectrele de absorbție UV-Vis-NIR ale soluției uleioase de vitamina A 20 mg/ml înainte și după iradiere.

La această concentrație, soluția uleioasă de vitamina A absoarbe puternic sub 500 nm, spectrul fiind saturat sub această valoare (Fig. 12). În Figura 12 se pot observa benzi cu maxime de absorbție la 925 nm, 1167 nm, 1210 nm, 1391 nm, 1411 nm, 1723 nm, 1760 nm și 1931 nm.

Deși energia fasciculului laser la lungimea de undă 266 nm este absorbită, în spectrul soluției uleioase de vitamina A 20 mg/ml înregistrat după iradiere nu se observă modificări ale maximelor de absorbție. Acest lucru se datorează faptului că la această concentrație numărul de molecule de vitamina A modificate în timpul expunerii la radiație laser este foarte mic în comparație cu numărul total de molecule din soluție.

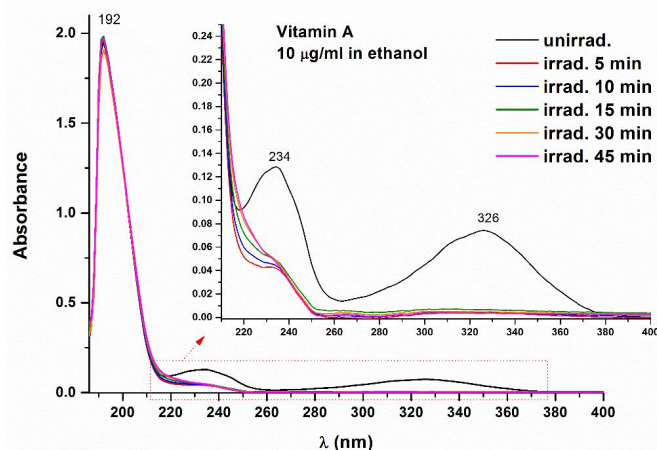


Fig. 13. Spectrele de absorbție UV-Vis ale soluției de vitamina A în etanol 10 $\mu\text{g/ml}$ înainte și după iradiere.

Pentru a observa efectul radiației laser asupra moleculelor de vitamina A, o soluție de vitamina A în etanol cu concentrația de 10 $\mu\text{g/ml}$ a fost expusă timp de 45 min la un fascicul laser cu aceleași caracteristici ca în experimentul anterior ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $\Phi_{\text{ir}} = 7,5 \text{ mJ}$).

Spectrul de absorbție UV-Vis al soluției de vitamina A în etanol 10 $\mu\text{g/ml}$ prezintă un maxim de absorbție la 192 nm și două benzi largi cu maximele la 234 nm, respectiv 326 nm (Fig. 13). Aceste benzi de absorbție se pot datora unor tranziții $\pi \rightarrow \pi^*$ ale moleculelor.

Banda de absorbție cu maximumul la 326 nm este de interes în experimentele de fotofizică. Aceasta corespunde unei tranziții $^1\pi\pi^* \leftarrow ^1\pi\pi$.

Forma spectrului de absorbție se modifică încă din primele 5 minute de iradiere, demonstrând o modificare rapidă a moleculelor de vitamina A. Prin expunere la radiație laser cu lungimea de undă 266 nm moleculele de vitamina A pot suferi o serie de transformări fotochimice, cum ar fi foto-izomerizare, generare de noi radicali și formarea unor produși de foto-degradare [4].

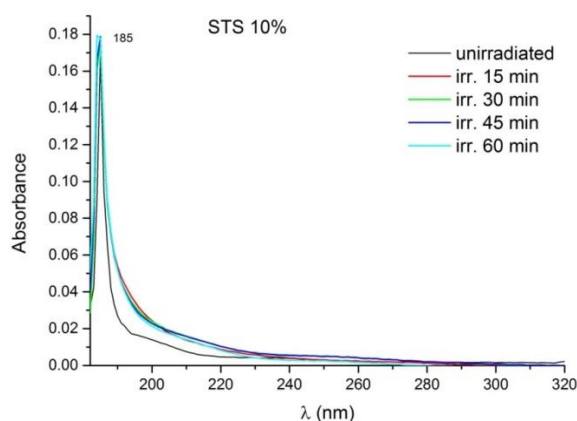


Fig. 14. Spectrele de absorbție UV ale soluției de STS 10% în apă ultra pură înainte și după iradiere.

Spectrele de absorbție UV-Vis ale soluțiilor de STS 10% în apă ultra pură au fost înregistrate înainte și după expunerea la radiație laser ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $\Phi_{\text{ir}} = 7,5 \text{ mJ}$). Spectrul soluției de STS 10% în apă ultra pură prezintă o bandă de absorbție cu maximumul la 185 nm, apoi prezintă o transmisie totală în domeniile UV-B, UV-C și Vis. Maximumul de absorbție nu suferă modificări pe parcursul celor 60 minute de iradiere, după cum se poate observa în Figura 14.

Spectroscopia FTIR

Spectrele IR au fost înregistrate utilizând spectrometrul FT-IR Nicolet iS⁵ 50, în domeniul 4000-500 cm⁻¹ la o rezoluție de 4 cm⁻¹ și o medie pe 32 de spectre. Probele de STS neiradiate și iradiate au fost uscate pe un suport KRS-5, aplicându-se 60 μL de probă (cate 20 μL aplicat de trei ori). Spectrele FTIR ale moleculei de vitamina A neiradiate și iradiate au fost înregistrate aplicând 5 μL pe un card de poliester.

De asemenea, s-au efectuat modelări moleculare pentru STS și vitamina A folosind programele Gaussian 09 și GaussView 5.0. Pentru obținerea spectrului calculat în domeniul IR a moleculelor de STS și vitamina A a fost utilizată aplicația Gaussian09 [5]. Rezultatele computaționale au fost obținute astfel: *în programul GaussView [6] a fost desenată structura moleculară a compusului, *s-a optimizat molecula din punct de vedere geometric și structural, *s-a calculat spectrul IR. Atât pentru optimizarea structurală cât și pentru calcularea frecvențelor legăturilor chimice ale moleculelor a fost utilizată Teoria Funcțională de Densitate (DFT - Density Functional Theory) cu funcționala B3LYP (Becke, threeparameter, Lee-Yang-Parr) și setul de bază augmentat 6-311G(d,p) [7]. Pentru spectrele IR calculate nu a fost necesară introducerea în metoda de calcul a modului de solvatare deoarece spectrele experimentale au fost determinate în faza solidă. Influența solventului, mai exact apa, asupra procesului de optimizare structurală și de calculare a spectrului Raman a fost implementată în schema de calcul prin selectarea modului IEFPCM (integral equation formalism polarizable) cu solvent apă.

Structurile chimice optimizate folosind Gaussian 09 pentru STS și vitamina A sunt reprezentate în Figura 15 și Figura 16.

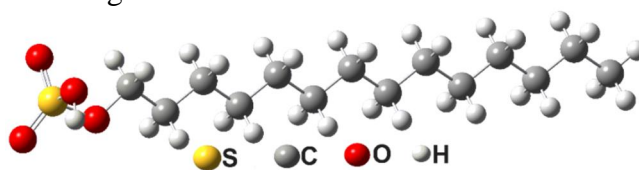


Fig. 15. Structura chimică optimizată a moleculei de STS.

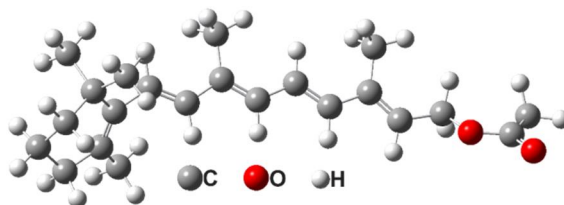


Fig. 16. Structura chimică optimizată a moleculei de vitamina A.

Spectrele IR calculate au fost comparate cu cele experimentale. În general, numerele de undă calculate prin această metodă sunt supraestimate și sunt necesare funcțiile de scalare, determinate empiric, pentru a corecta aceste valori [8,9]. În consecință, valorile calculate sunt scalate printr-o funcție pătratică, indicată în [8] drept adecvată pentru corectarea valorilor rezultate din simulările DFT folosind metoda B3LYP și setul de bază 6-311G (d, p).

Frecvențele calculate cu programul Gaussian09 au fost scalate utilizând eq. (1)

$$\text{scalat} = -0.000007 \times \text{calculat}^2 + 0,9783 \times \text{calculat} + 12,68$$

În cazul moleculei de STS, modulurile vibraționale calculate cu Gaussian09 și cele obținute experimental sunt prezentate în Figura 17.

Abaterea dintre frecvențele teoretice și cele experimentale este mai mică de 11%.

Spectrul FTIR al moleculelor de STS neiradiate este caracterizat în domeniul 3015-2760 cm⁻¹ de vibrații de alungire simetrice și asimetrice ale legăturilor C-H din cadrul lanțului alifatic și în domeniul 1300-1100 cm⁻¹ de vibrații de deformare în afara planului-balans ale legăturilor C₆H (CH₂) din cadrul lanțului alifatic. Modulurile de vibrație pentru molecula de STS sunt exemplificate în Tabel 1.

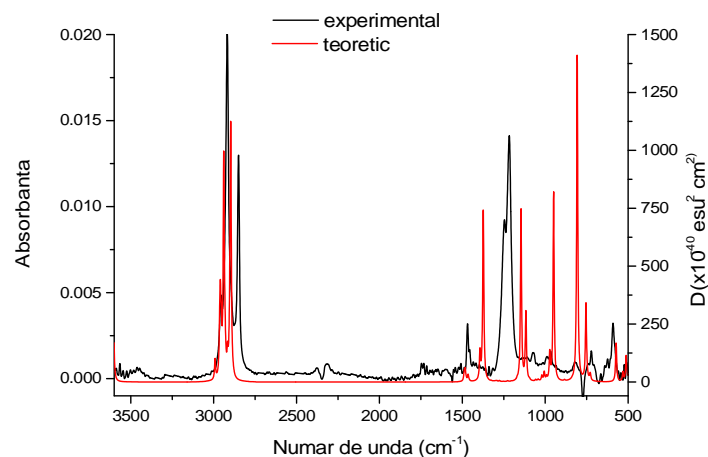


Fig. 17: Modurile vibrationala normala calculate in Gaussian 09 si cele obtinute experimental pentru STS.

Tabel 1: Modurile de vibratie experimentale corespunzatoare legaturilor moleculei de STS neiradiat rezultat in urma analizei FTIR si modurile de vibratie calculate utilizand programul Gaussian09

TIP DE VIBRATIE	(cm^{-1}) experimental	(cm^{-1}) calculat
Alungire asimetrica C6H (CH ₃) din cadrul lantului alifatic	2954	2960
Alungire asimetrica C6H (CH ₂) din cadrul lantului alifatic	2917	2939
Alungire simetrica C6H (CH ₂) din cadrul lantului alifatic	2849	2897
Deformarea in afara planului-balans C6H (CH ₂) din cadrul lantului alifatic	1247	1393
Deformarea in afara planului-balans C6H (CH ₂) din cadrul lantului alifatic	1217	1373

Comparatia intre spectrul FTIR al probei de STS neiradiat si iradiat timp de 15, 30, 45 si 60 min este prezentata in Figura 18.

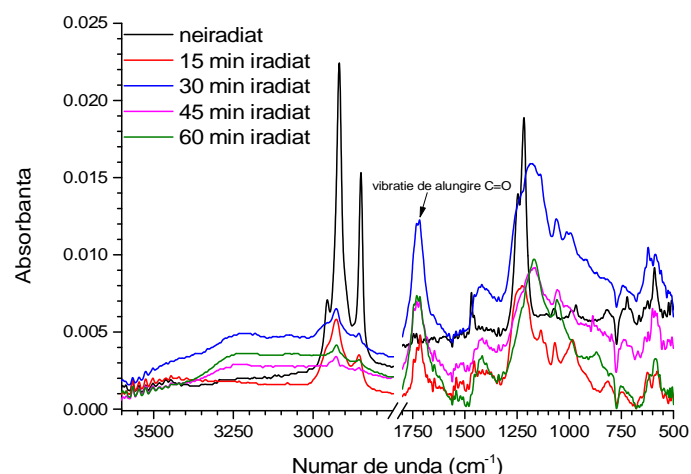


Fig. 18. Comparatie intre spectrul FTIR al molecule de STS neiradiate si spectrele FTIR ale molecule STS iradiate timp de 15, 30, 45, 60 min.

Analiza spectrelor FTIR in cazul solutiilor iradiate intre 15 si 60 min au aratat o scadere semnificativa a benzilor din domeniul $3015\text{-}2760\text{ cm}^{-1}$ ce indica reducerea vibratiilor C-H simetrice si asimetrice din lantul alifatic. De asemenea, datorita procesului de iradiere, la 1716 cm^{-1} apare o banda noua ce se datoreaza transformarii gruparii metil in una carbonil

datorita polimerizarii surfactantului [10]. Aceasta modificare in spectrele solutiilor de STS iradiate este insotita si de o deplasare batocromica de 31 nm a benzii de la 1215 cm^{-1} .

Pentru molecula de vitamina A, modurile vibrationale calculate cu Gaussian09 si cele obtinute experimental sunt prezentate in Figura 19.

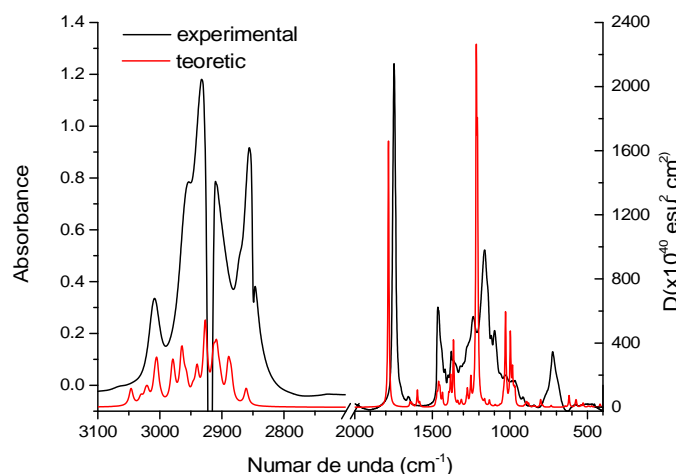


Fig. 19: Modurile vibrationala normale calculate in Gaussian 09 si cele obtinute experimental pentru vitamina A.

Abaterea dintre frecventele teoretice si cele experimentale este mai mica de 4.5%.

Spectrul FTIR al moleculei de vitamina A neiradiata este caracterizat in domeniul $3100\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ de vibratii de alungire simetrice si asimetrice ale legaturilor C-H din cadrul gruparii metil. Banda de la 1747 cm^{-1} este atribuita vibratiei de alungire simetrica C=O si cea de la 1025 cm^{-1} se datoreaza vibratiei de alungire simetrica C-O. Toate modurile de vibratie pentru molecula de vitamina A sunt exemplificate in Tabel 2.

Tabel 2: Modurile de vibratie experimentale corespunzatoare legaturilor moleculei de vitamina A neiradiata rezultata in urma analizei FTIR si modurile de vibratie calculate utilizand programul Gaussian09

TIP DE VIBRATIE	(cm^{-1}) experimental	(cm^{-1}) calculat
Alungire asimetrica C-H (CH_3)	3008	3005
Alungire asimetrica C-H (CH_3)	2932	2964
Alungire asimetrica C-H (CH_3)	2910	2926
Alungire simetrica C-H (CH_3)	2856	2889
Alungire simetrica C=O	1747	1783
Deformare in afara planului-balans C-H (CH_3)	1466	1457
Deformare in afara planului-balans C-H (CH_3)	1377	1363
Deformare in afara planului-torsiune C-H (CH_3)	1163	1215
Alungire asimetrica C-O	1025	1028
Deformare in afara planului-balans C-H (lantul alifatic)	969	997

Comparand spectrul FTIR (Fig. 20) al solutiei de vitamina A, la o concentratie de 20 mg/mL, neiradiata cu cel al solutiei iradiate 30 min nu se observa nicio modificare a benzilor de absorbtie, ceea ce sugereaza ca numarul de molecule fotodegradate din solutie ca urmare a iradierii este mult mai mic decat cel al moleculelor de vitamina A, la momentul initial.

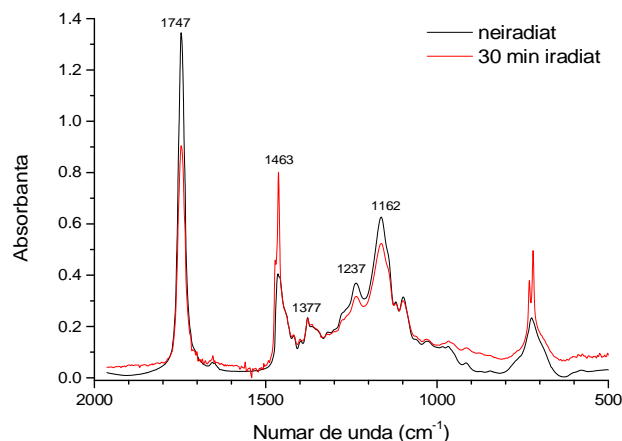


Fig. 20. Comparatie intre spectrul FTIR al moleculei de vitamina A neiradiata si spectrele FTIR ale moleculei de vitamina A, iradiate timp de 30 min.

Spectroscopie Raman

Sistemul experimental utilizat contine un laser cu Nd: YAG, dublat/quadruplat in frecventa (Continuum, Surelite II ó lungime de unda 532 nm / 266nm), durata pulsului 6ns, frecventa 10Hz, energie pe puls 40mJ) ca sursa de excitatie. Semnalele de imprastiere Raman sunt colectate cu o fibra optica si detectate/analizate cu ajutor unui sistem Spectrograf ó Camera ICCD (Acton Research/Princeton Instruments): Spectrograf Spectra Pro, model SP-2750 (Czerny-Turner, distanta focala- 750 mm, Rezolutie ó 0.8 nm, ICCD ó PIMAX 1024 RB (Intensifier 25-mm, Res. 64 lp/mm, 2ns deschidere minima poarta).

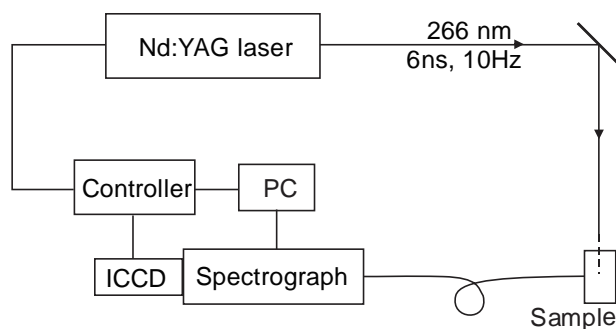


Fig. 21. Sistem experimental de spectroscopie Raman

Unul dintre compusii din componenta emulsiilor generate de echipamentul asistat laser dezvoltat in cadrul proiectului este STS. Acesta este un surfactant de tip anionic care prin emulsificare cu ulei (in cazul nostru vitamina A) polimerizeaza si formeaza prin stabilizare asa numiti produsii latex. Acest proces se poate observa analizand spectrele Raman ale componentelor emulsiei si ale acestora si punerea in evidenta a modificarilor la nivel molecular prin identificarea grupurilor functionale reprezentative pentru aceste modificari si a vibratiilor lor corespunzatoare.

In Figura 22a este prezentat spectrul Raman in domeniul spectral 600 - 1800 cm^{-1} pentru o solutie de STS in apa in concentratie procentuala de 10%. Se pot observa trasaturile vibrationale specifice STS si anume la 840 cm^{-1} alungire simetrica S-O, la 1100 cm^{-1} alungire simetrica si asimetrica C-C caracteristica lantului alifatic, 1220 cm^{-1} - 1300 cm^{-1} vibratii de deformare a C-H din CH_2 . De asemenea se observa la 1678 cm^{-1} banda OH caracteristica apei.

Spectrul Raman experimental este in concordanta cu simularile facute cu Gaussian09 folosind Density Functional Theory (DFT) si metoda B3LYP cu set de baza 6ó311G(d,p).

Ca urmare a emulsificarii cu vitamina A apar in spectru Raman (Figura 22 b) trasaturi specifice ale vitaminei A si de asemenea modificari ale spectrului STS in urma polimerizarii acestuia. Trasaturile spectrale specifice vitaminei A apar la 761 cm^{-1} (vibratie inel aromatic), 1493 cm^{-1} (vibratii $=\text{C-H}$ si $\text{C}=\text{C}$ din inelul aromatic).

Ca urmare a procesului de polimerizare a STS apare in compozitia sa gruparea $\text{C}=\text{O}$ din gruparea carbonil care se formeaza prin cuplarea moleculelor de STS. Aceasta are banda de vibratie Raman in jur de 1700 cm^{-1} . In plus se observa o intensificare a benzilor de deformare C-H din CH_2 din lantul alifatic situate la 1224 cm^{-1} si 1289 cm^{-1} .

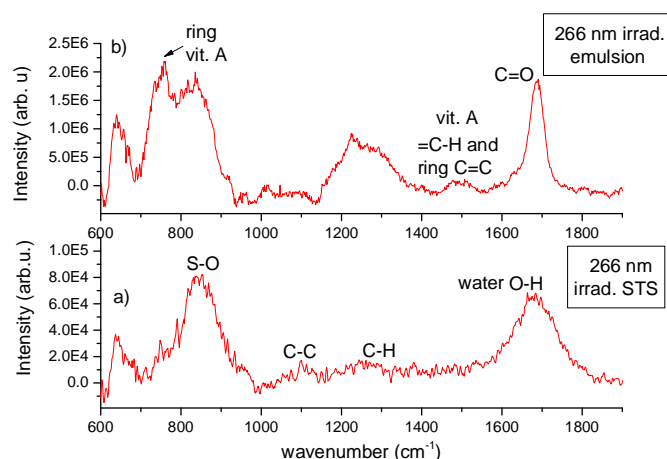


Fig. 22. Spectrul Raman excitat cu 266 nm la 40mJ in domeniul spectral $600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$.

Masuratori de microfluidica

Tensiogramele au fost inregistrate cu ajutorul tensiometrului de analiza a profilului picaturii PAT-1 (Sinterface, Berlin-Germania).

In cazul solutiei de STS 10% in apa ultra pura a fost generata o picatura cu volumul de $20\text{ }\mu\text{l}$, iar tensiunea superficiala a fost obtinuta din analiza profilului picaturii.

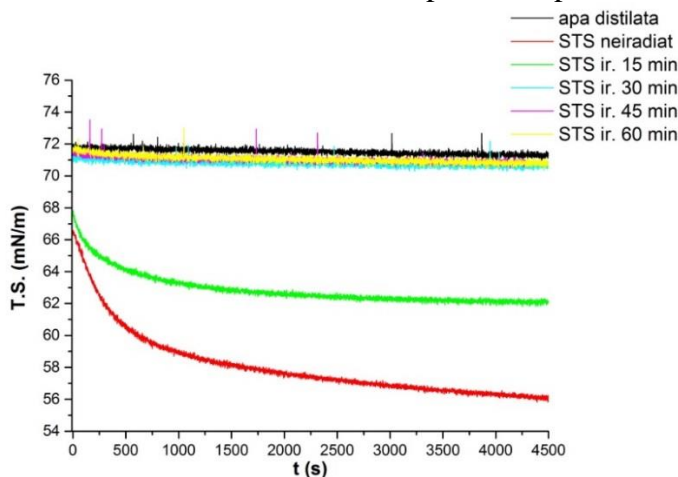


Fig. 23. Tensiunea superficiala a solutiei de STS 10 % in apa ultra pura

In Figura 23 este prezentata tensiunea superficiala a apei distilate, masurata ca referinta, si tensiogramele solutiilor de STS 10% neiradiate si iradiate pentru diferite intervale de timp, pana la 60 minute. Tensiunea superficiala a apei este de $72,2\text{ mN/m}$ si are o valoare constanta pe toata durata masuratorii. In cazul solutiei de STS neiradiata, valoarea initiala a tensiunii superficiale este mai mica decat cea a apei si apoi are o scadere brusca in primele 1500 de secunde, aratand ca moleculele de STS migreaza la interfata lichid/aer, STS-

ul fiind surfactant. In urma iradierii pentru diferite intervale de timp, dinamica tensiunii superficiale a solutiei de STS incepe sa aiba aceleasi caracteristici ca si tensiunea superficiale a apei. Acest lucru demonstreaza ca moleculele de STS sufera in timpul iradierii modificarile structurale astfel incat caracterul lor de agenti activi la suprafata dispare in totalitate dupa o iradiere de 30 de minute.

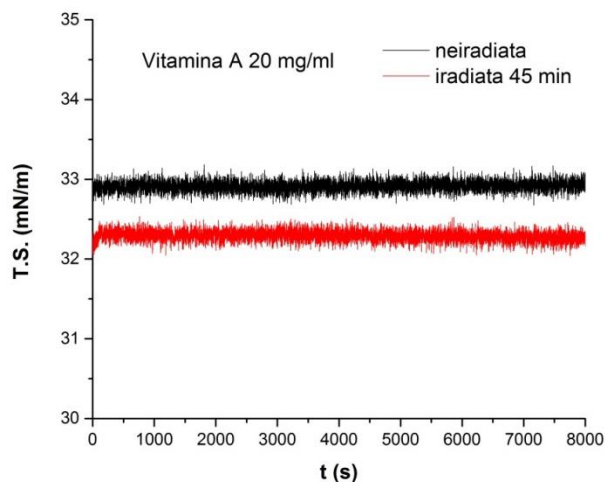


Fig. 24. Tensiunea superficiale a solutiei uleioase de vitamina A 20mg/ml

In cazul vitaminei A uleioase (Fig. 24) iradierea nu produce modificari majore ale curbelor masurate de tensiune superficiale. Varierea tensiunii superficiale de 0,5 mN/m fiind in limitele de eroare ale aparatului.

Actualizarea conceptului proiectului la ultimele realizari publicate.

Realizarea obiectivelor proiectului pentru aceasta etapa a fost insotita de o documentare up-to date pentru actualizarea conceptului proiectului. Astfel se poate mentiona ca metoda propusa prin proiect nu a fost abordata si raportata in literatura de specialitate pana in acest moment, punindu-se in acest sens in evidenta originalitatea propunerii.

Implementarea strategiei de risc si reevaluarea acestora

Riscurile tehnice identificate la propunerea proiectului au constat in selectia potrivita a tuburilor capilare si a seringilor de pompaj si problemele tehnice ce pot aparea in constructia sistemului. Acestea au fost evitate prin alegerea unui sistem de pompaj de ultima generatie care permite dozajul adecvat al probelor si controlat printr-un program dedicat si realizat in acest sens. De asemenea experienta membrilor echipei in utilizarea tehnicilor microfluidice a dus la alegerea potrivita a seringilor si tipurilor de capilare. Riscurile tehnice viitoare vor fi depasite prin optimizarea si validarea sistemului prevazuta in etapa urmatoare.

Concluzii

In cadrul acestei etape a fost dezvoltat dispozitivul experimental de producere a emulsiilor si stabiliti parametrii de lucru si protocolul de functionare al acestuia. S-au analizat prin microscopie optica emulsiile generate cu sistemul dezvoltat. De asemenea au fost masurate proprietatile spectroscopice, optice si microfluidice pentru compusii utilizati in generarea nanoemulsiilor, inainte si dupa expunerea lor la radiatie laser. In acest fel obiectivele proiectului pentru aceasta etapa au fost indeplinite si au fost obtinute rezultatele estimate.

Diseminarea rezultatelor

Articole:

1. Tozar, T; Smarandache, A; Staicu, A; Pascu, ML; Pirvulescu, RA; Laser modified phenothiazines and hydantoin: photo-products characterisation and application on animal eyes pseudo-tumours, Letters in Drug Design & Discovery, 14: (2017);
2. Tozar, T; Andrei, IR; Costin, R; Pirvulescu, RA; Pascu, ML; Case series about ex vivo evaluation of squamous cell carcinomas by laser induced autofluorescence and Fourier transformed infrared spectroscopy, LASERS IN MEDICAL SCIENCE (In revision).

Conferinte:

1. Tozar, T; Nastasa, V; Popa, M; Chifiriuc, MC; Andrei, IR; Pascu, ML; "Thioridazine exposed to UV laser radiation: a new approach in fighting against infectious diseases", 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium, 8 September 2017, Barcelona, Spain;
2. Tozar, T; Stoicu, A; Nastasa, V; Popa, M; Chifiriuc, C; Andrei, IR; Pascu, ML; Inducing antibacterial properties in non-antibiotics by exposure to Uv laser radiation, IONS Balvanyos 2017, 25-28 July 2017, Covasna, Romania;
3. Pascu, ML; Simon, A; Andrei, IR; Tozar, T; Staicu, A; Dinache, A; Smarandache, A; Boni, M; Optofluidic properties of microdroplets to be used in biomedicine, IONS Balvanyos 2017, 25-28 July 2017, Covasna, Romania;
4. Staicu, A; Dinache, A; Smarandache, A; Pascu, A; Nastasa, V; Boni, M; Simon, A; Tozar T; Andrei, IR, Enescu, M; Pascu, ML; Light triggered drug complexes for targeted delivery, IONS Balvanyos 2017, 25-28 July 2017, Covasna, Romania;
5. A. Simon, M. Boni, T. Tozar, M. Ferrari, M.L. Pascu; Foam generation and behaviour of unexposed and laser exposed medicine solutions in view of biomedical applications; Annual Scientific Conference University of Bucharest, Faculty of Physics 2017 Meeting, M gurele, Romania, 23-24 June 2017;
6. A. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, L. Frunz , I. Zgur , Alan Dowson, J.J.W.A van Loon, M.L. Pascu; Laser Modified Medicine Droplets in Terrestrial and Hypergravity Conditions: Generation, Behaviour and Interaction with Target Surfaces of Biomedical Interest; International OSA Network of Students (IONS), Balvanyos, Romania, 25-28 July 2017;
7. A. Simon, I.R. Andrei, L. Frunz , I. Zgur , A. Dowson, J.J.W.A van Loon, M.L. Pascu; Laser modified medicine droplets under hypergravity conditions; International OSA Network of Students (IONS) KOALA, Brisbane, Australia, 26 November-1 December 2017;
8. Tozar, T; Andrei, IR; Pascu, ML; "Time stability of laser exposed phenothiazines aqueous solutions", Annual Scientific Conference University of Bucharest, Faculty of Physics 2017 Meeting, M gurele, Romania, 23-24 June 2017;
9. Boni, M; Andrei, I.R. ; Staicu, A; Pascu, M.L.; " Time resolved fluorescence emission of suspended beads pumped by laser radiation", IONS Balvanyos 2017, Covasna, Romania, 25-28 July 2017;
10. Boni, M; Andrei, I.R.; Staicu, A; Pascu, M.L.; "Temporal resolved fluorescence emission by laser pumped microliter droplets in air", Annual Scientific Conference University of Bucharest, Faculty of Physics 2017 Meeting, M gurele, Romania, 23-24 June 2017;
11. A. Smarandache, R. Moeller, M.L. Pascu, "UV-VIS and FTIR spectroscopic investigations of gamma - ray irradiated antibiotics", Annual Scientific Conference University of Bucharest, Faculty of Physics 2017 Meeting, M gurele, Romania, 23-24 June 2017;
12. A. Smarandache, M. Boni, J. Handzlik, K. Kiec-Kononowicz, A. Staicu, M.-L. Pascu, "Laser Induced Colloidal Structures in Drugs Solutions", IONS Balvanyos 2017, Covasna, Romania, 25-28 July 2017.
13. Andra Dinache, Adriana Smarandache, Ionut Andrei, Mihai L. Pascu, Colloids generation in medicines solutions, IONS Balvanyos 2017, Covasna, Romania, 25-28 July 2017.

Capitol de carte:

1. Nastasa, V; Boni,M; Stoicu,A; Dinache, A; Smarandache, A; Pascu, ML; "Lasers in Foams and Emulsions Studies" , in Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance, M. L. Pascu ed, Bentham Science Publishers-Sharjah, UAE, 987-1-68108-499-2, 293-337 (2017).

Adresa web a site-ului proiectului:

<http://lsg.inflpr.ro/ped104.htm>

Referinte

- [1] Jenkinson HA, Wilmas KM, Silapunt S., šSodium Tetradecyl Sulfate: A Review of Clinical Usesö, *Dermatol Surg.* 2017 Nov;43(11):1313-1320.
- [2] Smarandache A., Trelles M., Pascu M.L., öMeasurement of the modifications of Polidocanol absorption spectra after exposure to NIR laser radiationö, *J Optoelectronics Advanced Materials*, vol.12, no.9, pp. 1942 ó 1945, 2010
- [3] Trelles, M.A., Weiss, R., MorenoóMoraga, J., Romero, C., Velez, M., and Perez, X., öTreatment of legs veins with combined pulsed dye and Nd:YAD lasers: 60 patients as- sessed at 6 monthsö. *Lasers Surg. Med.*, vol. 42, pp. 609ó614, 2010
- [4] Peter P. Fu, Qingsu Xia, Jun Jie Yin, Shu-Hui Cherng, Jian Yan, Nan Mei, Tao Chen, Mary D. Boudreau, Paul C. Howard, Wayne G. Wamer, šPhotodecomposition of Vitamin A and Photobiological Implications for the Skinö, *Photochemistry and Photobiology*, 2007, 83: 409ó424
- [5] M. J. Frisch, et al., *Gaussian 09, Revision D.01*. Gaussian, Inc., Wallingford CT; 2009.
- [6] Dennington R, Keith TA, Millam JM. *GaussView*. Shawnee Mission, KS: Semichem Inc.; 2016.
- [7] Stephens PJ, Devlin FJ, Chabalowski CF, Frisch MJ. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. *J Phys Chem* 1994;98:11623ó7. doi:10.1021/j100096a001.
- [8] Osaki T, Soejima E. Quadratic scaling functions for obtaining normal vibrational wavenumbers from the B3LYP calculation. *Res Bull Fukuoka Inst Tech* 2010;42:129ó34.
- [9] Yoshida H, Ehara A, Matsuura H. Density functional vibrational analysis using wavenumber-linear scale factors. *Chem Phys Lett* 2000;325:477ó683. doi:10.1016/S0009-2614(00)00680-1.
- [10] Zhang J, Severtson SJ, Houtman CJ. Characterizing the distribution of sodium alkyl sulfate surfactant homologues in water-based, acrylic pressure-sensitive adhesive films. *J Phys Chem B* 2011;115:8138ó44. doi:10.1021/jp202731h.