

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JASNA KOLARIČ

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JASNA KOLARIČ

**IZDELAVA SAMO-MIKROEMULGIRAJOČIH SISTEMOV NA  
OSNOVI SREDNJEDOLGOVERIŽNIH LIPIDOV**

**FORMULATION OF SELF-MICROEMULSIFYING SYSTEMS  
BASED ON MEDIUMCHAIN LIPIDS**

Ljubljana, 2010

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Alenke Zvonar, mag. farm..

Za strokovno pomoč se zahvaljujem mentorici prof. dr. Mirjani Gašperlin, mag. farm., somentorici asist. dr. Alenki Zvonar, mag. farm. in delovni mentorici asist. Mirjam Gosenca, mag. farm. ter ostalim članom Katedre za farmacevtsko tehnologijo. Posebna zahvala za pomoč in razumevanje je namenjena mojim staršem, bratu in mojemu Iztoku.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm.

Jasna Kolarič

*Predsednica diplomske komisije:* izr. prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

*Članica diplomske komisije:* asist. dr. Barbara Mlinar, mag. farm.

## KAZALO VSEBINE

<b>1. POVZETEK</b> .....	<b>3</b>
<b>2. SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>5</b>
<b>3. UVOD</b> .....	<b>6</b>
3.1. NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI.....	7
3.1.1. Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov.....	7
3.1.2. Samo-mikroemulgirajoči sistemi.....	9
3.1.3. Mikroemulzije .....	9
3.1.4. (Psevdo)trikomponentni fazni diagram .....	11
3.1.5. Hidrofilno-lipofilno ravnotežje .....	13
3.2. IZBOR KOMPONENT ZA SISTEME, OSNOVANE NA LIPIDIH.....	16
3.2.1. Splošni kriteriji .....	16
3.2.2. Trigliceridi .....	18
3.2.3. Mešani gliceridi .....	19
3.2.4. Hidrofobni emulgatorji .....	20
3.2.5. Hidrofilni emulgatorji.....	20
3.2.6. Sotopila.....	21
3.2.7. Ostale pomožne snovi.....	22
3.3. NAČRTOVANJE NA LIPIDIH OSNOVANIH SISTEMOV .....	22
3.3.1. Medsebojno mešanje komponent .....	22
3.3.2. Kapaciteta solubilizacije.....	23
3.3.3. Načrtovanje razreda I.....	24
3.3.4. Načrtovanje razreda II .....	25
3.3.5. Načrtovanje razreda III.....	25

3.3.6. Načrtovanje razreda IV .....	27
3.3.7. Pristopi za optimizacijo lipidnih sistemov .....	27
<b>4. NAMEN DELA .....</b>	<b>29</b>
<b>5. MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>30</b>
5.1. MATERIALI .....	30
5.2. METODE .....	34
5.2.1. Izdelava (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama .....	34
5.2.2. Določanje specifične električne prevodnosti .....	35
5.2.3. Določanje solubilizacijske kapacitete izbranih SMES za modelne učinkovine .....	37
5.2.4. HPLC analitika .....	39
5.2.5. Določanje velikosti kapljic iz SMES nastalih mikroemulzij .....	41
5.2.6. Priprava vzorcev za stabilnostne študije .....	43
<b>6. REZULTATI IN RAZPRAVA .....</b>	<b>44</b>
6.1. Izdelava (psevdo)trikomponentnih faznih diagramov .....	44
6.1.1. (Psevdo)trikomponentni fazni diagrami s hidrofilnimi emulgatorji .....	44
6.1.2. Vpliv ko-emulgatorjev na nastanek mikroemulzij .....	47
6.2. Določanje tipa nastalih (mikro)emulzij (o/v ali v/o) .....	51
6.3. Ovrednotenje vzorcev .....	59
6.3.1. Solubilizacijska kapaciteta SMES .....	59
6.3.2. Določanje velikosti kapljic mikroemulzij nastalih iz SMES 1 do 9 .....	63
6.3.3. Stabilnost modelnih učinkovin NDS 1, 2 in 8 v izbranih SMES .....	65
<b>7. SKLEPI .....</b>	<b>69</b>
<b>8. VIRI IN LITERATURA .....</b>	<b>71</b>
<b>9. PRILOGA .....</b>	<b>75</b>

# 1. POVZETEK

Samo-mikroemulgirajoči sistemi sodijo med novejše pristope za izboljšanje biološke uporabnosti učinkovin s slabimi biofarmaceutskimi lastnostmi. Po definiciji so ti sistemi izotropne zmesi lipidov, emulgatorjev in hidrofilnih topil ali ko-emulgatorjev, ki v stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju hitro in spontano tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Proces samo-emulgiranja je specifičen za točno določene kombinacije in razmerje med lipidi in emulgatorji ter koncentracijo le-teh, zato imajo le točno definirani sistemi ustrezen samo-emulgirajoči učinek. Za določitev optimalnega razmerja med posameznimi komponentami sistema je zato potrebno izdelati (psevdo)trikomponentni fazni diagram, iz katerega je razvidno območje nastanka mikroemulzij.

Namen diplomskega dela je izdelava optimalnega samo-mikroemulgirajočega sistema, ki bo po redčenju z vodno fazo tvoril mikroemulzije v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama in bo hkrati imel visoko solubilizacijsko kapaciteto za izbrane modelne učinkovine.

Iz komponent, primernih za peroralno uporabo, smo izdelali samo-(mikro)emulgirajoče sisteme in jih ovrednotili glede na območja nastanka in notranjo strukturo (mikro)emulzij ter s stališča topnosti in stabilnosti izbranih modelnih učinkovin. Pripravili smo več kombinacij srednjedolgoveržnih lipidov (Captex<sup>®</sup> 355, Capmul<sup>®</sup> MCM; 1:2) z različnimi emulgatorji (Labrasol<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup> 20, Cremophor<sup>®</sup> EL) ter ko-emulgatorji (lecitin, Cremophor<sup>®</sup> RH 40, Solutol<sup>®</sup> HS-15, Capryol<sup>™</sup> 90) in za vsak izbrani sistem izdelali (psevdo)trikomponentni fazni diagram. Vsem samo-(mikro)emulgirajočim sistemom in iz njih nastalim sistemom po dodatku vode, smo pri izdelavi (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama določili specifično električno prevodnost ter jih organoleptično ovrednotili. Pri nadaljnjem delu smo izbrali devet samo-mikroemulgirajočih sistemov, ki so tvorili mikroemulzije v najširšem območju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama in jim določili kapaciteto solubilizacije za tri modelne učinkovine.

Izbranim sistemom smo z napravo Zetasizer Nano izmerili tudi velikost kapljic notranje faze in jih stabilnostno ovrednotili.

Ugotovili smo, da so mikroemulzije nastale v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama pri kombinaciji emulgatorja Tween<sup>®</sup> 20 s hidrofilnim ko-emulgatorjem Solutol<sup>®</sup> HS-15 oz. Cremophor<sup>®</sup> RH 40. Capryol<sup>™</sup> 90 in lecitin kot hidrofobna ko-emulgatorja v kombinaciji s hidrofilnim Tween<sup>®</sup>-om 20 nista izkazovala potenciala za tvorbo mikroemulzij.

Na podlagi določene specifične električne prevodnosti vsem osnovnim in novo nastalim sistemom med izdelavo (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama smo ugotovili, da mikroemulzije tipa O/V hitreje in v večjem obsegu nastanejo pri uporabi hidrofilnih emulgatorjev in ko-emulgatorjev, saj se je pri teh sistemih specifična električna prevodnost povečala hitreje v primerjavi s sistemi s hidrofobnimi ko-emulgatorji.

Sisteme smo ovrednotili tudi s stališča uporabnosti in na podlagi HPLC-analize kapacitete solubilizacije devetih potencialno najugodnejših samo-mikroemulgirajočih sistemov za izbrane modelne učinkovine lahko trdimo, da izbrani sistemi predstavljajo potencial za vgradnjo učinkovine NDS 2, saj je bila dosežena kapaciteta solubilizacije v omenjenih sistemih za le-to tudi do 13.55%.

Nastanek mikroemulzij pri specifičnih sestavah izbranih samo-mikroemulgirajočih sistemov lahko potrdimo tudi na podlagi opravljenih meritev z napravo Zetasizer Nano, saj je bila izmerjena velikost kapljic notranje faze povsod pod 140 nm.

Na osnovi eksperimentalno dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da izdelani sistemi v veliki meri izkazujejo samo-mikroemulgirajoče lastnosti ter predstavljajo potencialni peroralni dostavni sistem za izbrane učinkovine.

## 2. SEZNAM OKRAJŠAV

SMES	samo-mikroemulgirajoči sistem
SES	samo-emulgirajoči sistem
PI	polidisperzni indeks
HLB	hidrofilno-lipofilno ravnotežje
PAS	površinsko aktivne snovi
PEG	polietilenglikol
sdv-MG	srednjedolgoverižni monogliceridi
sdv-DG	srednjedolgoverižni digliceridi
sdv-TG	srednjedolgoverižni trigliceridi
dv-TG	dolgoverižni trigliceridi
P-gp	P-glikoprotein
log P	porazdelitveni koeficient (oktanol/voda)
ZU	zdravilna učinkovina
GRAS status	status varne snovi (angl.: generally recognized as safe)
TPGS	$\alpha$ -tokoferil-PEG-1000-sukcinat



### 3. UVOD

Po zadnjih podatkih je v razvoju skoraj 40% potencialnih novih učinkovin, ki so slabo topne in/ali permeabilne, kar onemogoča preboj le-teh na farmacevtski trg (1). Ker je peroralni vnos učinkovin pri kronični terapiji še vedno najbolj zaželen, velik problem predstavljajo predvsem lipofilne učinkovine, ki ne dosegajo ustrezne absorpcije v prebavnem traktu zaradi nizke vodotopnosti in počasnega raztapljanja. Poleg kemijske ali fizikalne modifikacije lahko povečamo vodotopnost lipofilnih učinkovin tudi z razvojem ustreznega dostavnega sistema osnovanega na lipidih. Lipidi v prebavnem traktu povečajo izločanje žolčnega soka, ki vsebuje endogene PAS ter soka trebušne slinavke. Omenjeni prebavni sokovi olajšajo nastanek grobe emulzije pod vplivom peristaltičnega gibanja prebavnega trakta ter stimulirajo raztapljanje lipofilne učinkovine. V kolikor med dispergiranjem in procesom prebave sistema z lipidi ne pride do obarjanja učinkovine, je le-ta skozi ves prebavni trakt prisotna v raztopljeni obliki. Tako se lahko izognemo procesu raztapljanja učinkovine, katerega hitrost pomembno vpliva na absorpcijo slabo vodotopnih učinkovin. K učinkovitejšemu sproščanju učinkovine, vnesene z na lipidih osnovanimi sistemi, pripomore tudi podaljšan čas zadrževanja učinkovine v prebavnem traktu, saj prisotnost lipidov upočasni praznjenje želodca. Lipidi nadalje v enterocitih stimulirajo tvorbo lipoproteinov, kar stimulira limfatični transport lipofilnih učinkovin. Ker intestinalni limfni obtok obide jetra, se tako zmanjša tudi obseg metabolizma prvega prehoda. Nekatere komponente sistemov osnovanih na lipidih so zmožne izboljšati tudi permeabilnost učinkovin skozi biološke membrane. Med srednjedolgoveržnimi monogliceridi (sdv-MG) in srednjedolgoveržnimi digliceridi (sdv-DG) se kot pospeševalci absorpcije skozi črevesno steno uporabljajo predvsem gliceridi kaprilne in kaprinske kisline, ki so sposobni spremeniti barierno funkcijo črevesne stene in tako pospešiti paracelularni prehod učinkovine. Neionske PAS z delovanjem na lipidni dvosloj epitelijskih celic povečajo transcelularno absorpcijo učinkovin, z delovanjem na tesne stike pa se poveča tudi paracelularna absorpcija (1,2).

Na lipidih osnovani dostavni sistemi, še zlasti mikroemulzije in samo-mikroemulgirajoči sistemi (SMES), ki jih večina avtorjev tudi uvršča med mikroemulzije, močno povečajo kapaciteto solubilizacije slabo vodotopnih učinkovin in s tem biološko uporabnost le-teh.

Omogočajo tudi zaščito občutljivih učinkovin pred zunanjimi vplivi, kot je npr. oksidacija (3,4). Z vgradnjo v SMES so med drugim povečali biološko uporabnost ciklosporina A, ritonavirja, sekvinavirja, simvastatina, halofantrina in karvediola (5,6).

### **3.1. NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI**

#### **3.1.1. Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov**

Po klasifikacijskem sistemu na lipidih osnovanih sistemov, ki ga je leta 2000 uvedel Pouton (7), so na lipidih osnovani sistemi glede na njihovo sestavo ter sposobnost, da preprečijo obarjanje vgrajene zdravilne učinkovine *in vivo*, sistematično razvrščeni v štiri razrede. Glavni namen lipidnega klasifikacijskega sistema je predvsem olajšati izbiro najustreznejše formulacije za specifično učinkovino na osnovi poznavanja njenih fizikalno-kemijskih značilnosti ter postaviti nek okvir, ki bo olajšal interpretacijo rezultatov *in vivo* študij ter bo sočasno omogočal napovedovanje le-teh. V razred I uvrščamo enostavne oljne raztopine, sestavljene pretežno iz mono-, di- in trigliceridov, ki spadajo med ne-emulgirajoče sisteme. Razred II poleg gliceridov vsebuje tudi lipofilne PAS, ki lajšajo emulgiranje sistema v prebavnem traktu in povečajo kapaciteto solubilizacije sistema. Te sisteme uvrščamo med samo-emulgirajoče sisteme (SES). Sistemi razreda III lahko poleg gliceridov in PAS z vrednostjo HLB več kot 12 vsebujejo tudi hidrofilna sotpila. Medtem ko podrazred IIIa vključuje sisteme z bolj lipofilnim značajem, ki jih uvrščamo med samo-emulgirajoče sisteme z vodotopnimi PAS, uvrščamo v podrazred IIIb bolj hidrofilne sisteme s samo-mikroemulgirajočim učinkom. Razred IV predstavljajo sistemi, ki vsebujejo le vodotopne PAS in sotpila, ki po redčenju z vodo tvorijo raztopine micelov (7,2). Lastnosti posameznih sistemov so predstavljene v preglednici I.

**Preglednica I:** Značilnosti posameznih sistemov, uvrščenih v klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov.

Povzeto po Pouton, 2006.

UVRSTITEV SISTEMA	SESTAVA SISTEMA	ZNAČILNOSTI	PREDNOSTI	POMANJKLJIVOSTI
<b>Razred I</b>	Gliceridi (MG, DG, TG) (100%)	Ni spontanega dispergiranja; za absorpcijo potrebna prebava glicerida.	GRAS status; enostaven sistem, ki ga je mogoče polniti v kapsule.	Če ZU ni zelo lipofilna, je solubilizacijska kapaciteta takšnega sistema nizka.
<b>Razred II</b>	Gliceridi (MG, DG, TG) (40-80%) in PAS s HLB<12 (20-60%)	SES brez vodotopnih PAS.	Majhna verjetnost za obarjanje učinkovine po dispergiranju <i>in vivo</i> .	Nastanek motne disperzije tipa O/V z velikostjo kapljic 0,25-2 µm.
<b>Razred IIIa</b>	Gliceridi (MG, DG, TG) (40-80%), PAS s HLB>12 (20-40%), hidrofilna sotpila (0-40%)	SES z vodotopnimi PAS.	Rahlo motna (IIIa) oz. bistra (IIIb) disperzija; za absorpcijo ZU ni potrebna prebava olja.	Možnost obarjanja ZU med dispergiranjem; težja prebava sistema.
<b>Razred IIIb</b>	Gliceridi (MG, DG, TG) (<20%), PAS s HLB>12 (20-50%), hidrofilna sotpila (20-50%)	SMES z vodotopnimi PAS.		Večja verjetnost, da bo med dispergiranjem prišlo do obarjanja ZU.
<b>Razred IV</b>	PAS s HLB<12 (0-20%), PAS s HLB>12 (20-80%), hidrofilna sotpila (0-80%)	Formulacija, ki po dispergiranju tvori raztopino micelov.	Visoka solubilizacijska kapaciteta za mnoge ZU.	Velika verjetnost za obarjanje ZU med dispergiranjem. Sistem se morda ne bo prebavil.

### 3.1.2. Samo-mikroemulgirajoči sistemi

Samo-mikroemulgirajoči sistemi (SMES) so izotropne zmesi lipidov, emulgatorjev, ko-emulgatorjev in hidrofilnih topil ter učinkovine, ki že ob rahlem mešanju v stiku z vodnim medijem hitro in spontano tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Velikost kapljic iz SMES nastale mikroemulzije je manjša od 100 oz. 50 nm, porazdelitev njihove velikosti pa je ozka. Proces samo-emulgiranja je specifičen za točno določene kombinacije in razmerja med lipidi in emulgatorji, zato imajo le točno definirani sistemi ustrezen samo-mikroemulgirajoči učinek. Za določitev optimalne sestave sistema je potrebno izdelati (psevdo)trikomponentni fazni diagram, iz katerega je razvidno območje nastanka mikroemulzij. Prav tako je pomembno, da pridobimo čim več podatkov o fizikalno-kemijskih in biofarmaceutskih lastnostih učinkovine, ki jo želimo vgraditi v izbrani sistem (6,8).

### 3.1.3. Mikroemulzije

Mikroemulzije so bistre, izotropne, termodinamsko stabilne in nizko viskozne koloidne disperzije, ki so sestavljene iz vodne in oljne faze ter stabilizirane z medfaznim filmom emulgatorja. Velikost kapljic notranje faze mikroemulzij je pod 140 nm. Medfaza je lahko stabilizirana le z enim emulgatorjem ali pa je le-ta kombiniran še s ko-emulgatorjem, npr. kratkoverižnim alkoholom, aminom ali katero drugo šibko amfifilno molekulo (9). Velik delež emulgatorjev v mikroemulzijah predstavlja glavni dejavnik, ki omejuje široko uporabo mikroemulzij v terapevtske namene, saj so le-ti potencialno toksični. Spontan nastanek mikroemulzije je posledica sinergističnega delovanja emulgatorja in ko-emulgatorja, ki močno znižata medfazno napetost med oljem in vodno fazo. Zaradi dispergiranja notranje faze v obliki kapljic, ki so manjše od 140 nm, je nastala medfazna površina sicer zelo velika, a istočasno se močno poveča tudi entropija takega sistema. Posledično je prosta Gibbsova energija sistema manjša ali blizu nič, kar omogoča spontan nastanek mikroemulzije (4).

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S$$

(enačba 1)

$\Delta G_f$ .....prosta energija nastanka

(sprememba proste energije sistema pri nastanku mikroemulzije)

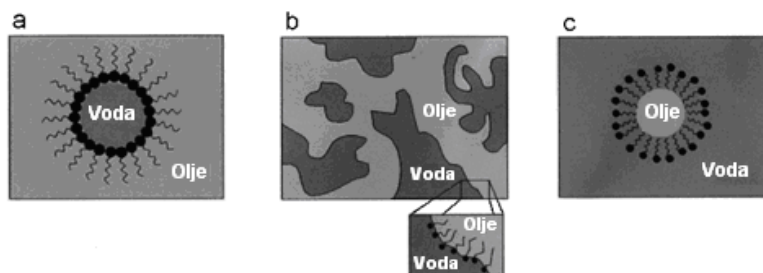
$\gamma$ .....medfazna napetost med dvema nemešajočima se tekočinama

$\Delta A$ .....sprememba površine

$T$ .....temperatura

$\Delta S$ .....sprememba entropije sistema

V primerjavi z makroemulzijami, kjer je vsaka kapljica samostojna enota, so mikroemulzije dinamični sistemi, ki se spreminjajo, kljub temu pa je celoten sistem termodinamsko stabilen. Pri visokih deležih vode je mikroemulzija sestavljena iz majhnih kapljic olja, ki so dispergirane v vodi (mikroemulzije O/V). Če je delež olja višji od vode, potem dobimo obratni sistem (mikroemulzije V/O). V obeh sistemih so kapljice vode oz. olja ločene z monoplastjo emulgatorja. Ko deleža vode in olja zavzmeta približno enako vrednost, pride do nastanka bikontinuiranih struktur. Tudi v tem primeru sta obe fazi ločeni z emulgatorskim filmom, vendar je ukrivljenost celotne mreže filma blizu nič. Tako se emulgatorski film ne zaključí in zato niti olje niti voda ne predstavljata dispergirane faze, ampak sta kontinuirani (9,10).



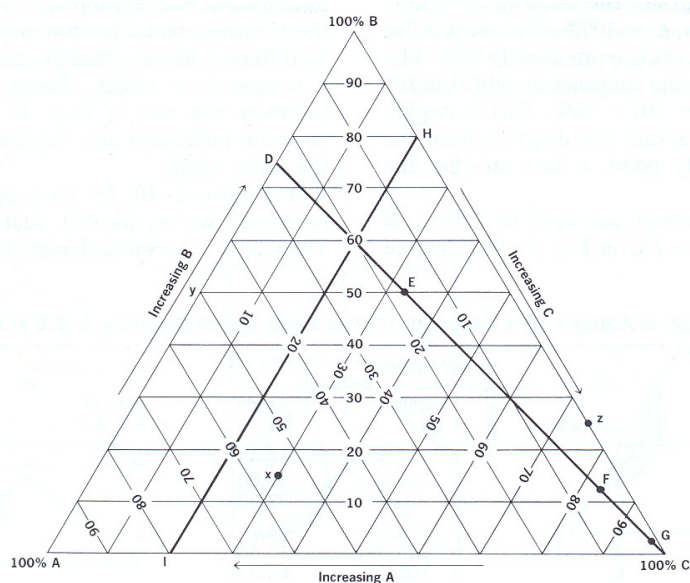
**Slika 1:** Prikaz osnovnih struktur mikroemulzij; mikroemulzija V/O (a), bikontinuirane strukture (b), mikroemulzija O/V (c).

V mikroemulzije lahko vgradimo tako hidrofilne kot tudi lipofilne ter amfifilne učinkovine z namenom povečanja topnosti in/ali obsega absorpcije le-teh, za prikrivanje neprijetnega okusa ali vonja ter z namenom zaščite labilnih učinkovin pred zunanjimi vplivi. Z vgradnjo slabo topnih učinkovin (ibuprofen, ketoprofen, tamoksifen, testosteron, kloramfenikol) v mikroemulzije tipa O/V, so povečali njihovo topnost od 60 do 20000-krat, biološka uporabnost ibuprofena pa se je v primerjavi z vodno suspenzijo pri podganah 9-krat povečala (4).

### 3.1.4. (Psevdo)trikomponentni fazni diagram

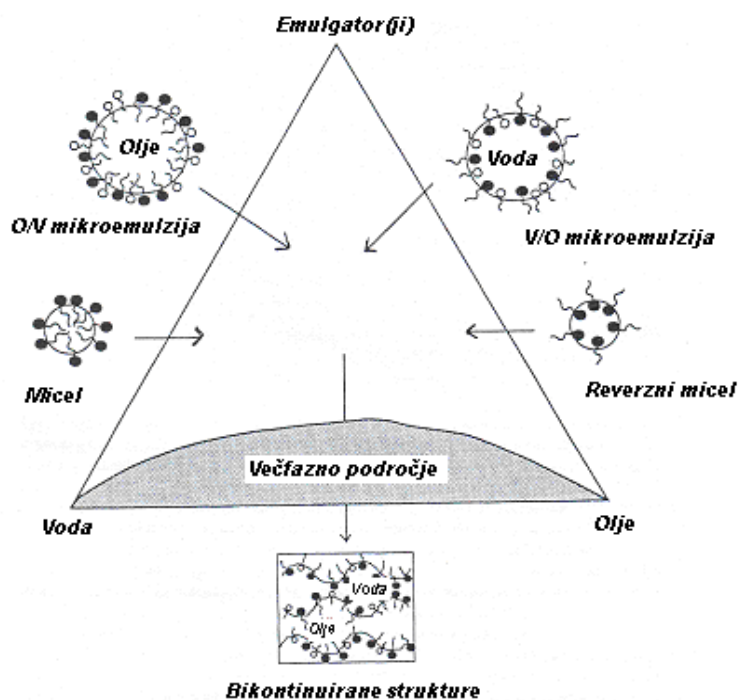
Ko pomešamo oljno in vodno fazo ter površinsko aktivne snovi, lahko odvisno od kemične strukture in koncentracije vsake od komponent, nastanejo številne asociacijske strukture, kot so klasične emulzije, mikroemulzije, miceli, mezomorfne faze, geli ali oljne disperzije. Temperatura in tlak sta pri pripravi mikroemulzij ponavadi konstantna. Z izdelavo (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama lahko prikažemo interakcije in strukture, ki nastanejo med izbranimi komponentami. Za opis štirikomponentnega sistema potrebujemo fazni diagram v obliki tetraedra, katerega vsako oglišče bi predstavljalo eno od komponent, stranice pa zmes dveh komponent. Interpretacija faznega diagrama v obliki tetraedra je zelo težka, zato se v praksi uporablja poenostavljen planarni (psevdo)trikomponentni fazni diagram v obliki enakostraničnega trikotnika. V le-tem ohranjamo eno komponento ves čas konstantno ali pa dve komponenti združimo v konstantnem razmerju (11). Slika 2 prikazuje interpretacijo (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama v obliki enakostraničnega trikotnika. Oglišča predstavljajo 100% izbrane komponente, stranice pa zmes dveh komponent (AB, BC in AC). Notranja površina trikotnika predstavlja vse možne kombinacije komponent A, B in C. Vzorednice stranici AB predstavljajo naraščajoč delež komponente C ( $C=0\%$  na stranici AB in  $C=100\%$  v oglišču C). Prav tako lahko iz (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama odčitamo vsebnost komponente A s pomočjo vzorednic stranice BC oz. vsebnost komponente B s pomočjo vzorednic stranici AC. Daljica HI predstavlja konstantno vsebnost

komponente C ( $C=20\%$ ) in različne vsebnosti komponent A in B. Točka F predstavlja sistem, ki vsebuje 83% komponente C, 12% komponente B in 5% komponente A.



*Slika 2: Interpretacija planarnega (psevdo)trikomponentnega faznega diagram (12).*

Slika 3 prikazuje različne strukture, ki nastanejo pri mešanju olja, vode in površinsko aktivnih snovi v različnih razmerjih. Pri višjih koncentracijah emulgatorja se tvorijo mikroemulzije tipa V/O oz. O/V, pri nižjih pa makroemulzije. Če imamo le zmes vode in površinsko aktivne snovi, nastanejo miceli, pri čemer se hidrofobni deli PAS obrnejo navznoter, hidrofilni pa navzven. V odsotnosti vode iz PAS in olja nastanejo reverzni miceli. Pri visokih koncentracijah emulgatorja pa lahko nastanejo tudi tekoči kristali, sestavljeni iz koherentnih dvoslojev PAS, oblikovanih v lamelarne ali heksagonalne anizotropne strukture (9,10).



*Slika 3: Planarni (psevdo)trikomponentni fazni diagram s prikazanimi strukturami, ki nastanejo pri različnih kombinacijah izbranih komponent.*

### 3.1.5. Hidrofilno-lipofilno ravnotežje

Lastnosti in kemijska struktura izbranega emulgatorja v veliki meri vplivajo na vrsto nastalih asociacijskih struktur in tip nastalega sistema (V/O ali O/V). Pomembni lastnosti emulgatorja, ki odražata njegove značilnosti, sta hidrofilno-lipofilno ravnotežje (HLB) in ureditveni parameter P. Vrednost HLB neionskih emulgatorjev je definirana kot petina masnega deleža hidrofilnega dela molekule proti masi celotne molekule. Višje vrednosti HLB pomenijo, da so takšni emulgatorji hidrofilni ( $HLB \geq 12$ ), nižje pa da so hidrofobni ( $HLB < 12$ ) (7). HLB vpliva na urejanje emulgatorskih molekul in ukrivljanje emulgatorskega filma ter tako določa tip nastalega sistema. Od HLB je odvisen tudi ureditveni parameter P, ki opisuje ukrivljanje emulgatorskega filma na medfazi.



$$P = \frac{V_c}{A_H} \frac{1}{l_c}$$

(enačba 2)

$V_c$ .....volumen hidrofobnega dela molekule

$A_H$  .....efektivna površina hidrofilnega dela molekule

$l_c$ .....dolžina iztegnjene hidrofobne verige emulgatorja

Vrednost  $P < 1$  pomeni, da v molekuli prevladuje hidrofilna glava in zato sistem teži k nastanku struktur O/V, saj se emulgatorski film ukrivi proti vodi (pozitivna ukrivljenost). Pri  $P > 1$  prevladuje nastanek struktur V/O in ukrivitev emulgatorskega filma proti oljni fazi (negativna ukrivljenost). Pri vrednosti  $P \approx 1$  nastanejo pretežno bikontinuirane ali lamelarne strukture (9,11,13).

Medtem ko je pri neionskih PAS vrednost HLB odvisna le od mase hidrofilnega dela, je pri ionskih PAS efektivna vrednost HLB odvisna od stopnje disociacije in posledično od pH in ionske moči. Ukrivljanje emulgatorskega filma je odvisno tudi od temperature. Z višanjem temperature postaja ukrivljenost pri neionskih PAS bolj negativna, ker se zaradi dehidracije zmanjšanja velikost hidrofilne glave. Ionske PAS pri višji temperaturi bolj disociirajo, zaradi česar je ukrivljenost filma bolj pozitivna. Odbojne elektrostatske sile med polarnimi glavami različnih PAS na medfazi zasenči prisotnost soli, zato se efektivna velikost hidrofilne glave zmanjša. Pade tudi vrednost HLB in ukrivljenost filma postane bolj negativna. Takšni pogoji povečajo verjetnost za nastanek sistema V/O (11).

Lipofilna faza zahteva za nastanek (mikro)emulzije O/V določeno hidrofilno-lipofilno ravnotežje izbranega emulgator. Preglednica II prikazuje zahtevane vrednosti HLB emulgatorjev za določene oljne faze.

**Preglednica II:** Zahtevane vrednosti HLB emulgatorjev za nastanek (mikro)emulzije O/V pri določeni oljni fazi.

LIPOFILNA FAZA	ZAHTEVANA VREDNOST HLB
Trigliceridi kaprilne/kaprinske kisline (srednje-doloverižni trigliceridi)	5(11*)
Ricinusovo olje	14
Holesterol	10-11
Koruzno olje	8
Etil oleat	11
Izopropil miristat	12
Olivno olje	7-8

\*HLB zahtevan od podjetja Croda, Crodamol GTCC PN

Če imamo kombinacijo dveh emulgatorjev, moramo izbrati en emulgator z višjo vrednostjo HLB in drug emulgator z nižjo vrednostjo HLB od tiste, ki jo zahteva določena oljna faza. Delež vsakega emulgatorja izračunamo po spodnji enačbi (13).

$$\% \text{PAS}_A = \frac{100 (\text{HLB} - \text{HLB}_B)}{\text{HLB}_A - \text{HLB}_B} \quad (\text{enačba 3})$$

$$\% \text{PAS}_B = 100 - \% \text{PAS}_A \quad (\text{enačba 4})$$

HLB.....zahtevano hidrofilno-lipofilno ravnotežje oljne faze

HLB<sub>A</sub>.....vrednost HLB emulgatorja A

HLB<sub>B</sub>.....vrednost HLB emulgatorja B

% PAS<sub>A</sub>.....delež emulgatorja A

% PAS<sub>B</sub>.....delež emulgatorja B

## **3.2. IZBOR KOMPONENT ZA SISTEME, OSNOVANE NA LIPIDIH**

### **3.2.1. Splošni kriteriji**

Pri izbiri komponent za oblikovanje na lipidih osnovanih sistemov moramo upoštevati več dejavnikov, kot so toksičnost, kapaciteta solubilizacije, sposobnost mešanja, kemična stabilnost ter sposobnost samo-dispergiranja. Velika večina se nanaša na izbiro vseh komponent sistema, medtem ko je večja pozornost z ozirom na toksičnost potrebna predvsem pri izbiri ustreznih emulgatorjev. Medtem ko hidrofobni emulgatorji dobro prehajajo skozi biološke membrane, hidrofilni emulgatorji v večji meri raztapljajo komponente le-teh (7). Vsi emulgatorji so potencialno toksični oz. povzročajo draženje, vendar v splošnem velja, da so kationski emulgatorji bolj toksični od anionskih. Za najmanj toksične veljajo neionski emulgatorji, ki se tudi najpogosteje uporabljajo v na lipidih osnovanih sistemih. Izmed slednjih so polisorbati in polietoksilirana rastlinska olja manj toksični od monoverižnih emulgatorjev, estri pa so manj toksični od etrov, ki so tudi neprebavljivi. V preglednici III so prikazani nekateri izmed izdelkov osnovanih na lipidih, ki so bili leta 2005 dosegljivi na ameriškem, britanskem in japonskem trgu. Komercialni uspeh slednjih (zlasti Sandimmune Neoral<sup>®</sup>) je povečal zanimanje za S(M)ES, v katerih so hidrofobne učinkovine pogosto dobro topne, kar vpliva tudi na povečanje biološke uporabnosti učinkovine. S(M)ES se lahko polnijo v mehke ali trde kapsule.

**Preglednica III:** Izdelki z učinkovino, vgrajeno v na lipidih osnovani sistem; dostopni na trgu leta 2005.

(Preglednica zajema le nekatere od izdelkov.)

UČINKOVINA	ZAŠČITENO IME	LIPIDNA PODLAGA, EMULGATOR	TIP KONČNE FORMULACIJE	DRŽAVA
amprenavir	Agenerase <sup>®</sup>	TPGS (d-alfa tokoferil polietilenglikol 1000 sukcinat)	mehke želatinske kapsule	ZDA
progesteron	Prometrium <sup>®</sup>	arašidovo olje	mehke želatinske kapsule	ZDA
izotretinoin	Accutane <sup>®</sup>	hidrogenirano sojino olje in druga rastlinska olja, čebelji vosek	mehke želatinske kapsule	ZDA
ciklosporin A/II	Sandimmune <sup>®</sup>	koruzno olje, Labrafil <sup>®</sup> M-2125CS (mehke kaps.); olivno olje, Labrafil M-1944CS(razt.);	mehke želatinske kapsule, oralna raztopina	ZDA
$\alpha$ -kalcidiol	One-Alpha <sup>®</sup>	sezamovo olje, $\alpha$ -tokoferol	mehke želatinske kapsule	UK*
morfin sulfat	MXL <sup>®</sup>	hidrogenirano rastlinsko olje	trde želatinske kapsule	UK*
Indometacin farnezil	Infree <sup>®</sup>	$\alpha$ -tokoferol (trde kaps.); Cremophor <sup>®</sup> RH 60, gliceril monooleat	trde in mehke želatinske kapsule	Japonska

\*Združeno kraljestvo Velike Britanije in Severne Irske

Vrednost LD<sub>50</sub> večine neionskih emulgatorjev je pri peroralni uporabi nad 50g/kg oz. pri intravenski uporabi nad 5 g/kg telesne teže. Iz tega sledi, da je pri enkratnem odmerjanju v akutnih primerih 1 g emulgatorja na sistem dobro sprejemljiv. Potrebno je omeniti, da registrirani izdelki, ki so namenjeni kronični terapiji, v glavnem ne vsebujejo emulgatorjev. Izjema so nekateri inhibitorji HIV-proteaze, kot so Norvir<sup>®</sup>, Agenerase<sup>®</sup> in Kaletra<sup>®</sup>, ki vsebujejo emulgatorje; s priporočenim odmerjanjem teh zdravil pacient dnevno zaužije 2-3 g

Cremophor<sup>®</sup>-ja oz. TPGS-a ( $\alpha$ -tokoferil-PEG-1000-sukcinat). Čeprav imajo neionski emulgatorji med seboj primerljive vrednosti LD<sub>50</sub>, je kljub temu potrebna previdnost pri izbiri ustreznega neionskega emulgatorja. V pomoč so nam lahko podatki o že uporabljenih emulgatorjih v registriranih izdelkih. FDA center za zdravila, razvoj in raziskave vodi bazo podatkov, v kateri so navedene mase oz. koncentracije komponent, ki so uporabljene v farmacevtskih izdelkih na tržišču (14).

Pri izbiri komponent za na lipidih osnovane sisteme moramo biti pozorni tudi na njihovo kompleksno kemijsko sestavo. Pri rastlinskih oljih vir raznolikosti predstavljajo že same rastline, iz katerih je olje pridobljeno; pri hidrolizi oz. esterifikaciji olja lahko nastanejo različni derivati. Emulgatorji večinoma vsebujejo več vrst gliceridov, ki so lahko prisotni v različnih deležih, kar prispeva k variabilnosti med različnimi serijami. Enako kemijsko ime, s katerim emulgator poimenujemo zaradi večje praktičnosti, posledično ne predstavlja vedno istega izdelka. Proizvajalci morajo tako za sisteme, ki so osnovani na lipidih, predložiti specifikacije za določen izdelek, v katerih je navedena sestava emulgatorja. Lipidne podlage in emulgatorji so lahko kontaminirani tudi z elementi v sledovih, ki imajo potencialni vpliv na kemijsko stabilnost raztopljenih učinkovin v formulacijah osnovanih na lipidih. Potrebno je proučiti morebitno občutljivost izbrane učinkovine na perokside in aldehide, ki so lahko potencialno prisotni v nekaterih lipofilnih komponentah (7,15,16).

### 3.2.2. Trigliceridi

Kot osnovna komponenta na lipidih osnovanih sistemov se pogosto uporabljajo trigliceridi rastlinskih olj. Njihova prednost je zlasti v tem, da so običajna sestavina človeške prehrane in so kot takšni netoksični, popolnoma prebavljivi in se dobro absorbirajo skozi steno prebavnega trakta. Po kemični sestavi so rastlinska olja estri glicerola in nenasičenih dolgoverižnih maščobnih kislin, ki jih poznamo pod imenom dolgoverižni trigliceridi (dv-TG). Olja iz različnih rastlinskih virov imajo različno sestavo maščobnih kislin. Iz kokosovega olja pridobivajo srednjedolgoverižne trigliceride (sdv-TG), poznane tudi pod imenom gliceril kaprilat/kaprat, ki so zmes glicerola, zaestrenega z nasičenima maščobnima kislinama s C8 in

C10. Večji delež sdv-TG, pridobljenih iz kokosovega olja, predstavlja kaprilna kislina (50-80%), medtem ko je delež kaprinske kisline 20-45%. Trigliceridi so zelo lipofilni, zato je solubilizacijska kapaciteta za posamezne učinkovine, ki nimajo močno lipofilnega značaja, odvisna od polarnih esterskih skupin. Sdv-TG imajo več esterskih skupin v 1g čiste komponente kot dv-TG, zato izkazujejo večjo solubilizacijsko kapaciteto za učinkovine z log P=2-4. Sdv-TG so zaradi odsotnosti dvojnih vezi tudi kemično stabilnejši od dv-TG, zato se pogosto uporabljajo kot lipidna komponenta sistemov, ki so osnovani na lipidih. Ricinusovo olje je edini vir za pridobivanje gliceril ricinoleata, ki ima na alkilno verigo pripeto hidroksilno skupino (7).

### 3.2.3. Mešani gliceridi

Z delno hidrolizo trigliceridov pridobimo širok spekter mešanih gliceridov, ki se uporabljajo kot sestavine na lipidih osnovanih sistemov. Med mešane gliceride uvrščamo zmesi mono-, di- in trigliceridov, katerih kemijska sestava je odvisna od vira, iz katerega jih pridobivamo in od stopnje hidrolize. Izdelki, ki se tržijo kot monogliceridi večinoma vsebujejo tudi manjši del di- in trigliceridov, zato so potrebne natančne specifikacije tovarniških proizvajalcev. Za oblikovanje tekočih formulacij so primerni zlasti mešani mono- in digliceridi dolgoverižnih maščobnih kislin, medtem ko so različni voski manj primerni. Mešani dolgoverižni gliceridi so pogosto komponenta izbire pri oblikovanju na lipidih osnovanih sistemov, saj imajo zaradi amfifilnega značaja tudi višjo solubilizacijsko kapaciteto za tiste hidrofobne učinkovine, ki niso visoko lipofilne. V klasifikacijskem sistemu na lipidih osnovanih sistemov najdemo mešane dolgoverižne gliceride predvsem v razredu II in III, saj olajšajo samo-emulgiranje teh sistemov. Zaradi kemične stabilnosti in visoke solubilizacijske kapacitete ter dobre sposobnosti samo-emulgiranja močno narašča tudi zanimanje za srednjedolgoverižne gliceride (7,13).

### 3.2.4. Hidrofobni emulgatorji

Emulgatorje z vrednostjo HLB 8-12 uvrščamo med hidrofobne emulgatorje. Le-ti se v vodi ne topijo in ne tvorijo micelov, olajšajo pa mešanje lipofilne in hidrofilne komponente v na lipidih osnovanih sistemih ter proces samo-emulgiranja. Topnost je odvisna od stopnje etoksilacije, vendar je le-ta pri v vodi netopnih emulgatorjih zelo nizka. V to skupino emulgatorjev uvrščamo oleatne estre, kot sta polioksietilen (20) sorbitan trioleat (polisorbato 85- Tween® 85) in polioksietilen (25) gliceril trioleat (Tagat® TO). Tween® 85 in Tagat® TO imata vrednost HLB med 11 in 11.5 in sta primerna za formulacijo razreda II. Da dobimo povprečno vrednost HLB 11, lahko polisorbato 80 dodamo sorbitan monooleat, vendar takšna mešanica vsebuje v vodi topne in netopne molekule in se razlikuje od Tweena® 85, ki ga sestavljajo večinoma v vodi netopne molekule (7,16).

### 3.2.5. Hidrofilni emulgatorji

Vrednost HLB hidrofilnih emulgatorjev je 12 oz. višja. Za hidrofilne emulgatorje je značilno, da nad kritično micelarno koncentracijo v vodi tvorijo micle. Med pogosto uporabljene hidrofilne emulgatorje uvrščamo derivate ricinusovega olja, ki so lahko nasičeni (Cremophor® RH 40) ali nenasičeni (Cremophor® EL). V vodi topni emulgatorji so sestavni del mnogih farmacevtskih proizvodov, kar nakazuje na njihovo dokazano varnost skozi dolgoletno uporabo.

Za primerjavo fizikalnih lastnosti neionskih emulgatorjev med seboj je zelo uporabna vrednost HLB. Kljub temu pa se pojavljajo razlike (heterogenost, kemijska sestava) med emulgatorji, ki izvirajo iz same sinteze oz. vira, iz katerega izoliramo emulgator. Veliko različnih materialov je pridobljenih z reakcijo med polietilenglikolom (PEG) in hidroliziranimi rastlinskimi olji. Kot rezultat dobimo mono- in diestre maščobnih kislin s PEG, kombinirane z delnimi gliceridi in prostimi PEG. Pogosto uporabljene emulgatorje v kremah, kot je cetostearil alkohol etoksilat oz. cetomakrogol, pridobivamo z reakcijo med alkoholom in etilenoksidom (nastanek etoksiliranih alkilnih etrov). Polisorbati so etoksilirani etri, pridobljeni z reakcijo med estri

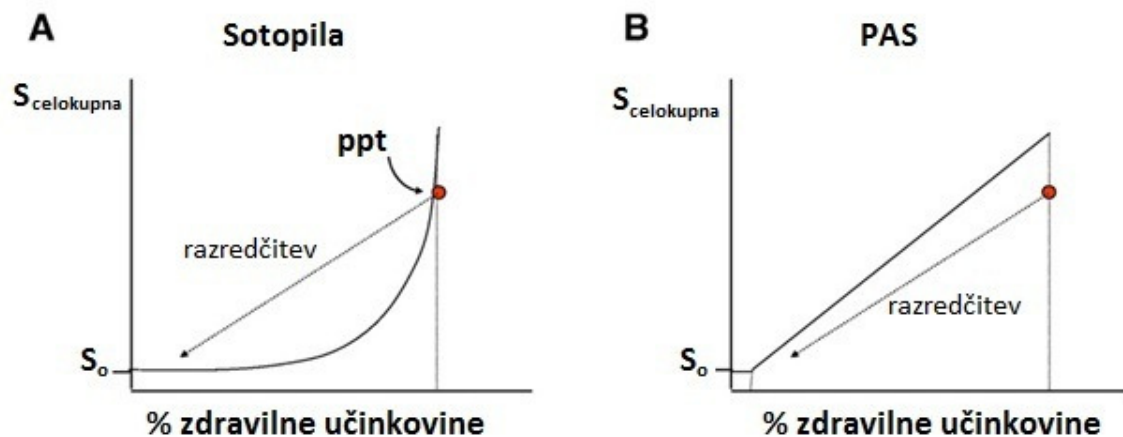
sorbitana in etilenoksidi. Derivati ricinusovega olja sintetizirani z uporabo etilenoksida, se razlikujejo med seboj po številu pripetih etilen oksidov na hidroksilno skupino ricinolne kisline na mestu C12. 87% ricinusovega olja predstavlja ricinoleat. Cremophor<sup>®</sup>-ji so zelo heterogena skupina emulgatorjev, katerih študij vpliva kemijske strukture na fizikalne, biološke in toksikološke odzive v telesu je zelo težaven.

Cremophor<sup>®</sup> naj bi v kombinaciji s TPGS-om in  $\alpha$ -tokoferolom preko inhibicije P-glikoproteina (P-gp, transportni protein) povečal biološko uporabnost ciklosporina, ki pa je tudi sam močan inhibitor P-gp. Inhibitorski učinek na P-gp izkazujejo tudi nekateri drugi emulgatorji kot so Tween<sup>®</sup> 20 in 80, saharoza monolavrat, Labrasol<sup>®</sup> in Solutol<sup>®</sup> HS-15. P-gp se nahaja na apikalni strani enterocitov in hepatocitov. V črevesju ga najdemo na vrhu resic, njegova ekspresija pa se večja vzdolž prebavnega trakta. Velike amfifilne molekule so substrat za P-gp. Nizka biološka uporabnost ni le posledica slabe vodotopnosti učinkovine, ampak tudi efluksa učinkovine posredovanega preko P-gp (1,7).

### 3.2.6. Sotopila

Veliko sistemov osnovanih na lipidih vključuje tudi sotopila. Najpogosteje uporabljena so PEG 400, propilenglikol, etanol in glicerol. Pri oblikovanju sistemov s ciklosporinom je bil kot sredstvo za povečanje topnosti učinkovine dodan etanol. Za izboljšanje solubilizacijske kapacitete učinkovine mora biti delež sotopil precej visok, kar pa poveča tveganje za obarjanje le-te, ko sistem dispergiramo v vodni raztopni. Slika 4 prikazuje vpliv razredčitve sistemov s sotopili oz. raztopin s PAS na topnost oz. obarjanje vgrajene učinkovine. Pri redčenju sistemov s sotopili z vodo, le-ti hitro izgubijo solubilizacijsko kapaciteto. V sistemih z visokim deležem hidrofilnih emulgatorjev sotopila olajšajo dispergiranje. Pri vključevanju sotopil v lipidne sisteme je potrebno omeniti tudi nekaj omejitev. Če polnimo sisteme s sotopili v kapsule, se lahko pojavijo interakcije med ovojem kapsule in sotopili, predvsem zaradi nizke molekulske mase slednjih. Pomembno je tudi, da se sotopila ustrezno mešajo z oljno fazo sistema (7).





*Slika 4: Vpliv razredčitve sistemov s sotopili oz. PAS na topnost ZU.  $S_0$  predstavlja intrinzično topnost ZU v vodi; črtkana črta prikazuje konc. ZU v sistemu, ko raztopino z 80% nasičenostjo redčimo z vodo.*

### 3.2.7. Ostale pomožne snovi

V lipidne sisteme lahko z namenom zaščite nenasičenih alkilnih verig maščobnih kislin oz. učinkovin pred oksidacijo, dodamo tudi v lipidih topne antioksidante. Med slednje spadajo  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, butilhidroksitoluen (BTH), butilhidroksianizol (BHA) in propil galat (7).

## 3.3. NAČRTOVANJE NA LIPIDIH OSNOVANIH SISTEMOV

### 3.3.1. Medsebojno mešanje komponent

Za nastanek bistre, tekoče in stabilne formulacije je bistvenega pomena medsebojno mešanje komponent sistema. Dv-TG se običajno slabo mešajo s hidrofilnimi emulgatorji oz. sotopili, zato se v takšne sisteme (npr. sistem III) dodajajo polarna olja ali ko-emulgatorji, ki omogočijo ustrezno mešanje komponent in nastanek homogene zmesi. Hidrofobni emulgatorji pa se dobro mešajo s sdv-TG in dv-TG, zato pri formuliranju npr. sistema II ne potrebujemo dodatnih pomožnih snovi. Ustrezno medsebojno mešanje hidrofilnih in lipofilnih komponent

lahko v veliki meri zagotovimo tudi z uporabo mešanih gliceridov, ki imajo afiniteto tako do hidrofilnih kot do lipofilnih snovi.

Zaradi kemijske raznolikosti lipidnih komponent, ki lahko dolgoročno vodi do razplastitve na lipidih osnovanih sistemov, je nujno že v fazi razvoja teh formulacij nameniti posebno pozornost tudi fizikalni stabilnosti sistemov. Težave se lahko pojavijo že pri samem segrevanju oz. mešanju komponent med seboj, saj je voskaste komponente velikokrat potrebno pred uporabo segreti na določeno temperaturo, da se stalijo tudi nasičene maščobne kisline. V takšnih primerih obstaja nevarnost, da bo po ohladitvi formulacije prišlo do prenasičenosti sistema in rekristalizacije raztopljenih voskastih komponent; slednje se lahko pojavi tudi po več tednih oz. mesecih. Pri načrtovanju takšnih sistemov so nam v veliko pomoč temperaturna testiranja, čeprav je predvidevanje rekristalizacije zelo kompleksno.

### 3.3.2. Kapaciteta solubilizacije

Trigliceridi pogosto izkazujejo nizko solubilizacijsko kapaciteto za zdravilne učinkovine z log  $P=2-4$ . Kapaciteto solubilizacije takšnih zdravilnih učinkovin v na lipidih osnovanih sistemih lahko povečamo z vključevanjem emulgatorjev, ko-emulgatorjev in sotopil. Tako je prišlo tudi do razvoja razreda IV po lipidnem klasifikacijskem sistemu, v katerem so olja zamenjali hidrofilni emulgatorji in sotopila. Vendar pa moramo biti pri tem previdni, saj je znano, da je vključevanje sotopil povezano tudi z večjo verjetnostjo obarjanja učinkovine po dispergiranju in prebavi formulacije *in vivo*. Študije so namreč pokazale, da je celokupna kapaciteta solubilizacije sistemov z več komponentami podobna vsoti deležev kapacitet solubilizacije posameznih komponent. Solubilizacijska kapaciteta sistemov se tako linearno povečuje v odvisnosti od koncentracije posameznih komponent. Z minimalnimi spremembami formulacije tako ne moremo pričakovati velike spremembe kapacitete solubilizacije le-te. Nasprotno pa se moramo zavedati, da se lahko med redčitvijo formulacije kapaciteta solubilizacije bistveno zmanjša. Slednje je značilno predvsem za sisteme, ki vsebujejo veliko hidrofilnih sotopil, medtem ko je vpliv vedenja na kapaciteto solubilizacije formulacij z velikim deležem emulgatorjev nižji (Slika 4). Topnost učinkovine v sistemih z emulgatorji je

namreč linearno odvisna od števila iz njih nastalih micelov in tako od koncentracije emulgatorjev. Iz tega sledi, da je uporaba neionskih emulgatorjev z namenom povečanja solubilizacijske kapacitete formulacij manj tvegan pristop kot če bi uporabili sotpila (7).

### 3.3.3. Načrtovanje razreda I

Razred I sestavljajo lipofilne komponente, ki so slabo topne oz. netopne v vodi. To so predvsem gliceridi, ki so pridobljeni iz rastlinskih olj in so običajno prisotni v hrani; so hitro prebavljivi ter se dobro absorbirajo iz prebavnega trakta. Formulacije razreda I tako uvrščamo med varne sisteme za peroralno uporabo. Ker razred I ne vključuje emulgatorjev, imajo ti sistemi zelo nizko sposobnost samo-dispergiranja v vodi. Po peroralnem vnosu teh formulacij poteče mehanska obdelava in kemijska prebava vnesenih lipidov. Trigliceridi se pod vplivom kislinskih lipaz in pankreatične lipaze prebavijo do monogliceridov in prostih maščobnih kislin. Ta proces olajša peristaltično gibanje v prebavnem traktu, ki omogoča emulgiranje lipidov v hidrofilne prebavne sokove. Sočasno s kemijsko prebavo potekajo tudi fizikalne spremembe vnesenih lipidov, ki v končni fazi vodijo v nastanek tako imenovanih mešanih micelov. Po vstopu prebavnih produktov lipolize v enterocite se lahko kratko- in srednjedolgoveržne maščobne kisline (z manj kot 12 C atomi) s portalnim krvnim obtokom transportirajo direktno v centralni krvni obtok ter se le v nizkem obsegu vgradijo v hilomikrone, ki vstopajo v limfni obtok.

Kot komponente razreda I se pogosto uporabljajo mešani gliceridi (mono- in digliceridi), katerih predstavnika sta Capmul<sup>®</sup> MCM in Imwitor<sup>®</sup> 988 (gliceril mono-/dikaprilat). Prednost razreda I je predvsem varnost oz. netoksičnost komponent, v katerih so raztopljene učinkovine tudi dobro stabilne. Biološka uporabnost je primerljiva z razredoma II oz. III. Sistemi razreda I so torej dobra izbira za dostavo zdravilnih učinkovin, v kolikor so le-te v izbranih komponentah dovolj topne. Pozorni moramo biti tudi na morebitno obarjanje vgrajene zdravilne učinkovine (1,7).

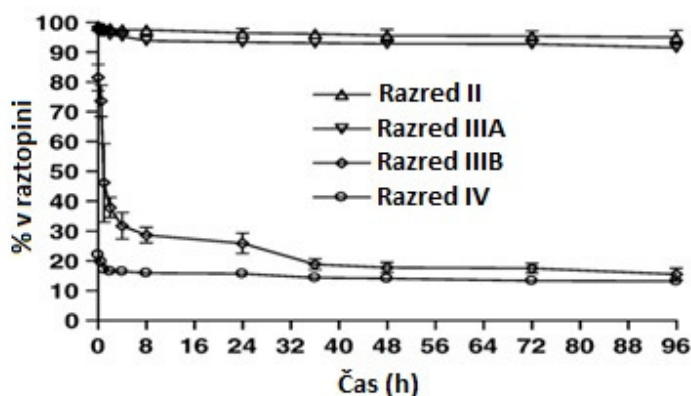
### 3.3.4. Načrtovanje razreda II

Za oblikovanje sistemov razreda II se uporabljajo različna olja in hidrofobni emulgatorji. Pogosto zasledimo kombinacijo sdv-TG in polisorbata 85 oz. emulgatorja Tagat<sup>®</sup> TO (polioksietilen-25-gliceril trioleat). Sistemi razreda II so po lastnostih podobni sistemom iz razreda I, s to prednostjo, da imajo sposobnost samo-emulgiranja. Optimalna koncentracija emulgatorjev v teh sistemih je med 30 in 40%; pri višji vsebnosti (nad 50%) le-teh pa se pogosto že poveča viskoznost sistemov in prihaja do tvorbe tekočih kristalov. Po literarnih podatkih lahko boljšo sposobnost samo-emulgiranja in nastanek emulzij v širšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama pogosto zagotovimo s sistemi, ki kot oljno fazo vključujejo mešane sdv-TG (mono-, di- in trigliceride) (7). Brezvodni sistemi Tagat<sup>®</sup> TO/(Miglyol<sup>®</sup> 812:Imwitor<sup>®</sup> 988=7:3) so tako vključevali kapljice velikosti okrog 100 nm. Razvoju formulacij iz tega razreda se v zadnjih letih ne posveča pozornosti; od leta 1992, ko je bila izvedena *in vivo* študija na psih, ni bila izvedena nobena sistematična raziskava teh sistemov. To je najverjetneje posledica tega, da večine emulgatorjev, ki se uporabljajo za formuliranje sistemov razreda II, ne najdemo na seznamu komponent uporabljenih v farmacevtskih izdelkih, ki ga vodi FDA (7,17).

### 3.3.5. Načrtovanje razreda III

Zanimanje za dobro osnovane sisteme z lipidi se je močno povečalo po tržnem uspehu zdravila Sandimmune Neoral<sup>®</sup>, s katerim so bistveno izboljšali biološko uporabnost v vodi slabo topni učinkovini ciklosporinu A glede na predhodne formulacije. Sestava Sandimmune Neoral<sup>®</sup>-a predstavlja nekakšen prototip sistemov razreda IIIa (S(M)ES), ki poleg oljne faze (40-80%) vsebujejo tudi hidrofilne emulgatorje in hidrofilna sotpila. Proces samo-(mikro)emulgiranja teh sistemov je relativno hiter, nastala disperzija pa je bistra oz. rahlo motna. Pri načrtovanju sistemov razreda III se moramo zavedati, da se s tvorbo močno hidrofilnih sistemov večja verjetnost za močno znižanje kapacitete solubilizacije po dispergiranju teh sistemov *in vivo*.

Iz slike 5 je razvidno, da se je po razredčitvi (1ml/100ml) bolj hidrofilnih sistemov (razred IIIb in IV) vgrajena lipofilna učinkovina oborila, medtem ko so bolj lipofilni sistemi (razred II in IIIa) ohranili ustrezno solubilizacijsko kapaciteto (18). Vendar v omenjeni raziskavi niso upoštevali vpliva prebave formulacij na solubilizacijsko kapaciteto teh sistemov, zato so potrebne obširne študije o vplivu procesa prebave na lastnosti sistemov razreda III ter postavitev ustrezne *in vitro in vivo* korelacije.



*Slika 5: Sprememba topnosti lipofilne učinkovine po redčitvi izbranih sistemov z vodo (1 ml/100 ml). Začetna koncentracija raztopljene učinkovine predstavlja 80% kapacitete solubilizacije sistema.*

**TIP II:** 15% w/w Miglyol® 812, 35% Imwitor® 988, 50% Tween® 85 (HLB=11)

**TIP IIIa:** 15% w/w Miglyol® 812, 35% Imwitor® 988, 50% Tween® 80 (HLB=15)

**TIP IIIb:** 50% Imwitor® 308, 50% Tween® 80

**TIP IV:** 50% Tween® 80, 50% propilen glikol

Imwitor® 308 sestavljajo mešani gliceridi kaprilne kisline, največji delež pa predstavlja gliceril monokaprilat. Imwitor® 308 ima kot oljna faza omejeno topnost v vodi, vendar če ga pomešamo s hidrofilnim emulgatorjem, kot je npr. polisorbato 80 (Tween® 80), se njegova topnost v vodi poveča.

Najpogosteje uporabljeni hidrofilni emulgatorji v sistemih razreda III so Cremophor® EL, Cremophor® RH 40 ter Labrasol® in Gelucire® (7,15).

### 3.3.6. Načrtovanje razreda IV

Kot komponente sistemov razreda IV se uporabljajo mešani hidrofilni oz. hidrofobni emulgatorji in hidrofilna sotpila. Iz slike 5 je razvidno, da po razredčitvi teh sistemov hitro poteče obarjanje vgrajenih slabo vodotopnih zdravilnih učinkovin. V kolikor bi se učinkovina oborila v obliki zelo drobnih delcev in bi nastala nanosuspenzija, bi to lahko bila potencialna prednost tega razreda, vendar so potrebne še dodatne raziskave. Čas raztapljanja sistemov, ki vključujejo le emulgatorje, je daljši kot pri sistemih, ki vsebujejo tudi oljno fazo, saj prihaja do tvorbe viskoznih tekočih kristalov na medfazi emulgatoja in vode. Slabost uporabe visokih koncentracij emulgatorjev je tudi draženje prebavnega trakta in njihova potencialna toksičnost. Zaradi velike viskoznosti je možnost lokalnih poškodb prebavnega trakta še večja, saj se lahko viskozni skupki delno raztopljenega emulgatorja prilepijo na steno želodca in črevesja. Zdravilo Agenerase<sup>®</sup> GSK, ki vključuje učinkovino amprenavir, je tipičen predstavnik sistemov razreda IV. Formulacijo sestavljajo  $\alpha$ -tokoferil-PEG-1000-sukcinat (TPGS-vodotopna oblika vitamina E), PEG 400 in propilen glikol. Predvideva se, da TPGS zviša biološko uporabnost učinkovine na račun inhibicije P-gp.

Z vgradnjo v TPGS in v PEG 6000 oz. v samo-mikroemulgirajoči sistem iz Gelucire<sup>®</sup> 44/14 in TPGS, so v primerjavi s tabletami močno izboljšali biološko uporabnost halofantrina (7,19).

### 3.3.7. Pristopi za optimizacijo lipidnih sistemov

Obarjanje vgrajene učinkovine po razredčitvi na lipidih osnovanih sistemov z vodnim medijem lahko omejimo z vključevanjem polimerov. Z dodatkom polivinil pirolidona (PVP) in hidroksi propilmetil celuloze (HPMC) so tako še zmanjšali obarjanje učinkovine iz sistemov razreda IIIb in IV.

Izbira ustrezne formulacije z lipidi za posamezne učinkovine za enkrat poteka predvsem na osnovi poskusov. Slabo vodotopne učinkovine, ki so primerni kandidati za te sisteme, so zelo heterogena skupina učinkovin, ki se po fizikalno-kemijskih lastnostih močno razlikuje.

Razvoj sistemov z lipidi za učinkovine, ki imajo visoko temperaturo tališča in  $\log P \approx 2$ , tako predstavlja velik izziv, saj je težko zagotoviti ustrezno kapaciteto vgradnje teh učinkovin. Nasprotno so učinkovine z  $\log P > 5$  idealne za razvoj formulacij z lipidi. Z uveljavljanjem na lipidih osnovanih sistemov se tako pojavlja tudi potreba po klasifikacijskem sistemu, ki bi omogočal izbiro najprimernejšega sistema z lipidi glede na lastnosti posamezne učinkovine (7).

## 4. NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je razvoj samo-mikroemulgirajočih sistemov, primernih za farmacevtsko uporabo in njihovo ovrednotenje s stališča topnosti in stabilnosti izbranih modelnih učinkovin. Ker je velik delež novih učinkovin izločen iz nadaljnjih raziskav prav zaradi neustrezne topnosti v gastrointestinalnem traktu, se vedno več pozornosti posveča brezvodnim SMES, ki se od mikroemulzij ločijo po tem, da ne vsebujejo vode. Za SMES velja, da tvorijo mikroemulzije po stiku z vodo v želodcu in črevesju zaradi peristaltičnega gibanja gastrointestinalnega trakta.

V prvem delu diplomskega dela bomo s titracijsko metodo izdelali več (psevdo)trikomponentnih faznih diagramov za sisteme, ki bodo kot oljno fazo vsebovali zmes sdv-TG Captex<sup>®</sup> 355 in sdv-MG/-DG Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2, kot emulgatorje pa Labrasol<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup> 20 in Cremophor<sup>®</sup> EL. V nadaljevanju bomo emulgatorju, ki bo omogočal nastanek mikroemulzij v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama, dodali še ko-emulgatorje, in sicer lecitin, Cremophor<sup>®</sup> RH 40, Solutol<sup>®</sup> HS-15 in Capryol<sup>™</sup> 90.

SMES, ki bodo po redčenju z vodno fazo tvorili mikroemulzije v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama, bomo ovrednotili tudi z vidika solubilizacijske kapacitete za posamezne modelne učinkovine ter sposobnosti samo-mikroemulgiranja (velikost kapljic in ustrezna fizikalna stabilnost nastalih disperzij). Spremljali bomo tudi stabilnost izbranih modelnih učinkovin v izdelanih SMES med enomesečnim staranjem pri sobni temperaturi in pri 40° C.



## 5. MATERIALI IN METODE

### 5.1. MATERIALI

#### **Captex<sup>®</sup> 355 (Abitec Corp., ZDA)**

Captex<sup>®</sup> 355 (glicerol kaprilat/kaprat) spada med sdv-TG. Pridobiva se z zaestritvijo glicerola z maščobnimi kislinami, predvsem z nasičenima kaprilno (C8) in kaprinsko (C10), katerih izvor je kokosovo olje oz. palmova jedrca. Manjši delež predstavljata tudi kapronska in lavrinska maščobna kislina. Meša se z večino organskih topil. V farmaciji se uporablja kot vehikel, solubilizator, emolien in lubrikant (20). Captex<sup>®</sup> 355 je brez barve, vonja in okusa. Sdv-TG so lažje prebavljivi kot dv-TG in zaradi tega primerni tudi za uporabo pri malabsorpcijskem sindromu, pri katerem je motena absorpcija hranil ali razgradnja hrane. Sdv-TG se uporabljajo v peroralnih, parenteralnih in dermalnih farmacevtskih pripravkih. Veljajo za netoksične in ne povzročajo iritacije kože ter oči tako pri akutni kot pri kronični uporabi (21). Sdv-TG so manj dovzetni za oksidacijo in imajo večjo solubilizacijsko kapaciteto kot dv-TG, slednja je namreč odvisna od števila estrskih skupin (7).

#### **Capmul<sup>®</sup> MCM (Abitec Corp., ZDA)**

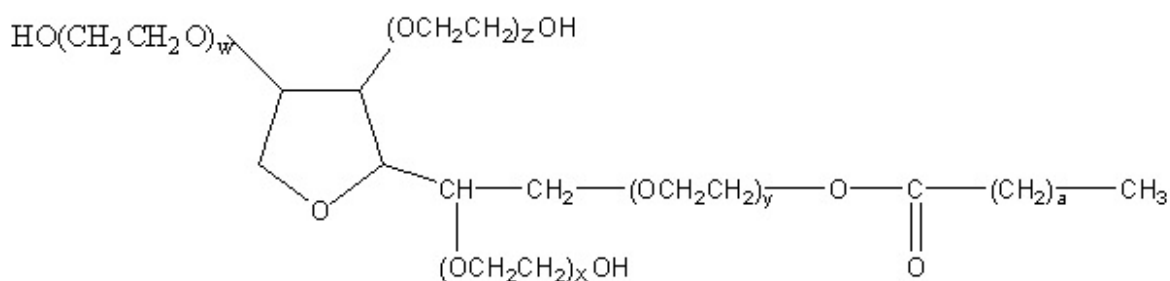
Capmul<sup>®</sup> MCM je zmes mono- in digliceridov s srednjedolgoverižnimi maščobnimi kislinami, predvsem kaprilno in kaprinsko. Kot lipofilna snov je dobro topilo za organske snovi, vključno s steroidi. Capmul<sup>®</sup> MCM se uporablja kot vehikel, emulgator v kremah, mazilih oz. losijonih za povečanje biološke uporabnosti učinkovin in za večjo absorpcijo učinkovin skozi kožo (22). Capmul<sup>®</sup> MCM ima blag vonj in je rahlo belo obarvan. Pri prekomernem zaužitju nima neželenih učinkov (glede na razpoložljive podatke) in ne draži kože ter oči (23).

**Labrasol<sup>®</sup> (Gattefosse, Francija)**

Labrasol<sup>®</sup> je zmes mono-, di- in trigliceridov kaprilne in kaprinske kisline ter estrov kaprilne in kaprinske kisline z makrogoli z relativno molekulsko maso od 200 do 400 g/mol. Kot samo-emulgirajoča snov se uporablja tako pri peroralni kot tudi pri dermalni aplikaciji. Labrasol<sup>®</sup> je blede rumene barve, tekoč in dobro topen v metilen kloridu. Spada med neionske emulgatorje. Je netoksičen in ne draži kože ter GIT. LD<sub>50</sub> Labrasol<sup>®</sup>-a pri peroralnem vnosu znaša 22 ml/kg telesne teže na dan (podgane) (21). Vrednost HLB Labrasol<sup>®</sup>-a je 14 (24).

**Tween<sup>®</sup> 20 (Merck, Nemčija)**

Tween<sup>®</sup> 20 oz. polisorbat 20 je hidrofilni, neionski emulgator z vrednostjo HLB 16.7. Tween<sup>®</sup> 20 se uporablja v peroralnih, parenteralnih in dermalnih farmacevtskih pripravkih in je netoksična in nedražeča snov. Dobro se topi v vodi, etanolu in toluenu, slabo pa v tekočem parafinu. Tween<sup>®</sup> 20 je rumena, higroskopna tekočina, zato je potrebno shranjevanje v suhem in temnem prostoru (21,25).



$$(w+x+y+z) = 20$$

$$a=10$$

*Slika 6: Kemijska struktura Tween<sup>®</sup>-a 20*

**Solutol® HS-15 (BASF, Nemčija)**

Solutol® HS-15 je neionska površinsko aktivna snov z nizko iritacijo pri *in vivo* uporabi. Pri uporabi injekcij s Solutol®-om HS-15 je bilo sproščanje histamina zelo nizko. Solutol® HS-15 oz. makrogol 15-hidroksi-stearat je mešanica mono- in diestrov 12-hidroksi-stearinske kisline in makrogolov, ki se pridobiva z etoksilacijo 12-hidroksi-stearinske kisline. Na mol 12-hidroksi-stearinske kisline reagira 15 mol etilen oksida. Solutol® HS-15 vsebuje tudi okrog 30% prostih makrogolov. Solutol® HS-15 je pri sobni temperaturi rumeno-bela poltrdna snov, ki se tali pri 30°C. Vrednost HLB je med 14 in 16. Topi se v vodi, etanolu in 2-propanolu. Topnost v vodi narašča premosorazmerno s temperaturo. V tekočem parafinu je netopen. Solutol® HS-15 je kemijsko stabilen, v tekočem stanju ga lahko steriliziramo pri 121°C (21,26,27).

**Capryol™ 90 (Gattefosse, Francija)**

Propilenglikol monokaprilat oz. Capryol™ 90 je oljnata tekočina z vrednostjo HLB 6, ki vsebuje več kot 90% monoestrov. Kot pospeševalec absorpcije, solubilizator in ko-emulgator, se uporablja v dermalnih in oralnih farmacevtskih oblikah (28,29).

**Cremophor® EL (BASF, Nemčija)**

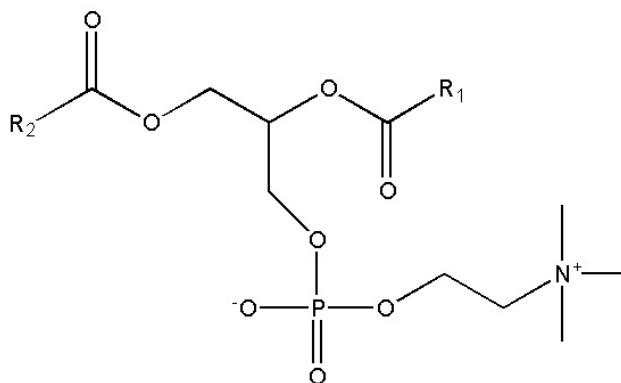
Polioksil-35-ricinusovo olje oz. Cremophor® EL je neionski solubilizator in emulgator z vrednostjo HLB 12-14, ki vsebuje 83% hidrofobnih komponent. Največji delež predstavlja glicerol polietilenglikol ricinooleat. Hidrofilni del sestavljajo prosti etilenglikoli in glicerol etoksilat. Pridobiva se tako, da en mol ricinusovega olja reagira s 35 moli etilen oksida. Cremophor® EL je blede rumena oljnata tekočina z značilnim vonjem. Dobro se topi v vodi, etanolu, etilacetatu, kloroformu, benzenu, toluenu in tetraklorometanu. Vodna raztopina polioksil-35-ricinusovega olja je inkompatibilna z živosrebrovim kloridom, fenolom in resorcinolom, ker le-ti povzročijo obarjanje Cremophor®-ja EL. Uporablja se v peroralnih, parenteralnih in dermalnih farmacevtskih pripravkih. Študije akutne in kronične toksičnosti so pokazale, da je Cremophor® EL netoksična in nedražeča snov (21,25).

**Cremophor® RH 40 (BASF, Nemčija)**

Polioksil-40-hidrogenirano ricinusovo olje je bela poltrdna snov, ki ima temperaturo tališča pri 30°C. Ima značilen vonj in je v vodnih raztopinah skoraj brez okusa. Vrednost HLB je med 14-16. Cremophor® RH 40 je topen v etanolu, vodi, kloroformu, maščobnih kislinah in alkoholih. Uporablja se kot netoksičen, nedražeč emulgator za maščobne kisline in alkohole ter kot solubilizator za lipofilne vitamine v peroralnih, parenteralnih in dermalnih farmacevtskih pripravkih. Glavni delež hidrofobnega dela omenjenega emulgatorja tvori predvsem glicerol polietilenglikol oksistearat, hidrofilni del pa sestavljata glicerol etoksilat in polietilenglikol. Cremophor® RH 40 pridobivajo tako, da poteče reakcija med enim molom hidrogeniranega ricinusovega olja in 40-45 moli etilenoksida (21).

**Lecitin (Lipoid® S-100, Lipoid GmbH, Nemčija)**

Sojin lecitin je kompleksna zmes večih sestavin. Vsebuje 21% fosfatidilholina (glavna komponenta lecitina), 22% fosfatidiletanolamina, 19% fosfatidilinozitola in ostale sestavine, kot so trigliceridi, maščobne kisline ter ogljikovi hidrati. Lecitin se uporablja kot emulgator, solubilizator, stabilizator v peroralnih, parenteralnih in dermalnih farmacevtskih pripravkih. V kremah se uporablja tudi zaradi emolientnega delovanja. Lecitin, ki je sestavina bioloških membran, je biokompatibilen in varen emulgator, ki pri dermalni uporabi ne draži kože. Je higroskopna snov, občutljiva na bakterijsko kontaminacijo in podvržena oksidaciji pri segrevanju. V odvisnosti od prostih maščobnih kislin je lahko lecitin v poltrdni do praškasti obliki. Barva lecitina se lahko spreminja od rumene do rjave, odvisno od vsebnosti nečistot in stopnje oksidacije. Lecitin je topen v mineralnih oljih, maščobnih kislinah in halogeniranih ogljikovodikih, netopen pa v polarnih medijih. V vodi tvori transparentno koloidno raztopino (21).



*Slika 7: Na sliki je prikazan je fosfatidilholin; R<sub>1</sub> in R<sub>2</sub> sta maščobni kislini, ki sta lahko enaki ali različni. V sojinem lecitinu prevladuje linolna kislina (21,25).*

## Bidestilirana voda

Bidestilirana voda je pridobljena z metodo dvojne destilacije na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo.

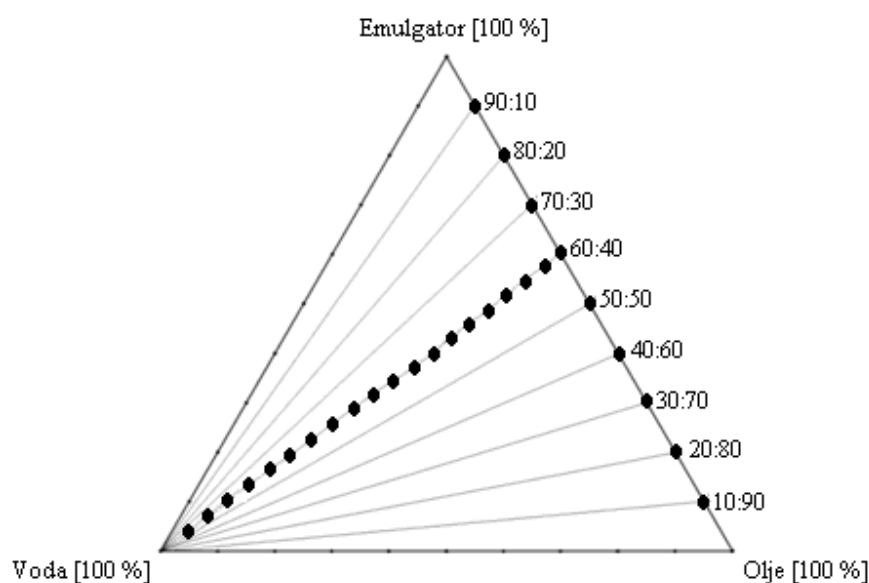
## 5.2. METODE

### 5.2.1. Izdelava (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama

(Psevdo)trikomponentni fazni diagram smo izdelali z metodo titracije, kar pomeni, da S(M)ES z znano začetno količino emulgatorja in oljne faze postopoma dodajamo vodo. Prednost uporabljenega postopka je predvsem v manjši porabi surovin in hitrejšem času izdelave (30). Kot oljno fazo smo uporabili srednjedolgoverižna lipida Captex<sup>®</sup> 355 in Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2, kot vodno fazo bidestilirano vodo, kot emulgatorje pa Labrasol<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup> 20 ali Cremophor<sup>®</sup> EL oz. kombinacijo emulgatorja Tween<sup>®</sup> 20 in ko-emulgatorja (Cremophor<sup>®</sup> RH 40, Solutol<sup>®</sup> HS-15, Capryol<sup>™</sup> 90, lecitin) v razmerju 1:1.

V stekleno čašo smo na analitski tehtnici (Exacta 2200EB, Tehtnica Slovenija) natehtali oljno fazo in emulgator oz. zmes emulgatorjev v določenem razmerju (10/90; 20/80; 30/70; 40/60; 50/50; 60/40; 70/30; 80/20; 90/10). Čašo smo postavili na magnetno mešalo, da je nastal homogen S(M)ES, ki smo ga nato prestavili na vodno kopel (25°C). Med neprestanim mešanjem smo nato postopoma v količinah po 5% dodajali bidestilirano vodo. Po vsakem dodatku vode smo nastali sistem organoleptično ovrednotili (bistrost, homogenost) ter določili tip nastalega sistema s pomočjo kobaltovega papirčka in z določanjem specifične električne prevodnosti.

S postopnim dodajanjem vode izbranemu izhodiščnemu S(M)ES smo na posamezni razredčitveni premici pripravili 19 sistemov; skupno smo pripravili devet razredčitvenih premic, ki pokrivajo celoten (psevdo)trikomponentni fazni diagram (Slika 8).



*Slika 8: Razredčitvene premice (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama.*

### 5.2.2. Določanje specifične električne prevodnosti

Med izdelavo (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama smo vsem S(M)ES in iz njih nastalim sistemom po dodatku vode določili specifično električno prevodnost. V primeru

nastanka zelo viskoznih sistemov, kot so poltrdni geli, le-te ni bilo mogoče določiti. Meritve smo izvajali s konduktometrom Iskra Conductivity meter MA 5964 (Iskra, Ljubljana) pri temperaturi 25°C.

Elektrokemijska metoda, s katero določamo prevodnost sistemov se imenuje konduktometrija. Tekočine prevajajo električni tok zaradi premikanja nabitih molekul v električnem polju proti anodi oz. katodi. Medtem ko raztopine elektrolitov dobro prevajajo električni tok zaradi prostih ionov, so nenabite lipofilne spojine slab prevodnik.

Daljša dolžina in manjša površina prevodnika inducirata povečanje upornosti le-tega, kar je razvidno iz enačbe 5. Upornost med nasprotnima ploščicama 1 cm<sup>3</sup> istega prevodnika imenujemo specifična upornost.

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (\text{enačba 5})$$

R.....upornost prevodnika ( $\Omega$ )  
 l.....dolžina prevodnika (cm)  
 A.....površina prevodnika (cm<sup>2</sup>)  
 $\rho$ .....specifična upornost ( $\Omega\text{cm}$ )

Prevodnost C izraža recipročno vrednost upornosti prevodnika in je izražena v enotah ohm<sup>-1</sup> ( $\Omega^{-1}$ ).

$$C = \frac{1}{R} = \frac{A}{\rho l} \quad (\text{enačba 6})$$

Prevodnost opisuje s kakšno lahkoto teče tok skozi prevodnik. Recipročno vrednost specifični upornosti predstavlja specifična prevodnost  $\kappa$ , ki je izražena v  $\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$  oz. v  $\mu\text{Scm}^{-1}$  ( $1\mu\text{Scm}^{-1} = 10^{-6} \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) in predstavlja prevodnost 1 cm<sup>3</sup> raztopine.

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \quad (\text{enačba 7})$$

Iz enačbe 6 in 7 lahko izpeljemo povezavo med specifično prevodnostjo in prevodnostjo oz. upornostjo, ki jo prikazuje enačba 8.

$$\kappa = C \frac{1}{A} = \frac{1}{R} \frac{1}{A} \quad (\text{enačba 8})$$

Če poznamo razmerje  $l/A$  oz. konstanto celice ( $K$ ), lahko enačbo za izračun specifične prevodnosti zapišemo kot:

$$\kappa = KC = \frac{K}{R} \quad (\text{enačba 9})$$

Z uporabo standardne raztopine KCl lahko eksperimentalno izmerimo konstanto celice. Standardna raztopina KCl ima natančno določeno specifično prevodnost in če ji izmerimo upornost, lahko iz enačbe 9 izračunamo konstanto celice, ki je v našem primeru znašala  $0,7265 \text{ cm}^{-1}$  (12).

### **5.2.3. Določanje solubilizacijske kapacitete izbranih SMES za modelne učinkovine**

Solubilizacijsko kapaciteto izbranih SMES za modelne zdravilne učinkovine (NDS 1, 2 in 8) smo določili tako, da smo k posameznim SMES dodali prebitek zdravilne učinkovine ter jih 48 h mešali pri sobni temperaturi. Vzorce smo nato pustili mirovati 24 h. Supernatant smo nato prelili v centrifugirke (SARSTEDT AG&Co., Nemčija) in jih 20 minut centrifugirali pri 20.000 obratih na minuto pri  $23^{\circ}\text{C}$  (Centrifuga: SIGMA 3K30, Donau lab LJ). 100  $\mu\text{l}$  supernatanta smo nato točno zatehtali v 10 ml merilno bučko in ga ustrezno redčili s 70%



etanolom. V kolikor je nastala motna raztopina, smo jo pred analizo filtrirali skozi 0.45 $\mu$ m RC membranski filter. Koncentracijo posamezne zdravilne učinkovine v izbranih SMES smo določili s HPLC-analizo (HPLC Agilent 1100 Series; Chemass, ZDA). Rezultati določitve solubilizacijske kapacitete SMES so povprečje dveh paralelek in so podani kot mg zdravilne učinkovine, ki se raztopi v 100 mg izbranega SMES. Sestava izbranih SMES je opisana v preglednici IV.

*Preglednica IV: Sestava izbranih SMES, v katerih smo določili kapaciteto solubilizacije za učinkovine NDS 1, NDS 2 in NDS 8.*

SMES	SESTAVA EMULGATORSKE FAZE	SESTAVA OLJNE FAZE	RAZMERJE MED EMULGATORSKO IN OLJNO FAZO
1	Tween <sup>®</sup> 20	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	60:40
2	Tween <sup>®</sup> 20	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	80:20
3	Tween <sup>®</sup> 20	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	40:60
4	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Cremophor <sup>®</sup> RH 40 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	60:40
5	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Cremophor <sup>®</sup> RH 40 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	80:20
6	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Cremophor <sup>®</sup> RH 40 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	40:60
7	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Solutol <sup>®</sup> HS-15 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	60:40
8	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Solutol <sup>®</sup> HS-15 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	80:20
9	Tween <sup>®</sup> 20 (1/2), Solutol <sup>®</sup> HS-15 (1/2)	Captex <sup>®</sup> 355 (1/3), Capmul <sup>®</sup> MCM (2/3)	40:60

Raztopine standardov smo pripravili tako, da smo v 100 ml merilno bučko zatehtali približno 10-25 mg zdravilne učinkovine ter bučko dopolnili do oznake s 70% etanolom. V primeru slabe topnosti učinkovine smo bučko vstavili v ultrazvočno kadičko (Sonis pio 4, Iskra). Tako pripravljene standarde učinkovin smo nato še dodatno redčili s 70% etanolom (1 ml oz. 3 ml na 10 ml).

Rezultate smo ovrednotili na podlagi dobljenih površin pod krivuljo (AUC) in koncentracij standardnih raztopin. Pri izračunu smo upoštevali tudi faktor redčenja, ki je znašal 10.

#### **5.2.4. HPLC analitika**

Visokotlačna tekočinska kromatografija (HPLC; angl.: High performance liquid chromatography) je primerna za identifikacijo in kvantitativno določanje spojin v zmesi. Omogoča, da se komponente vzorca ločijo na osnovi različne hitrosti potovanja skozi kolono, kjer iz mobilne faze stopajo v interakcije s stacionarno fazo (31).

#### **Modelna učinkovina NDS 1**

Kromatografski pogoji:

- Kolona: C18; 3  $\mu$ m; 150 x 4,6 mm
- Mobilna faza: pufer (pH=2,5) / acetonitril = 360 / 640 (v/v)
- Pretok: 1,5 ml/min
- Temperatura kolone: 40°C
- Detekcija: 254 nm
- Volumen injiciranja: 20  $\mu$ l
- Vrsta analize: izokratska HPLC določitev z metodo eksternega standarda

Raztopine:

- Pufer (pH= 2,5 $\pm$ 0,1): 1,2g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / 1000 ml vode; uravnavanje pH s H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

**Modelna učinkovina NDS 2**

Kromatografski pogoji:

- Kolona: C18; 3,5  $\mu\text{m}$ ; 150 x 4,6 mm
- Mobilna faza A: pufer (pH=2,5)
- Mobilna faza B: acetonitril
- Pretok: 1,5 ml/min
- Temperatura kolone: 30°C
- Detekcija: 233 nm
- Volumen injiciranja: 20  $\mu\text{l}$
- Vrsta analize: gradientna HPLC določitev z metodo eksternega standarda
- Gradient:

<b>t (min)</b>	<b>% MF A</b>	<b>% MF B</b>
0	55	45
15	35	65
16	55	45

Raztopine:

- Pufer (pH= 2,5 $\pm$ 0,1): 1,2g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / 1000 ml vode; uravnavanje pH s H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

**Modelna učinkovina NDS 8**

Kromatografski pogoji:

- Kolona: C18; 3,5  $\mu\text{m}$ ; 100 x 4,6 mm
- Mobilna faza A: 10 mM trietanolamin (pH=9,0) / acetonitril = 900 / 100 (v/v)
- Mobilna faza B: 10 mM trietanolamin (pH=9,0) / acetonitril = 100 / 900 (v/v)
- Pretok: 2 ml/min
- Temperatura kolone: 30°C
- Detekcija: 283 nm

- Volumen injiciranja: 10  $\mu$ l
- Vrsta analize: gradientna HPLC določitev z metodo eksternega standarda
  
- Gradient:

t (min)	% MF A	% MF B
0	80	20
10	80	20
22	0	100
25	0	100

### 5.2.5. Določanje velikosti kapljic iz SMES nastalih mikroemulzij

Izbrane SMES, ki so tvorili mikroemulzije v največjem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama, smo redčili (1 g SMES/250 ml) s prečiščeno vodo po naslednjem postopku: v 50 ml bučko smo ročno zatehtali približno 200 mg SMES in ga redčili do oznake s prečiščeno vodo ter bučko temeljito pretresli. Približno 1 ml vzorca smo nato prenesli v polistirenske kivete (SARSTEDT AG&Co., Nemčija), ki smo jih nato vstavili v Zetasizer Nano (Malvern). Velikost kapljic nastalih mikroemulzij smo določili s pomočjo fotonske korelacijske spektroskopije pri temperaturi 25°C.

Zetasizer Nano deluje na principu fotonske korelacijske spektroskopije. Ta metoda omogoča merjenje velikosti delcev v razponu od nekaj nm do nekaj  $\mu$ m. Zaradi Brownovega gibanja delcev pride do fluktuacije intenzitete sipane laserske svetlobe, ki jo merimo. To gibanje je naključno in je posledica trkov delcev z molekulami disperznega medija, prav zaradi tega pa je omejena zgornja meja velikosti delcev s sedimentacijo le-teh, le-ta pa je odvisna od velikosti in od gostote delcev. Majhni delci povzročajo hitrejše fluktuacije v intenziteti sipane svetlobe, ker difundirajo hitreje kot veliki delci.

Vzorec v temperaturno standardizirani celici osvetlimo s fokusiranim laserskim žarkom. Z lečo zberemo od delcev sipano svetlobo in s fotopomnoževalko ojačamo signal. Iz

fotopomnoževalke se signal prenese na korelator, kjer se izračuna korelacijska funkcija, ki izraža stopnjo korelacije signala v dveh trenutkih ločenih s časom  $t$  in je merilo za hitrost spreminjanja intenzitete sipane svetlobe s časom (Enačba 10).

$$G(\tau) = e^{-2Dtk^2} \quad (\text{enačba 10})$$

$G(\tau)$ .....korelacijska funkcija

$\tau$ .....korelacijski čas

$D$ .....difuzijski koeficient

$k$ .....vektor sipanja

Vektor sipanja je odvisen od lomnega količnika medija, valovne dolžine laserske svetlobe in kota sipanja svetlobe. Prenos korelacijske funkcije v mikroprocesor omogoči izračun difuzijskega koeficienta, ki korelira s povprečno velikostjo delcev. S pomočjo Stokes-Einsteinove enačbe lahko iz difuzijskega koeficienta izračunamo difuzijski sferični premer (Enačba 11).

$$d = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (\text{enačba 11})$$

$d$ .....ekvivalentni difuzijski sferični premer (nm)

$D$ .....difuzijski koeficient

$k$ .....Boltzmanova konstanta ( $1,38 \times 10^{-23}$  J/K)

$T$ .....temperatura vzorca (K)

$\eta$ .....viskoznost medija

Pri merjenju velikosti kapljic z napravo Zetasizer Nano, dobimo kot končni podatek na zaslonu povprečni premer delcev oz. kapljic in širino porazdelitve velikosti le-teh. Polidisperzni indeks (PI), ki je merilo za širino porazdelitve delcev, lahko zavzema vrednost od 0 do 1. Bližje so vrednosti PI 0, bolj je distribucija monodisperzna. Medtem ko je zgornja meja velikosti delcev, ki jo lahko določimo z uporabo fotonske korelacijske spektroskopije

odvisna od začetka sedimentacije delcev, je spodnja meja odvisna od čistosti vzorca. Problem lahko predstavljajo prašni delci, ki so ponavadi večji od delcev vzorca in sipajo več svetlobe in tako lahko signal prašnih delcev preseže signal vzorca. Pomembna je tudi koncentracija vzorca. Prenizka koncentracija lahko zmanjša statično zanesljivost rezultatov, previsoka pa povzroči večkratno sipanje svetlobe in ovira Brownovo gibanje delcev (32).

### **5.2.6. Priprava vzorcev za stabilnostne študije**

V izbrane SMES, ki so v predhodno izvedenih študijah izkazovali največjo solubilizacijsko kapaciteto, smo zatehtali toliko modelne zdravilne učinkovine, da je bila koncentracija tako pripravljenih vzorcev enaka 80% kapacitete solubilizacije za posamezno zdravilno učinkovino. Tako pripravljene vzorce smo starali 1 mesec pri sobni temperaturi in pri povišani temperaturi (40°C).

Vsebnost zdravilne učinkovine v posameznem SMES smo določali ob času 0 (takoj po pripravi vzorcev pri sobni temperaturi) ter po 1 mesecu stabilnostnih študij. Pred HPLC analizo smo 100 µl vzorca točno zatehtali v 10 ml merilno bučko in ga ustrezno redčili s 70% etanolom. Rezultati določanja vsebnosti zdravilne učinkovine so povprečje dveh paralelk in so podani kot mg zdravilne učinkovine na 100 mg SMES oz. kot % vsebnosti zdravilne učinkovine glede na čas 0 (vsebnost ob času 0 je 100%).

## 6. REZULTATI IN RAZPRAVA

### 6.1. IZDELAVA (PSEVDO)TRIKOMPONENTNIH FAZNIH DIAGRAMOV

#### 6.1.1. (Psevdo)trikomponentni fazni diagrami s hidrofilnimi emulgatorji

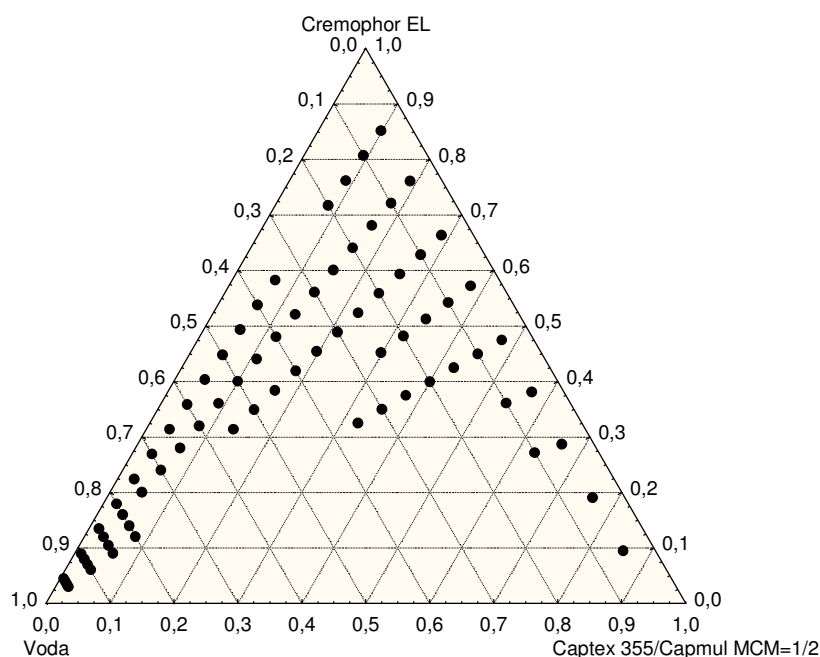
Pri razvoju SMES smo pri vseh izbranih sistemih kot oljno fazo uporabili srednjedolgoverižna lipida Captex<sup>®</sup> 355 in Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2, izbor emulgatorjev pa smo prilagajali od sistema do sistema. Sdv-TG imajo GRAS status in so kot takšni varni za uporabo. V primerjavi z dv-TG imajo sdv-TG običajno boljšo sposobnost samo-emulgiranja in večjo solubilizacijsko kapaciteto za zdravilne učinkovine z log P=2-4. Zaradi odsotnosti dvojnih vezi so tudi kemijsko bolj stabilni (1).

Za hiter nastanek mikroemulzij tipa O/V je potrebno, da ima izbrani emulgator visoko vrednost HLB, saj so le tako dosežene dobre samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti izbranega sistema v vodnem mediju (5). V diplomski nalogi smo najprej ovrednotili vpliv emulgatorjev Tween<sup>®</sup> 20, Cremophor<sup>®</sup> EL in Labrasol<sup>®</sup> na sposobnost samo-mikroemulgiranja oz. nastanek mikroemulzij iz SMES z opisano oljno fazo (Slika 9-11).

Iz slike 9 je razvidno, da pri visoki koncentraciji emulgatorja Cremophor<sup>®</sup> EL (90, 80 in 70%) iz S(M)ES nastanejo mikroemulzije vzdolž po skoraj celotnih razredčitvenih premicah, pri nižjih koncentracijah emulgatorja pa se prednostno tvorijo emulzije oz. nastanejo mikroemulzije le pri zelo nizkih redčitvah S(M)ES z bidestilirano vodo (5-10%). Točke v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu prikazujejo področje nastanka mikroemulzij. Pomembno je omeniti, da smo pri izdelavi (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama za izbrano kombinacijo komponent opazili tudi nastanek poltrdne oz. gelske strukture. Le ta se je pojavila pri koncentracijah emulgatorja med 90 in 60% ter deležu bidestilirane vode med 25 oz. 35 in 55%. Spontana tvorba gela pri višjih koncentracijah emulgatorja lahko predstavlja tudi prednost, saj so takšni sistemi poleg peroralne zelo primerni tudi za dermalno uporabo.

Po literarnih podatkih so z uporabo SMES s Cremophor<sup>®</sup>-jem EL že izboljšali biološko uporabnost halofantrina (antimalarik) in paklitaksela (citostatik) (5).

V sisteme osnovane na srednjedolgoverižnih lipidih (Miglyol<sup>®</sup> 812, sdv-TG; Imwitor<sup>®</sup> 988) so vgradili tudi fenofibrat in proučevali precipitacijo le-tega iz lipidnega sistema, ki je bila zanemarljiva v primerjavi s precipitacijo iz hidrofilnega sistema (33).

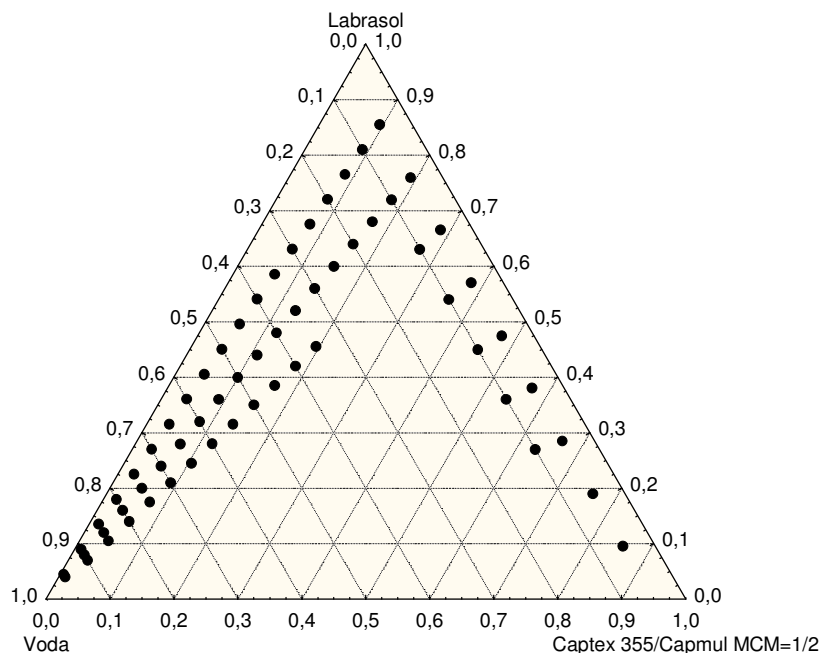


**Slika 9:** (Psevdo)trikomponentni fazni diagram z emulgatorjem Cremophor<sup>®</sup> EL in oljno fazo Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.

Na sliki 10 je prikazan (psevdo)trikomponentni fazni diagrama za sistem Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM=1:2/Labrasol<sup>®</sup>/voda. Iz slike je razvidno, da iz S(M)ES, ki kot emulgator vsebujejo Labrasol<sup>®</sup>, nastanejo mikroemulzije le pri visokih koncentracijah vsebnosti emulgatorja (70-90%), medtem ko smo pri S(M)ES s Cremophor<sup>®</sup>-jem EL nastanek le-teh opazili že pri koncentraciji emulgatorja okoli 50%. Labrasol<sup>®</sup> in Cremophor<sup>®</sup> EL imata podobno vrednost HLB (12-14), vendar se kemijsko razlikujeta. Labrasol<sup>®</sup> je zmes mono-, di- in trigliceridov kaprilne in kaprinske kisline ter estrov kaprilne in kaprinske kisline z makrogoli. Največji delež Cremophor<sup>®</sup>-ja EL predstavlja hidrofobni del oz. glicerol polietilenglikol ricinooleat, hidrofilni del pa sestavljajo prosti etilenglikoli in glicerol etoksilat.

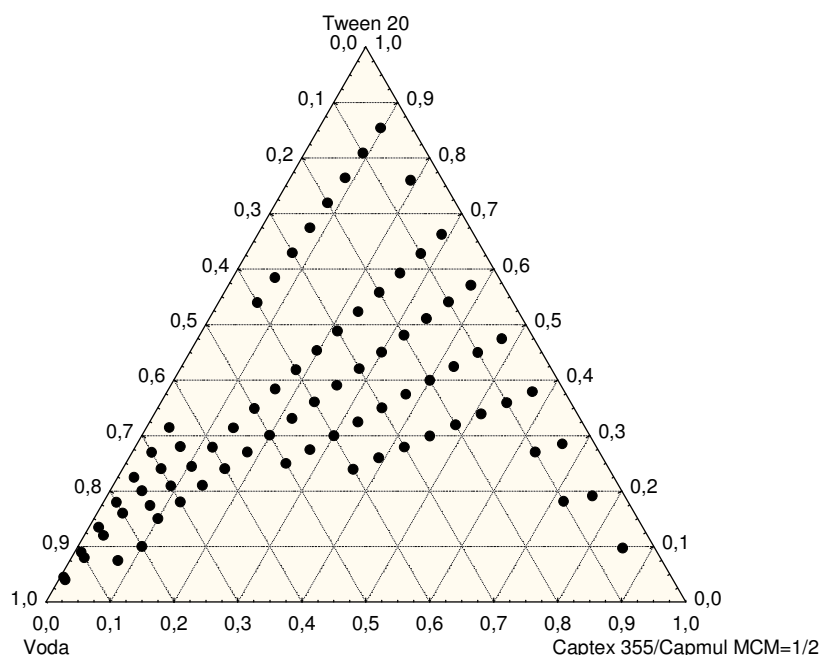


V SES osnovanih na lipidih so z uporabo emulgatorja Labrasol<sup>®</sup> povečali biološko uporabnost koencima Q<sub>10</sub> v primerjavi s praškasto obliko le-tega (34).



*Slika 10: (Psevdo)trikomponentni fazni diagram z emulgatorjem Labrasol<sup>®</sup> in oljno fazo Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*

Slika 11 prikazuje (psevdo)trikomponentni fazni diagram za sistem, pri katerem smo kot emulgator uporabili Tween<sup>®</sup> 20. Opazimo lahko, da je območje nastanka mikroemulzij iz SMES zelo široko, mikroemulzije pa nastanejo že po redčenju SMES z nizko vsebnostjo emulgatorja, kar je za peroralno uporabo zelo ugodno. Vsi emulgatorji so namreč potencialno toksični in povzročajo draženje, zato je nižja koncentracija Tween<sup>®</sup>-a 20 v SMES bolj sprejemljiva za organizem kot višje koncentracije Labrasol<sup>®</sup>-a oz. Cremophor<sup>®</sup>-ja EL. V primerjavi s slednjima ima Tween<sup>®</sup> 20 višjo vrednost HLB (16.7), po literarnih podatkih pa se je že izkazal učinkovit za povečanje biološke uporabnosti silimarina (35).



*Slika 11: (Psevdo)trikomponentni fazni diagram z emulgatorjem Tween<sup>®</sup> 20 in oljno fazo Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*

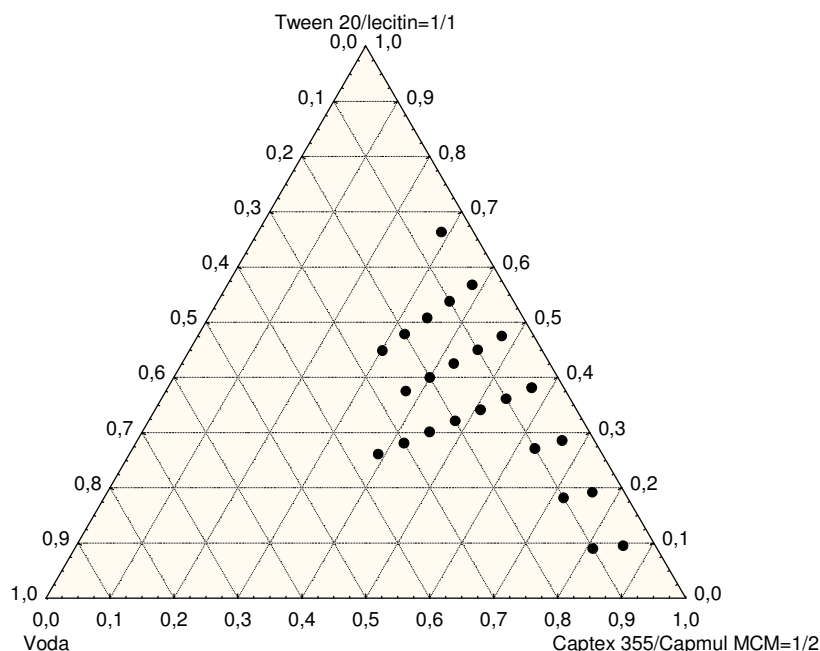
Na osnovi velikosti področja, v katerem po redčenju SMES nastanejo mikroemulzije ter vsebnosti emulgatorja v SMES, ki omogoča spontano tvorbo mikroemulzij, smo kot najboljši emulgator izbrali Tween<sup>®</sup> 20. Medtem ko S(M)ES z Labrasol<sup>®</sup>-om in Cremophor<sup>®</sup>-jem EL tvorijo mikroemulzije predvsem pri vsebnosti emulgatorja med 60-90%, nastanejo le-te tudi pri redčenju SMES z le 20% Tween<sup>®</sup>-a 20. Prisotnost slednjega omogoča tudi nastanek stabilnih mikroemulzij z visokim deležem vodne faze (do 95%) v SMES z 90 oz. 80% emulgatorja. Z namenom, da bi iz S(M)ES s Tween<sup>®</sup>-om 20 področje nastanka mikroemulzij še razširili, smo v nadaljevanju v izbrane sisteme dodali še različne ko-emulgatorje.

### 6.1.2. Vpliv ko-emulgatorjev na nastanek mikroemulzij

Medfazni film, ki stabilizira mikroemulzije, lahko sestavljajo molekule enega ali dveh emulgatorjev. Emulgator in ko-emulgator imata sinergistično delovanje in zaradi tega se medfazna napetost med oljno in vodno fazo zelo zniža. Tak učinek je željen, saj mora biti

prosta energija sistema za spontan nastanek termodinamsko stabilne mikroemulzije negativna oz. okoli nič (4).

SMES z oljno fazo Captex® 355/Capmul® MCM=1:2 in s Tween®-om 20 kot emulgatorjem, ki je omogočal nastanek mikroemulzij v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama, smo tako dodali različne ko-emulgatorje (Cremophor® RH 40, Solutol® HS-15, Capryol™ 90, lecitin) v razmerju emulgator/ko-emulgator=1:1. Vpliv dodatka le-teh na področje nastanka mikroemulzij v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu je prikazan na slikah 12-15.

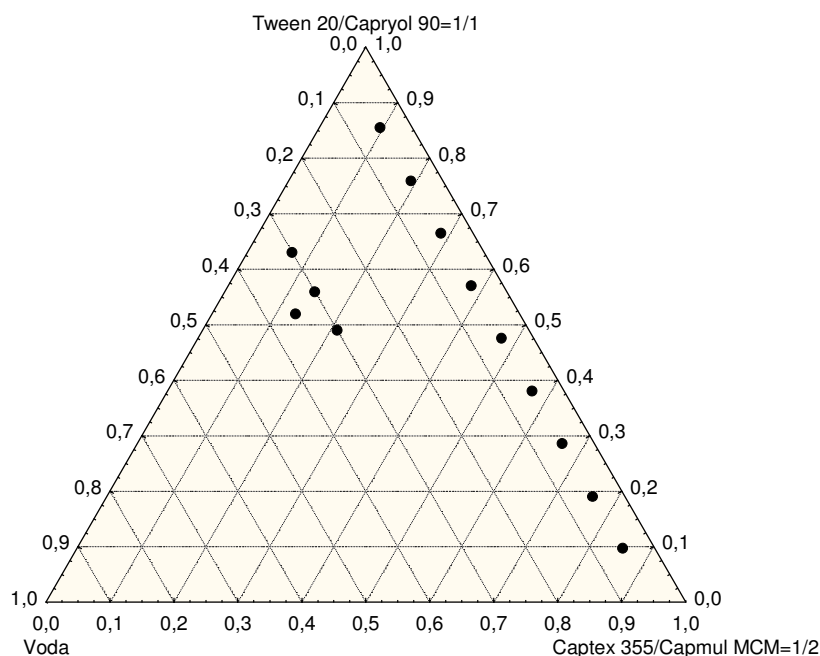


**Slika 12:** Vpliv ko-emulgatorja lecitina na nastanek mikroemulzij v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu.

*Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*

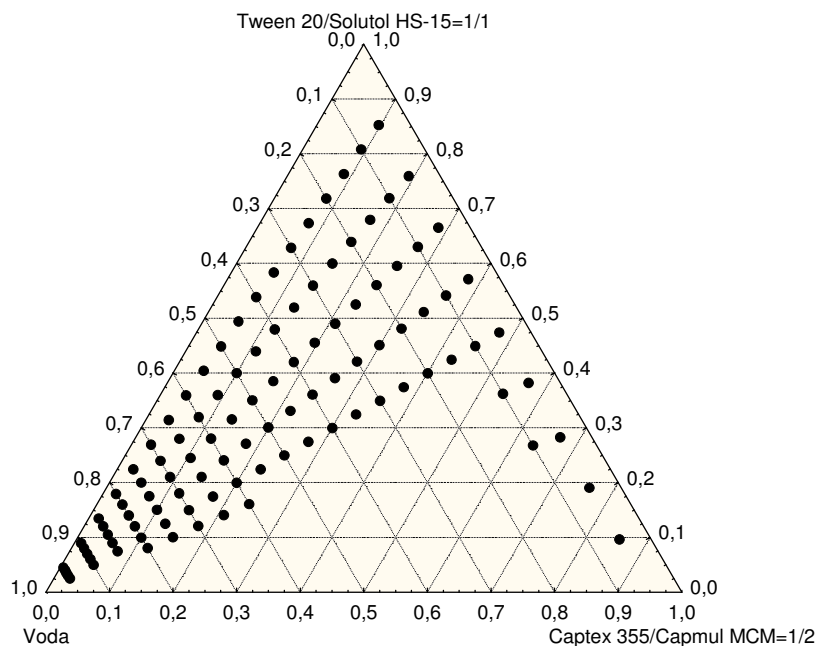
Po literarnih podatkih se kot ko-emulgatorji uporabljajo PAS, ki imajo nižjo vrednost HLB kot emulgatorji. Vrednost HLB sojinega lecitina je 7, Capryol™-a 90 pa 6, kar ju uvršča med amfifilne molekule s prevladujočimi hidrofobnimi lastnostmi. HLB emulgatorja Tween® 20 je 16.7 (36). Iz slike 12 je razvidno, da dodatek ko-emulgatorja lecitina ni izkazoval ugodnega učinka na področje nastanka mikroemulzij po redčenju S(M)ES. V primerjavi z osnovnim sistemom, ki je kot emulgator vključeval samo Tween® 20, se je le-to celo zmanjšalo.

Podoben učinek smo opazili pri kombiniranju Tween<sup>®</sup>-a 20 s ko-emulgatorjem Capryol<sup>™</sup> 90 (Slika 13). V tem primeru se je področje nastanka mikroemulzij drastično zožilo.

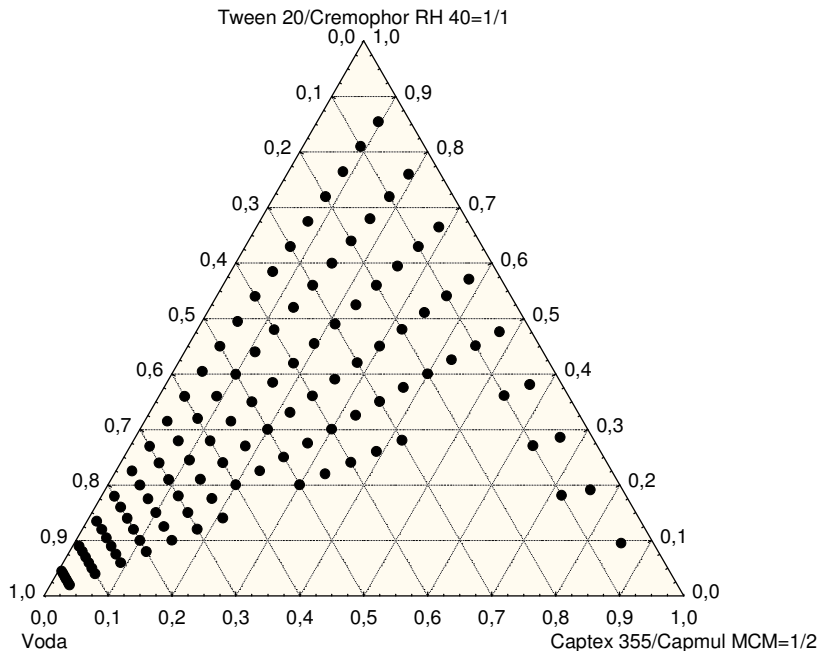


*Slika 13: Vpliv ko-emulgatorja Capryol<sup>™</sup>-a 90 na nastanek mikroemulzij v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*

Nasprotno pa se je območje nastanka mikroemulzij močno povečalo, ko smo osnovnemu sistemu z emulgatorjem Tween<sup>®</sup> 20 dodali ko-emulgator Solutol<sup>®</sup> HS-15 (Slika 14) oz. Cremophor<sup>®</sup> RH 40 (Slika 15). Slednja imata vrednost HLB med 14 in 16 in ju uvrščamo med amfifilne molekule s prevladujočimi hidrofilnimi lastnostmi. V prisotnosti tako Solutol<sup>®</sup>-a HS-15 kot Cremophor<sup>®</sup>-ja RH 40 nastanejo mikroemulzije tudi po popolnem redčenju začetnih SMES, ki vsebujejo med 50-90% emulgatorske zmesi, z vodno fazo. Prav tako so mikroemulzije nastale tudi na razredčitveni premici S(M)ES, ki je vseboval 40% emulgatorske zmesi, kar je zelo ugodno, saj želimo za peroralno uporabo doseči tvorbo mikroemulzij pri čim nižji koncentraciji emulgatorjev.



*Slika 14: Vpliv ko-emulgatorja Solutol®-a HS-15 na nastanek mikroemulzij v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*



*Slika 15: Vpliv ko-emulgatorja Cremophor®-ja RH 40 na nastanek mikroemulzij v (psevdo)trikomponentnem faznem diagramu. Točke predstavljajo nastanek mikroemulzij.*

Iz (psevdo)trikomponentnih faznih diagramov (Slike 12-15) je razvidno, da nastanek mikroemulzij v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega diagrama in pri najvišji razredčitvi z vodno fazo omogoča uporaba kombinacije emulgatorja Tween<sup>®</sup> 20 s ko-emulgatorjem Solutol<sup>®</sup> HS-15 oz. Cremophor<sup>®</sup> RH 40.

## 6.2. DOLOČANJE TIPA NASTALIH (MIKRO)EMULZIJ (O/V ALI V/O)

Zunanjo fazo (olje oz. voda) in s tem tip (V/O oz. O/V) iz S(M)ES nastalih (mikro)emulzij smo določali s pomočjo spremljanja specifične električne prevodnosti nastalih sistemov ter barve kobaltovih papirčkov. Olje je slab prevodnik električnega toka, zato za sisteme z nizko specifično električno prevodnostjo predvidevamo, da so to (mikro)emulzije tipa V/O. Ko začne voda iz notranje faze prehajati v zunanjo, specifična električna prevodnost sistema naraste. Pojav hitrega povečanja specifične električne prevodnosti imenujemo perkolacija. Delež vode pri katerem začne prevodnost sistema hitro naraščati, pa perkolacijski prag. V tem vmesnem perkolativnem stanju mikroemulzij se vodne kapljice povežejo v vodne kanale (bikontinuirano področje), nastanek katerih povzroči hiter dvig specifične električne prevodnosti sistema. Z naraščanjem deleža vodne faze narašča tudi specifična električna prevodnost sistema, dokler le-ta ne doseže maksimuma, nato se prevodnost mikroemulzij nekoliko zniža, kar po literarnih podatkih sovpada s prehodom bikontinuiranega tipa mikroemulzij v mikroemulzije tipa O/V (37).

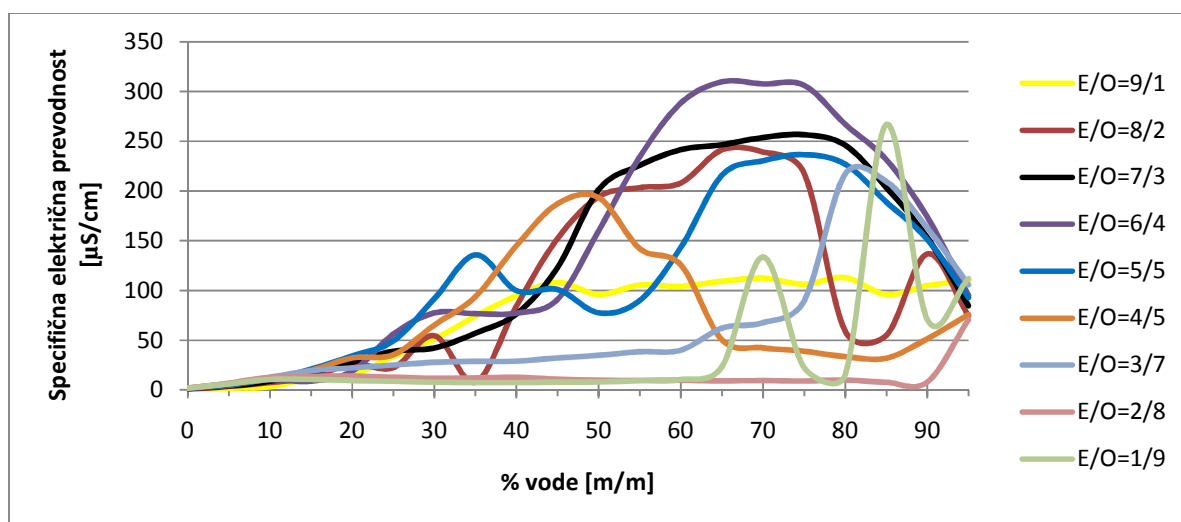
Določanje tipa (mikro)emulzij s kobaltovim papirčkom temelji na spremembi barve le-tega, ki je posledica kemične reakcije prehoda  $\text{CoCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , ki je modre barve, v roza  $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ . Tako (mikro)emulzije tipa O/V in bikontinuirani sistemi obarvajo kobaltov papirček roza, pri sistemih s kontinuirano oljno fazo (mikroemulzije tipa V/O) pa ostane kobaltov papirček modre barve.

Vpliv naraščanja deleža vodne faze na specifično električno prevodnost sistemov je prikazan na slikah od 16 do 22. Sestava izhodiščnih S(M)ES, ki so se razlikovali v razmerju oljna

faza/emulgatorska zmes, pa je prikazana v preglednici V. Medtem ko so emulgatorji oz. ko-emulgatorji za vsak sistem specifični, je oljna faza povsod konstantna (Captex® 355 in Capmul® MCM; 1:2). Preglednica V velja za slike od 16 do 22. Sestava, barva kobaltovega papirčka, specifična električna prevodnost in organoleptične lastnosti vseh izdelanih sistemov so opisane v preglednicah VIII do XIV (priloga).

*Preglednica V: Razmerje med PAS in oljno fazo v izhodiščnih S(M)ES.*

S(M)ES	Delež emulgatorja (in ko-emulgatorja) (%)	Delež oljne faze (%)
1	90	10
2	80	20
3	70	30
4	60	40
5	50	50
6	40	60
7	30	70
8	20	80
9	10	90



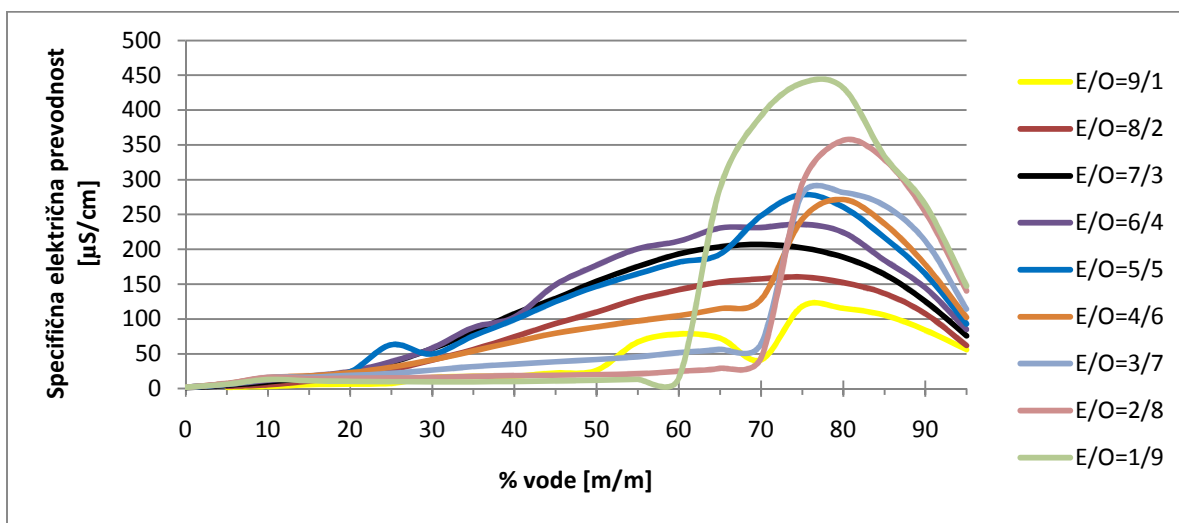
*Slika 16: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Cremophor® EL od deleža vode.*

Iz slike 16 je razvidno, da imajo sistemi s Cremophor<sup>®</sup>-jem EL pri deležu vode pod 10 oz. 20% zelo nizko specifično električno prevodnost. Sklepamo, da so v tem področju nastale mikroemulzije tipa V/O, kar smo potrdili tudi s kobaltovim papirčkom. Le-ta se je pri S(M)ES 1, 2 in 3 obarval roza pri sistemih z deležem vode 20%. Pri S(M)ES 4 in 5, se je papirček obarval roza pri deležu vode 15%, pri S(M)ES 6 do 9 pa pri 10%. Sprememba modre barve kobaltovih papirčkov v roza sovпада z začetkom naraščanja specifične električne prevodnosti teh sistemov. Porast specifične električne prevodnosti in roza obarvanje kobaltovega papirčka najverjetneje nakazuje na vmesen nastanek bikontinuiranih struktur. Ob nadaljnjem redčenju le-te preidejo v mikroemulzije tipa O/V, kar se odraža v pojavu platoja oz. padcem specifične električne prevodnosti sistemov in roza obarvanjem kobaltovega papirčka.

Po redčenju S(M)ES s Cremophor<sup>®</sup>-jem EL smo pri določenem deležu vodne faze opazili tudi nastanek sistemov z gelsko strukturo, ki so zaradi visoke viskoznosti prav tako izkazovali nizko specifično električno prevodnost. Pri redčenju S(M)ES 5 je tako specifična električna prevodnost naraščala do 35% deleža vode (tekoč sistem), nakar je sistem prešel v gelsko strukturo, specifična električna prevodnost pa se je znižala (Preglednica VIII, priloga). Pri deležu vode nad 65% je ta sistem spet prešel v tekočo obliko, specifična električna prevodnost pa je narasla. Nastanek gelske strukture smo zasledili tudi pri S(M)ES 2, 6 in 8. Pri redčenju S(M)ES 9 smo pri določenem deležu vode opazili ločitev oljne in vodne faze, kar se prav tako odraža v krivulji specifične električne prevodnosti.

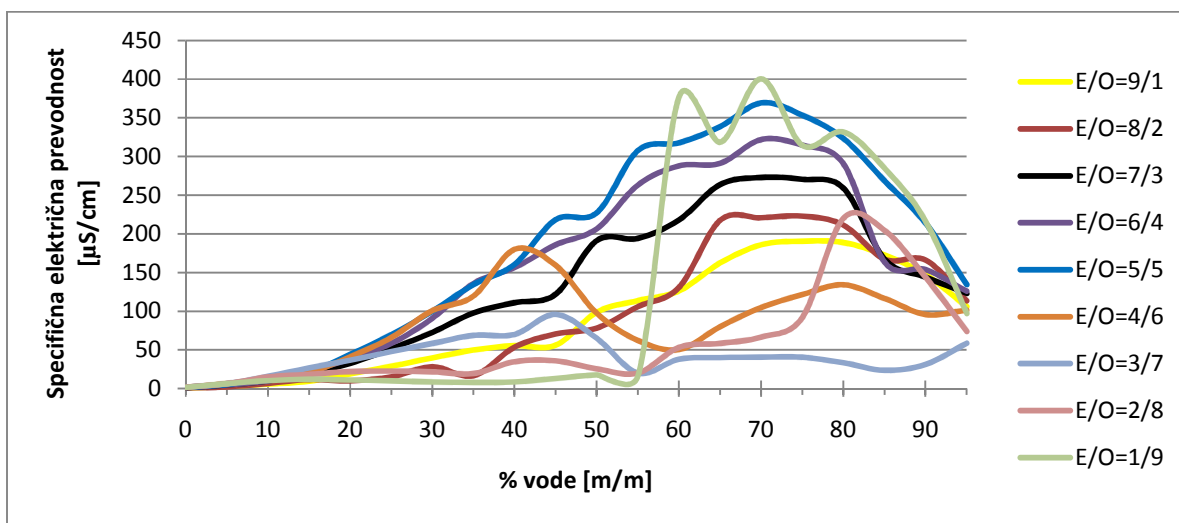
Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z Labrasol<sup>®</sup>-om kot emulgatorjem od deleža vodne faze je prikazana na sliki 17. Pri redčenju SMES 1 se je kobaltov papirček obarval roza pri 30% vode, pri S(M)ES 2, 3, 4, 5 in 7 pa pri 15% deležu vode v sistemu. Pri redčenju teh sistemov je specifična električna prevodnost začela naraščati pri nižjem deležu vodne faze kot pri SMES 1, kar verjetno nakazuje na hitrejši pojav bikontinuiranih struktur v omenjenih S(M)ES v primerjavi s SMES 1. Pri redčenju S(M)ES 6, 8 in 9 se je kobaltov papirček obarval roza pri sistemih z deležem vode nad 10 oz. 5%.





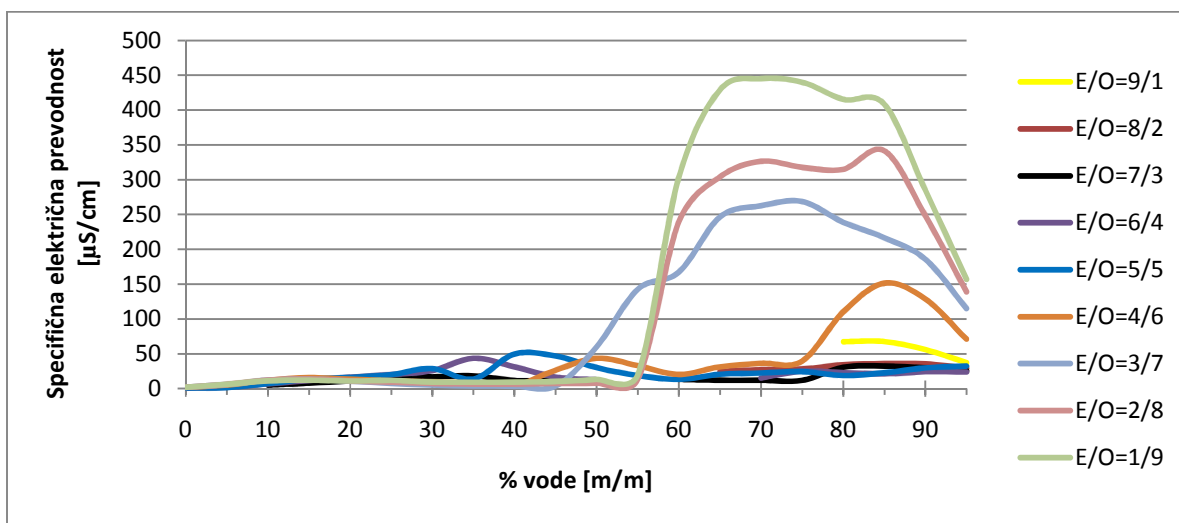
*Slika 17: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Labrasol<sup>®</sup> od deleža vode.*

Slika 18 prikazuje odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween<sup>®</sup> 20 od deleža vodne faze. Pri redčenju S(M)ES 1 oz. 2 smo spremembo barve kobaltovega papirčka opazili pri sistemih z deležem vode nad 25 oz. 30%. Pri S(M)ES 3 je roza obarvanje nastopilo pri 15 % vode, pri S(M)ES 4 pri 20 % ter pri S(M)ES 5 do 9 nad 5 oz. 10% vode v sistemu. Pri redčenju S(M)ES 6 in 7 smo opazili tudi nastanek gelske strukture pri deležu vode med 50 in 60%, kar je razvidno iz padca specifične električne prevodnosti. Rezultati spremljanja specifične električne prevodnosti med redčenjem S(M)ES 3 in 9 so nezanesljivi (nihanje specifične električne prevodnosti). Pri S(M)ES 3 je to posledica močnega penjenja sistema in posledičnega vpliva ujetega zraka na izmerjeno vrednost. Pri S(M)ES 9 pa smo opazili ločitev faz, kar prav tako vpliva na izmerjeno vrednost, saj je v tem primeru le-ta odvisna od področja, v katerem se nahaja elektroda (olja oz. voda).



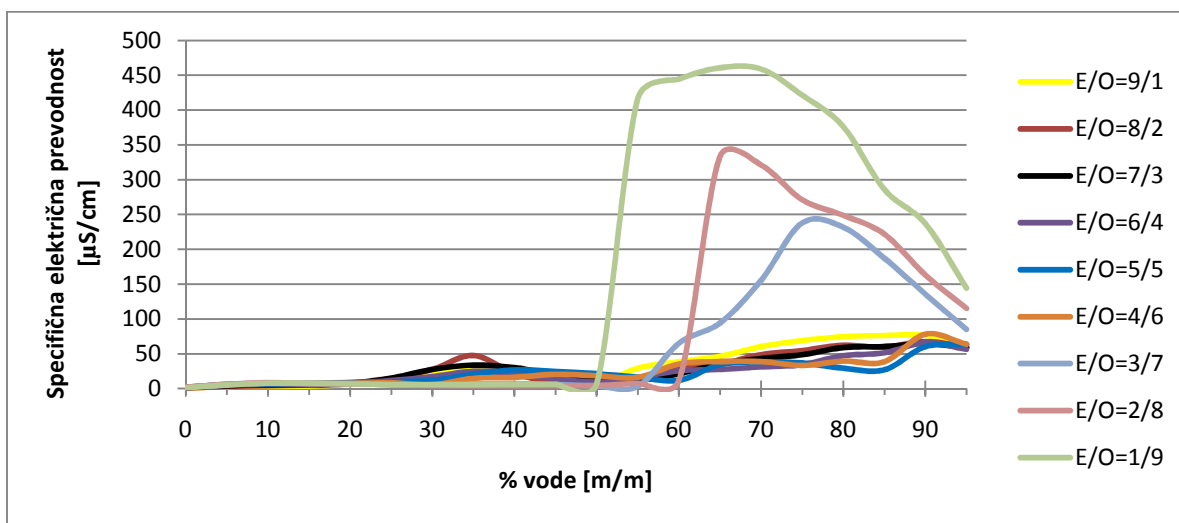
Slika 18: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween® 20 od deleža vode.

Področja nastanka mikroemulzij iz S(M)ES s Tween®-om 20 smo želeli razširiti z dodatkom ko-emulgatorja. Iz S(M)ES, ki so kot ko-emulgator vsebovali hidroforen lecitin, so po redčenju z vodno fazo v nekaterih točkah nastali zelo gosti sistemi, ki jim nismo mogli določiti specifične električne prevodnosti, kar je razvidno iz krivulje na sliki 19 (S(M)ES 1 do 4). Na sliki 19 (lecitin) in 20 (Capryol™ 90) lahko opazimo, da hiter oz. nenaden porast specifične električne prevodnosti sistemov, ki nastanejo z redčitvijo S(M)ES, nastopi kasneje kot pri sistemih z izključno hidrofilnimi emulgatorji. Sklepamo, da dodatek ko-emulgatorja lecitina oz. Capryol™-a 90 razširi območje nastanka (mikro)emulzij tipa V/O. Roza obarvanje kobaltovega papirčka se je pri samo-emulgirajočih sistemih (SES) z visoko vsebnostjo emulgatorske zmesi Tween® 20/lecitin=1:1, pojavilo pri 25% vode (SES 1) oz. pri 30% vode (SES 2). Pri ostalih sistemih z lecitinom (S(M)ES 3 do 9) je prišlo do spremembe barve nekoliko hitreje (10 do 15% vode), kar sovpada z rahlim dvigom specifične električne prevodnosti na sliki 19.



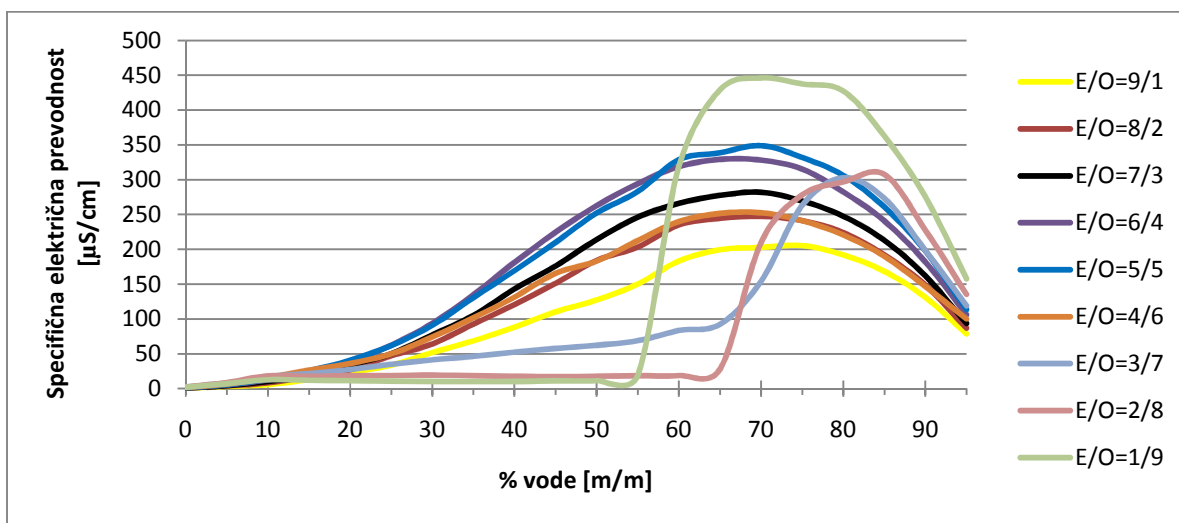
*Slika 19: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween® 20 in ko-emulgatorjem lecitin v razmerju 1:1 od deleža vode.*

Iz slike 20 je razvidno, da pri S(M)ES 7, 8 in 9 pride do prehoda (mikro)emulzij tipa V/O v bikontinuirane strukture in nadaljnje v emulzije tipa O/V. Kobaltov papirček se je pri vseh S(M)ES obarval roza že pri 5 oz. 10% vode v sistemu. Izjema je S(M)ES 4, pri katerem je roza obarvanje nastopilo pri 25% vode v sistemu. Glede na obarvanost kobaltovega papirčka lahko sklepamo, da so iz S(M)ES 1-6 po redčenju z vodno fazo nastale (mikro)emulzije tipa V/O oz. bikontinuirane strukture z visoko viskoznostjo, kar se odraža tudi v minimalni spremembi specifične električne prevodnosti teh sistemov. Pri sistemih s ko-emulgatorjem Capryol™ 90 smo opazili gelske strukture pri redčenju S(M)ES 1-6 z vodno fazo (Preglednica XII, priloga).



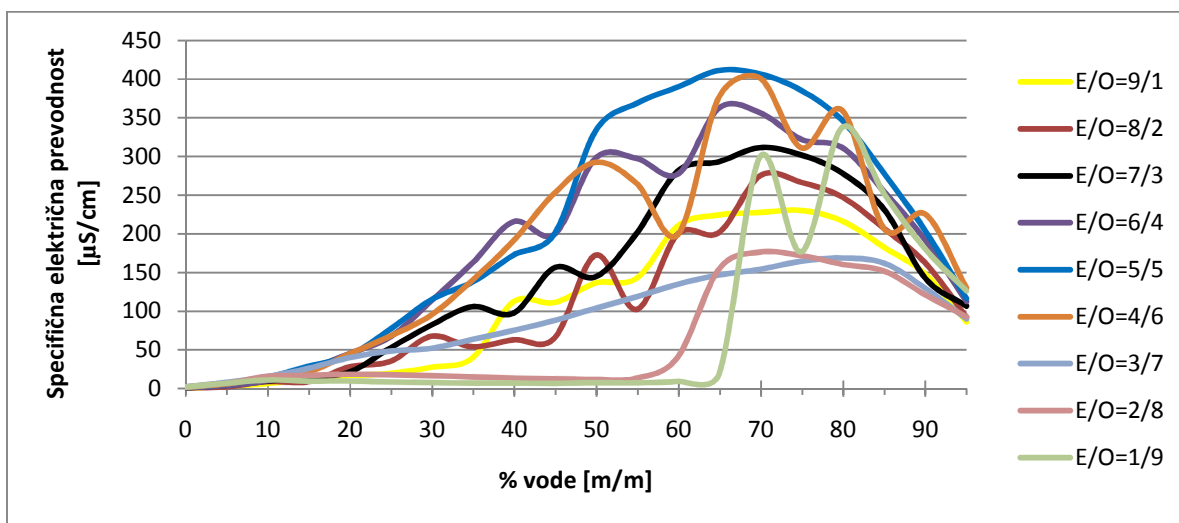
*Slika 20: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween® 20 in ko-emulgatorjem Capryol™ 90 v razmerju 1:1 od deleža vode.*

V nasprotju s sistemi s hidrofobnimi ko-emulgatorji, lahko pri sistemih z emulgatorjem Tween® 20 in hidrofilnim ko-emulgatorjem Solutol® HS-15 (Slika 21) oz. Cremophor® RH 40 (Slika 22) opazimo hitro naraščanje specifične električne prevodnosti že pri okrog 20% vode v sistemu (izjema sta S(M)ES 8 in 9). Pri razredčevanju sistemov s ko-emulgatorjem Solutol® HS-15 prav tako ni prihajalo do tvorbe poltrdnih gelskih struktur. To je razvidno tudi iz enakomerno naraščajočih krivulj na sliki 21, kjer specifična električna prevodnost sistemov narašča sorazmerno z večanjem deleža vode v le-teh. Pri redčenju S(M)ES 8 oz. 9, ki vsebujeta 80-90% oljne faze ter 10-20% emulgatorske zmesi, je specifična električna prevodnost narasla šele pri 55-65% vodne faze, kljub temu, da se je kobaltov papirček pri S(M)ES 6 do 9 obarval roza že pri 5 oz. 10% vode v sistemu. Roza obarvanje smo pri SMES 1 opazili pri 15% vode v sistemu, pri SMES 2 pa pri 10% vode, kar se ujema tudi z rahlim dvigom specifične električne prevodnosti na sliki 21. Pri SMES 3 se je kobaltov papirček obarval roza pri 20 % vode v sistemu, pri S(M)ES 4 in 5 pa pri 15% vode. Iz SMES 1 do 4, ki kot ko-emulgator vsebujejo Solutol® HS-15, so po dodatku vode nastale mikroemulzije vzdolž celotnih razredčitvenih premic (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama.



*Slika 21: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween® 20 in ko-emulgatorjem Solutol® HS-15 v razmerju 1:1 od deleža vode.*

Slika 22 prikazuje odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov od deleža vode za sisteme, ki so kot ko-emulgator vsebovali hidrofilni Cremophor® RH 40. Že na prvi pogled lahko opazimo, da je bila izmerjena vrednost specifične električne prevodnosti sistemov, ki so nastali z redčenjem S(M)ES 2, 3, 4 in 6 zelo raznolika. Razlog bi lahko bil zrak, ki se je med mešanjem ujel v (mikro)emulzije in motil določanje specifične električne prevodnosti. Pri S(M)ES 9 je prišlo do ločitve faz nastalih emulzij (nad 70% vode), kar se prav tako odraža v nezanesljivosti podatkov pridobljenih s spremljanjem specifične električne prevodnosti. Kobaltov papirček se je pri SMES 1 in 2 obarval roza pri 5% vode v sistemu. Pri SMES 3 in 4 je roza obarvanje nastopilo ob 10 oz. 15% deležu vode v sistemu, pri S(M)ES 5 do 9 pa pri 10 oz. 5% vode.



*Slika 22: Odvisnost specifične električne prevodnosti sistemov z emulgatorjem Tween 20 in ko-emulgatorjem Cremophor® RH 40 v razmerju 1:1 od deleža vode.*

Na podlagi določene specifične električne prevodnosti izbranim sistemom na slikah 16-22 lahko sklenemo, da nastanejo mikroemulzije tipa O/V hitreje in v večjem obsegu pri uporabi emulgatorjev in ko-emulgatorjev s prevladujoče izraženimi hidrofilnimi lastnostmi. Pri dodatku hidrofobnega ko-emulgatorja lecitina oz. Capryol<sup>TM</sup>-a 90 v osnovni sistem z emulgatorjem Tween<sup>®</sup> 20, se je specifična električna prevodnost povečala kasneje kot pri sistemih z izključno hidrofilnimi emulgatorji oz. ko-emulgatorji.

## 6.3. OVREDNOTENJE VZORCEV

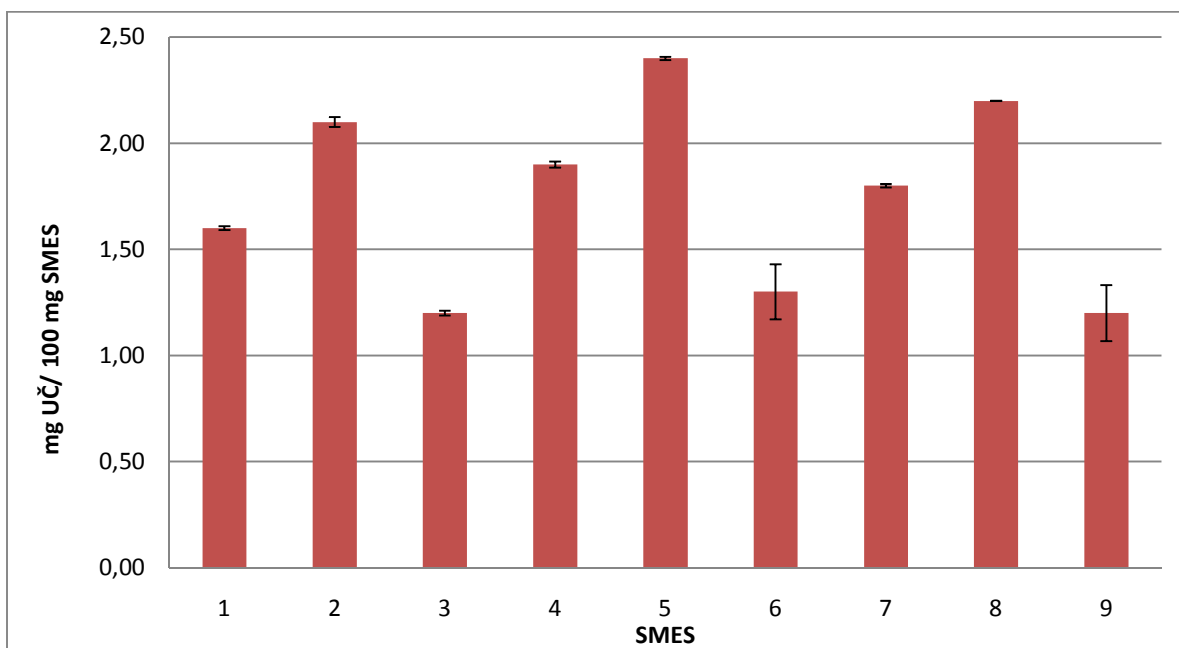
### 6.3.1. Solubilizacijska kapaciteta SMES

SMES, ki so tvorili mikroemulzije v največjem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama, smo določili kapaciteto solubilizacije za modelne zdravilne učinkovine NDS 1, NDS 2 in NDS 8 ter tako preverili potencialno uporabnost izbranih sistemov, katerih sestava je opisana v preglednici VI (SMES 1 do 9). Slike 23 do 26 prikazujejo solubilizacijsko kapaciteto izbranih SMES za modelne zdravilne učinkovine. Rezultati določitve

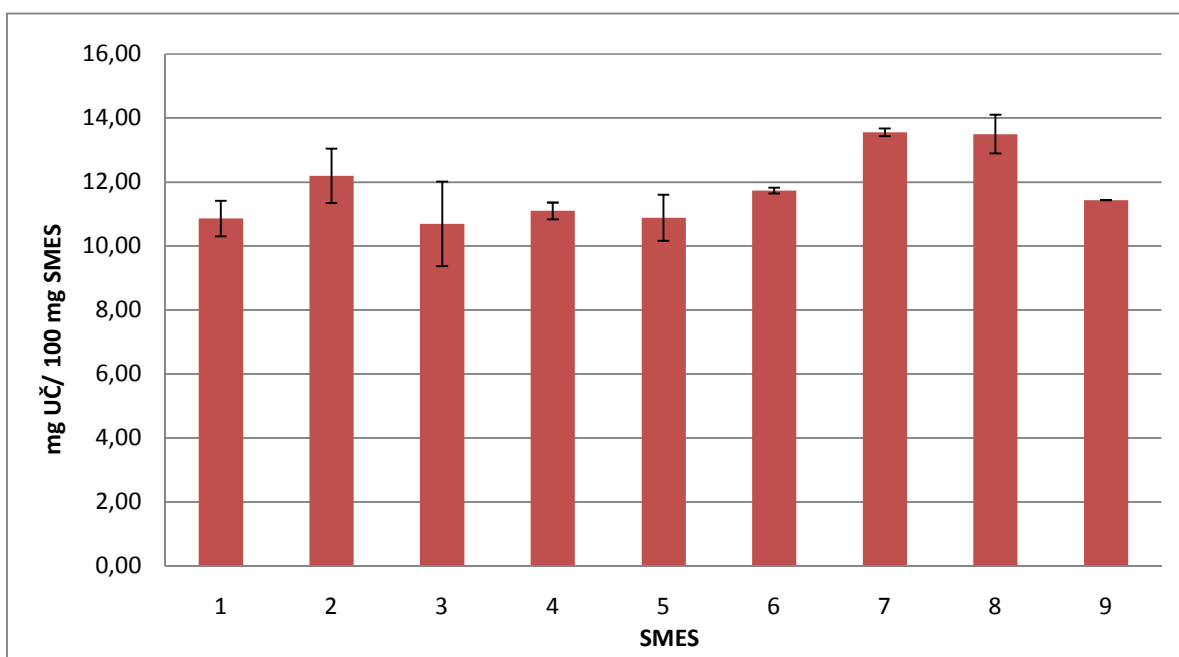
solubilizacijske kapacitete izbranih SMES za modelne učinkovine so povprečje dveh paralelk in so podani kot mg zdravilne učinkovine, ki se raztopi v 100 mg izbranega SMES.

**Preglednica VI:** Sestava izbranih SMES, ki smo jim določili kapaciteto solubilizacije za učinkovine NDS 1, NDS 2 in NDS 8. Preglednica VI velja za slike od 23 do 30.

SMES	SESTAVA EMULGATORSKE FAZE	SESTAVA OLJNE FAZE	RAZMERJE MED EMULGATORSKO IN OLJNO FAZO
1	Tween® 20	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	60:40
2	Tween® 20	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	80:20
3	Tween® 20	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	40:60
4	Tween® 20 (1/2), Cremophor® RH 40 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	60:40
5	Tween® 20 (1/2), Cremophor® RH 40 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	80:20
6	Tween® 20 (1/2), Cremophor® RH 40 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	40:60
7	Tween® 20 (1/2), Solutol® HS-15 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	60:40
8	Tween® 20 (1/2), Solutol® HS-15 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	80:20
9	Tween® 20 (1/2), Solutol® HS-15 (1/2)	Captex® 355 (1/3), Capmul® MCM (2/3)	40:60

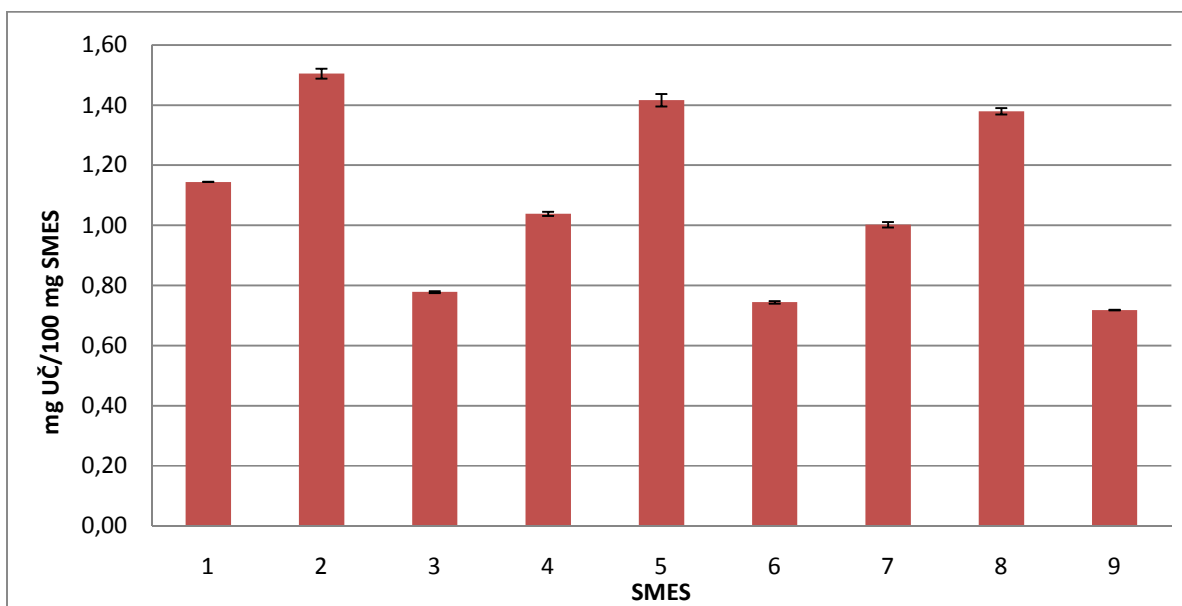


Slika 23: Solubilizacijska kapaciteta izbranih SMES za modelno zdravilno učinkovino NDS 1.



Slika 24: Solubilizacijska kapaciteta izbranih SMES za modelno zdravilno učinkovino NDS 2.



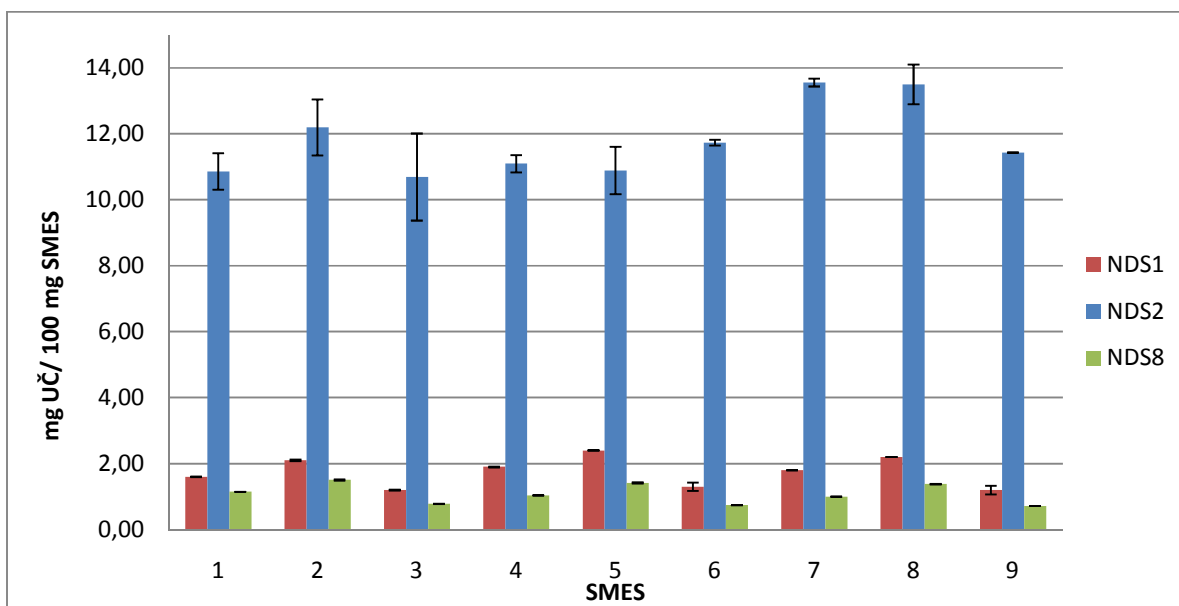


*Slika 25: Solubilizacijska kapaciteta izbranih SMES za modelno zdravilno učinkovino NDS 8.*

Iz slike 23 je razvidno, da je učinkovina NDS 1 najboljše topna v SMES 2, 5 in 8, ki vsebujejo 80% emulgatorske zmesi ter 20% oljne faze. Najvišjo kapaciteto solubilizacije za NDS 1 smo določili v SMES 5, in sicer 2.358 mg/100 mg SMES, najnižjo pa v SMES 3, ki je vseboval 40% Twenn<sup>®</sup>-a 20 in 60% olja (1.157 mg/100 mg SMES). V sistemih, kjer smo emulgator Tween<sup>®</sup> 20 kombinirali s ko-emulgatorjema, se je NDS 1 raztapljala bistveno bolje.

Kot je razvidno iz slike 24, je bila kapaciteta solubilizacije izbranih SMES za NDS 2 približno za faktor 10 višja kot za NDS 1 oz. NDS 8. Najvišja kapaciteta solubilizacije za NDS 2 je bila dosežena v SMES 7 (13.554 mg/100 mg SMES) oz. v SMES 8 (13.498 mg/100 mg SMES). Najnižjo kapaciteto solubilizacije za NDS 2 pa je izkazoval SMES 3, in sicer 10.690 mg/100 mg SMES. Medtem ko so najvišjo kapaciteto solubilizacije za NDS 1 izkazovali sistemi s ko-emulgatorjem Cremophor<sup>®</sup> RH 40, se je NDS 2 najboljše topila v sistemih s ko-emulgatorjem Solutol<sup>®</sup> HS-15.

Kot najugodnejši sistem za NDS 8 se je izkazal SMES 2, ki vsebuje 80% emulgatorja Tween<sup>®</sup> 20 in 20% oljne faze. Solubilizacijska kapaciteta za NDS 8 v SMES 2 je znašala 1.505 mg/100 mg SMES. Nekoliko nižja kapaciteta solubilizacije je bila dosežena v SMES 5, najslabše pa se je NDS 8 topila v SMES 9, in sicer 0.718 mg/100 mg SMES (Slika 25).



*Slika 26: Medsebojna primerjava topnosti modelnih učinkovin NDS 1, NDS 2 in NDS 8 v izbranih SMES.*

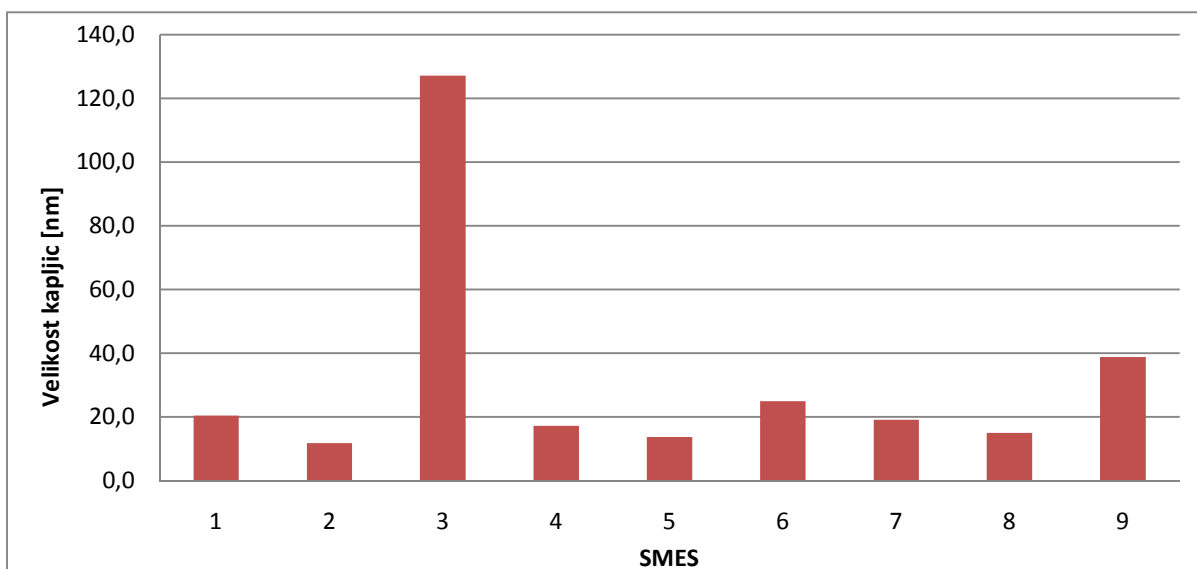
Iz slik 23 do 26 lahko povzamemo, da so izbrane učinkovine v splošnem bolj topne v SMES z višjim deležem emulgatorja in ko-emulgatorja (60-80%). SMES 1 do 9 predstavljajo potencialni sistem za vgradnjo učinkovine NDS 2, saj je bila dosežena solubilizacijska kapaciteta za le-to v omenjenih sistemih tudi do 13.55%. V praksi to pomeni, da bi lahko v 1 g SMES 7 vgradili 135.5 mg NDS 2. Skupni delež emulgatorja Tween<sup>®</sup> 20 in ko-emulgatorja Solutol<sup>®</sup> HS-15 v SMES 7 je 60%, kar je manj kot v SMES 2, 5 in 8 ter bolj sprejemljivo za peroralni vnos.

### 6.3.2. Določanje velikosti kapljic mikroemulzij nastalih iz SMES 1 do 9

Izbrane SMES (Preglednica VI), ki smo jim določili kapaciteto solubilizacije za modelne zdravilne učinkovine, smo ovrednotili tudi glede na velikost kapljic notranje faze mikroemulzij, ki nastanejo po razredčitvi SMES z vodno fazo (1 g SMES/250 ml). Velikost kapljic nastalih mikroemulzij smo na podlagi ene meritve izbranega vzorca določili z napravo Zetasizer Nano, ki deluje na principu fotonske korelacijske spektroskopije. Izmerjene velikosti

kapljic nastalih mikroemulzij so prikazane na sliki 27, polidisperzni indeks, ki odraža enakomernost porazdelitve le-teh pa v preglednici VII.

Velikost dispergiranih kapljic, ki nastanejo pri redčenju SMES 1 in 2 ter 4 do 9 z vodno fazo, je manjša od 50 nm, torej lahko zagotovo trdimo, da ti sistemi ustrezajo definiciji za samo-mikroemulgirajoče sisteme. Po literarnih podatkih med le-te uvrščamo sisteme, ki po razredčitvi tvorijo disperzije z velikostjo kapljic pod 100 oz. 50 nm (5). Nastale disperzije so fizikalno stabilne, saj po 1 mesecu staranja pri sobni temperaturi ni prišlo do razplastitve sistema.



*Slika 27: Velikost kapljic v izbranih SMES (nm).*

*Preglednica VII: Vrednosti polidisperznega indeksa (PI) za SMES 1 do 9.*

SMES	PI
1	0.218
2	0.066
3	0.391
4	0.042
5	0.058
6	0.064
7	0.044
8	0.176
9	0.235

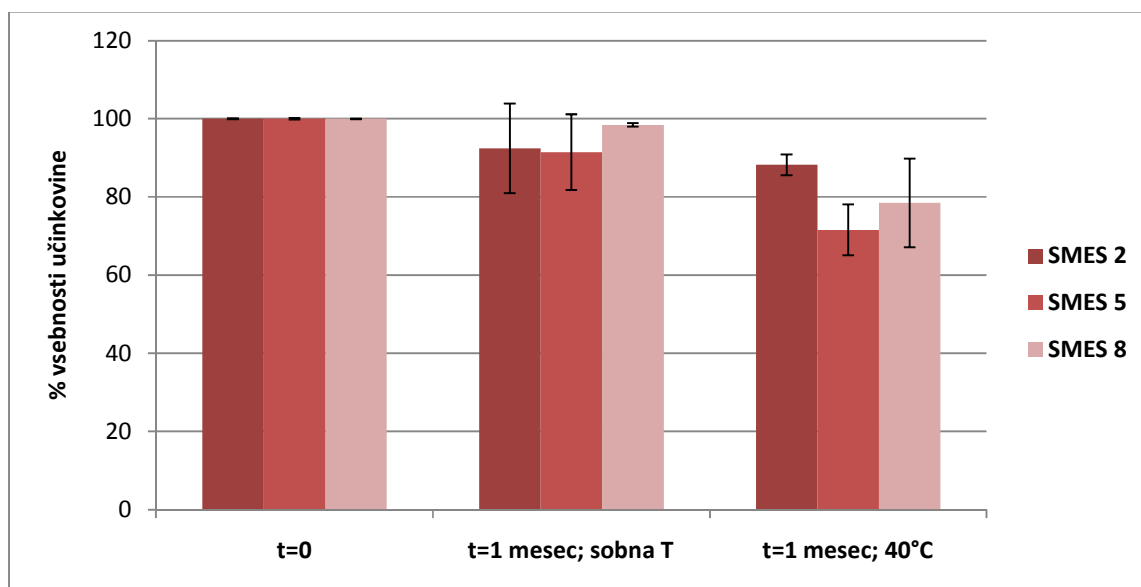
Polidisperzni indeks (PI) lahko zavzema vrednosti od 0 do 1 in je merilo za širino porazdelitve velikosti delcev oz. kapljic v sistemu. V kolikor je vrednost PI bližje 0 je distribucija velikosti bolj monodisperzna, v kolikor se približuje vrednosti 1 pa je preizkušen sistem zelo heterogen (32). Iz preglednice VII je razvidno, da so dobljene vrednosti PI za SMES 1 do 9 blizu 0, kar pomeni, da po redčenju SMES 1 do 9 nastanejo mikroemulzije s homogeno velikostjo kapljic notranje faze.

Med analizo smo odčitali tudi maksimume korelacijske funkcije, ki so za SMES 1 do 9 zavzemali vrednosti od 0.85 do 0.9 (idealna sigmoidna krivulja ima maksimum pri 1), kar nakazuje na enakomerno porazdelitev kapljic v nastalih mikroemulzijah.

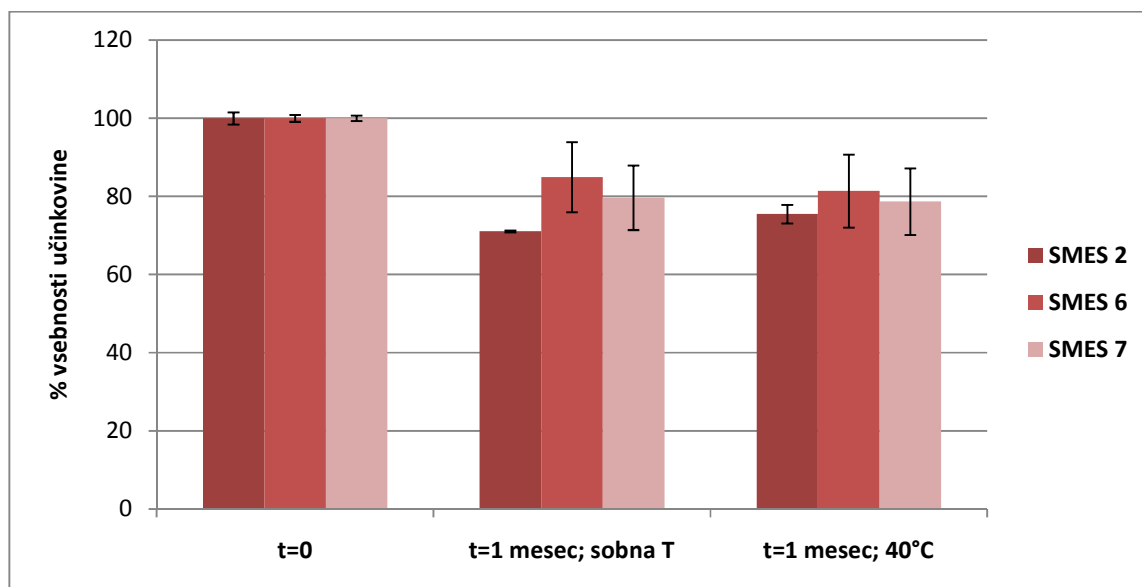
### **6.3.3. Stabilnost modelnih učinkovin NDS 1, 2 in 8 v izbranih SMES**

Poleg solubilizacijske kapacitete na praktično uporabnost SMES bistveno vpliva tudi stabilnost zdravilne učinkovine v le-teh. V izbranih SMES smo spremljali kemijsko stabilnost modelnih zdravilnih učinkovin NDS 1, NDS 2 in NDS 8. Vsebnost zdravilne učinkovine v posameznem sistemu smo z metodo HPLC določali ob času 0 (takoj po pripravi vzorcev pri sobni temperaturi) ter po 1 mesecu shranjevanja vzorcev pri sobni temperaturi in pri 40°C. Na

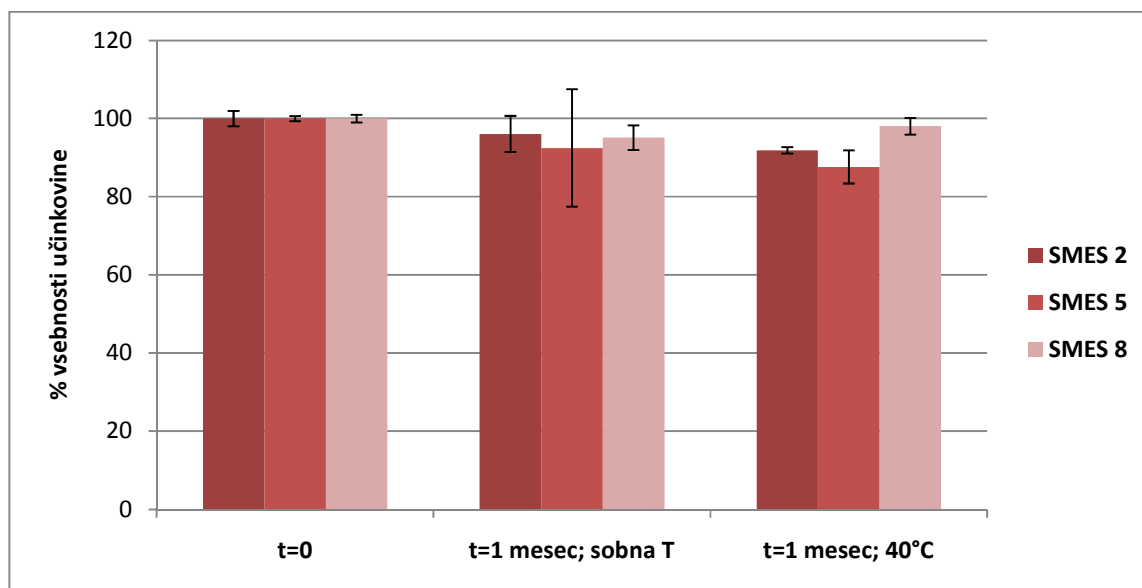
slikah 28 do 30 so podani rezultati stabilnostnih študij kot % vsebnosti zdravilne učinkovine glede na čas 0 (vsebnost ob času 0 je 100%).



*Slika 28: Vsebnost NDS 1 v odvisnosti od časa in temperature v izbranih SMES.*



*Slika 29: Vsebnost NDS 2 v odvisnosti od časa in temperature v izbranih SMES.*



*Slika 30: Vsebnost NDS 8 v odvisnosti od časa in temperature v izbranih SMES.*

Iz slik od 28 do 30 je razvidno, da so posamezne zdravilne učinkovine v izbranih SMES različno stabilne. Vsebnost NDS 1 v SMES 2 in 5 se je po 1 mesecu staranja pri sobni temperaturi in 40°C znižala v primerjavi z vsebnostjo omenjene zdravilne učinkovine v SMES 8, kjer je vsebnost po 1 mesecu pri sobni temperaturi ostala približno enaka, pri povišani temperaturi pa se je prav tako znižala. Vsebnost NDS 2 se je po 1 mesecu staranja v SMES 6 in 7 približno enako znižala pri sobni temperaturi in pri 40°C, največji upad vsebnosti NDS 2 pa smo zasledili v SMES 2. Prav tako smo upad vsebnosti po 1 mesecu zabeležili pri NDS 8, čeprav je bil le-ta zanemarljiv v SMES 8 pri 40°C.

Najnižjo spremembo vsebnosti v izbranih SMES smo zasledili pri NDS 8, kar pomeni, da bi lahko slednji pripisali najvišjo stabilnost v izbranih SMES. Čeprav so izbrani SMES izkazovali najvišjo kapaciteto solubilizacije za NDS 2, pa vsebnost omenjene zdravilne učinkovine v le-teh relativno hitro pada.

Namen pospešenih testov je v kratkem času napovedati obstojnost zdravilne učinkovine v izbranem sistemu. Za pripravke, ki niso vključeni v farmakopejo velja, da so uporabni, dokler vsebujejo najmanj 90% učinkovine (38). Rezultati stabilnostnih študij kažejo, da je vsebnost NDS 1 in NDS 8 po 1 mesecu shranjevanja pri sobni temperaturi v SMES 2, 5 in 8 nad 90%,

kar potrjuje potencialno uporabnost omenjenih sistemov. Prav tako smo vsebnost nad 90% po 1 mesecu shranjevanju pri 40°C dosegli pri NDS 8 v SMES 2 in 8. Kot najbolj stabilna modelna učinkovina se je izkazala NDS 8 v SMES 8.

## 7. SKLEPI

- Za izdelavo samo-(mikro)emulgirajočih sistemov s srednjedolgoverižnimi lipidi smo kot oljno fazo uporabili Captex<sup>®</sup> 355 in Capmul<sup>®</sup> MCM v razmerju 1:2 ter različne kombinacije emulgatorjev (Cremophor<sup>®</sup> EL, Labrasol<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup> 20) in ko-emulgatorjev (lecitin, Capryol<sup>™</sup> 90, Cremophor<sup>®</sup> RH 40, Solutol<sup>®</sup> HS-15). Z izdelavo (psevdo)trikomponentnih faznih diagramov smo določili področja nastanka mikroemulzij za izbrane sisteme; z določanjem specifične električne prevodnosti in s pomočjo kobaltovega papirčka smo določili tudi tip nastalega sistema (O/V ali V/O).
- Ugotovili smo, da sistemi z emulgatorjem Tween<sup>®</sup> 20 tvorijo mikroemulzije v najširšem območju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama. Mikroemulzije nastanejo pri nižji koncentraciji emulgatorja kot v sistemih, ki so kot emulgator vsebovali Labrasol<sup>®</sup> oz. Cremophor<sup>®</sup> EL. V nadaljnje smo emulgator Tween<sup>®</sup> 20 kombinirali z različnimi ko-emulgatorji v razmerju 1:1. Mikroemulzije so nastale v najširšem področju (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama pri redčenju samo-mikroemulgirajočih sistemov, ki so vsebovali emulgatorsko zmes Tween<sup>®</sup> 20/Solutol<sup>®</sup> HS-15 oz. Tween<sup>®</sup> 20/Cremophor<sup>®</sup> RH 40. Pri samo-mikroemulgirajočih sistemih s 50-90% emulgatorske zmesi Tween<sup>®</sup> 20/Solutol<sup>®</sup> HS-15 oz. Tween<sup>®</sup> 20/Cremophor<sup>®</sup> RH 40, so mikroemulzije nastale vzdolž celotne razredčitvene premice (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama.
- Na osnovi rezultatov specifične električne prevodnosti izbranih sistemov sklepamo, da hidrofilne mikroemulzije (tipa O/V) nastanejo hitreje in v večjem obsegu pri uporabi hidrofilnih emulgatorjev in ko-emulgatorjev. Pri le-teh sistemih se je specifična električna prevodnost povečala hitreje kot v sistemih, ki so kot ko-emulgator vsebovali hidrofobna lecitin oz. Capryol<sup>™</sup> 90.
- Največjo kapaciteto solubilizacije je za modelno učinkovino NDS 2 izkazoval samo-mikroemulgirajoči sistem s 60% emulgatorske zmesi (Tween<sup>®</sup> 20/Solutol<sup>®</sup> HS-15 (1:1)) in



40% oljne faze (Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM (1:2)), in sicer 13.55%. Delež emulgatorske faze v omenjenem samo-mikroemulgirajočem sistemu je relativno nizek, kar je zaželeno pri formuliranju sistemov za peroralno uporabo.

- Poleg področij nastanka mikroemulzij ter solubilizacijske kapacitete in stabilnosti vgrajenih učinkovin, smo pri izbranih SMES spremljali tudi sposobnost samo-mikroemulgiranja (velikost kapljic dispergirane faze po redčenju z vodno fazo). Pri redčenju 1g SMES z 250 ml vode so iz vseh izbranih SMES (razen SMES 3) nastale mikroemulzije z velikostjo kapljic pod 100 oz. 50 nm, kar glede na definicijo te sisteme uvršča med samo-mikroemulgirajoče sisteme (razred IIIb). Pri redčenju SMES 3 je nastala stabilna emulzija z velikostjo kapljic ~130 nm, zato po definiciji ta sistem uvrščamo med samo-emulgirajoče sisteme (razred IIIa). V skladu z zahtevami za samo-mikroemulgirajoče sisteme je bil čas, potreben za nastanek bistre disperzije, pri vseh sistemih krajši od 1 minute, nastale mikroemulzije pa so bile fizikalno stabilne vsaj 1 mesec; med staranjem pri sobni temperaturi ni prišlo do razplastitve sistema ali zamotnitve sistema.
- Kot najbolj stabilna modelna učinkovina se je izkazala NDS 8 v SMES 8. NDS 1 je bila najbolj stabilna v SMES 2, NDS 2 pa v SMES 6.
- Rezultati diplomske naloge potrjujejo, da so vrednoteni samo-mikroemulgirajoči sistemi zaradi svoje termodinamske stabilnosti, spontanega nastanka in ugodne solubilizacijske kapacitete, predvsem za modelno učinkovino NDS 2, primerni dostavni sistem za peroralno aplikacijo.

## 8. VIRI IN LITERATURA

1. Zvonar A.: Optimizacija tehnološkega postopka izdelave ter vrednotenje mikrokapsul s samomikroemulgirajočim jedrom, Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2010: 1-43; 93-96
2. Porter C.J.H., Pouton C.W., Cuine J.F., Charman W.N.: Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems, *Adv. Drug Deliv., Rev.* 60, 2008: 673-691
3. Rane S.S., Anderson B.D.: What determines drug solubility in lipid vehicles: Is it predictable?, *Adv. Drug Deliv., Rev.* 60, 2008: 638-656
4. Rozman B., Bogataj M.: Pregled mikroemulzijskih sistemov za peroralno uporabo, *Farm. vestn.*, 57, 2006: 189-194
5. Gursoy R.N., Benita S.: Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58, 2004: 173-182
6. Zvonar A., Gašperlin M., Kristl J.: Samo(mikro)emulgirajoči sistemi – alternativen pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin, *Farm. vestn.*, 59, 2008: 263-268
7. Pouton C.W., Porter C.J.H.: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies, *Adv. Drug Deliv., Rev.* 60, 2008: 625-637
8. Grove M., Müllertz A.: Liquid Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems In: Hauss D.J.: *Oral Lipid-Based Formulations: Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs*, Vol. 170, Informa Healthcare, New York, 2007: 107-109
9. Swarbrick J.: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 3<sup>th</sup> ed., Informa Healthcare, New York, 2007, vol. 5: 3262, vol. 3: 1561-1564
10. Jurkovič P., Gašperlin M.: Mikroemulzije za dermalno dostavo učinkovin, *Farm. vestn.*, 55, 2004: 565-571
11. Eccleston G.M.: Microemulsions In: Swarbrick J., Boylan J.C.: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* Vol. 9, Marcel Dekker, New York, 1994: 375-421

12. Martin A.: Physical pharmacy 4<sup>th</sup> ed., Lea&Febiger, USA, 1993: 43-44, 127-128
13. Gibson L.: Lipid-based Excipients for Oral Drug Delivery In: Hauss D.J.: Oral Lipid-Based Formulations: Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs, Vol. 170, Informa Healthcare, New York, 2007: 33-61
14. Elektronski vir: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm> (30.8.2010)
15. Strickley R.G.: Currently Marked Oral Lipid-Based Dosage Forms: Drug Products and Excipients In: Hauss D.J.: Oral Lipid-Based Formulations: Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs, Vol. 170, Informa Healthcare, New York, 2007: 1-31
16. Pouton C.W.: Formulation of self-emulsifying drug delivery systems, Adv. Drug Deliv., Rev. 25, 1997: 47-58
17. Charman S.A., Charman W.N., Rogge M.C., Wilson T.D., Dutko F.J., Pouton C.W.: Self-emulsifying drug delivery systems: Formulation and biopharmaceutic evaluation of an investigational lipophilic compound, Pharma Res. 9, 1992: 87-93
18. Mohsin K., Long M.A., Pouton C.W., submitted for publication.
19. Khoo S.M., Porter C.J., Charman W.N.: The formulation of Halofantrine as either non-solubilizing PEG 6000 or. solubilizing lipid based solid dispersions: Physical stability and absolute bioavailability assessment, International Journal of Pharmaceutics 205, 2000: 65-78
20. Elektronski vir :  
[http://abiteccorp.com/i\\_templates/administration/tinymce/uploaded/File/Captex%20Tech%20Data/Captex%20355%20TDS%20I-7.pdf](http://abiteccorp.com/i_templates/administration/tinymce/uploaded/File/Captex%20Tech%20Data/Captex%20355%20TDS%20I-7.pdf) (24.5.2010)
21. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME: Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th ed., Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association 2009: 429-431, 391-393, 557-561, 549-553, 542-549, 385-387
22. Elektronski vir:  
[http://www.abiteccorp.com/i\\_templates/administration/tinymce/uploaded/File/Capmul%20Tech%20Data/CAPMUL%20MCM%20TDS%20I-13.pdf](http://www.abiteccorp.com/i_templates/administration/tinymce/uploaded/File/Capmul%20Tech%20Data/CAPMUL%20MCM%20TDS%20I-13.pdf) (26.5.2010)
23. Elektronski vir:  
<http://www.abiteccorp.com/uploads/File/Capmul%20MSDS/Capmul%20MCM.PDF> (26.5.2010)

24. Bauer, Frömmling, Führer: Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 7. Auflage, Stuttgart 2002: 97
25. Hoepfner EM, Reng A, Schmidt PC: Fiedler Encyclopedia of Excipients for Pharmaceuticals, Cosmetics and Related Areas, Editio Cantor Verlag, Aulendorf, vol 2, 5<sup>th</sup> ed., 2002 (elektronska verzija; iskalnik brez strani)
26. Elektronski vir: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/content/abstract/51/3/897>  
(1.6.2010)
27. Elektronski vir:  
[http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:KgLwmvqqmrkJ:www.basf.co.kr/02\\_products/04\\_finechemicals/document/pharma/techinfo/ti/down.asp%3Ffile%3DSolutol%2520HS%252015.pdf+solutol+hs+15&hl=sl&gl=si&pid=bl&srcid=ADGEEShRUcjyqfrKYZwOPmMAKKIB6E-e9INpALxYHN3N9uzHysS7hwcGjxsgFMJ7wnCbx6n6VZPGYD8OWAch7BsZDN3-n20WZxBJ\\_GjNiFy5MR65BuH1QYcSYmGg3U63W8AZmputXD2&sig=AHIEtbSkiHqLFjf5Rs6WVRrxKBl6eDfUSw](http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:KgLwmvqqmrkJ:www.basf.co.kr/02_products/04_finechemicals/document/pharma/techinfo/ti/down.asp%3Ffile%3DSolutol%2520HS%252015.pdf+solutol+hs+15&hl=sl&gl=si&pid=bl&srcid=ADGEEShRUcjyqfrKYZwOPmMAKKIB6E-e9INpALxYHN3N9uzHysS7hwcGjxsgFMJ7wnCbx6n6VZPGYD8OWAch7BsZDN3-n20WZxBJ_GjNiFy5MR65BuH1QYcSYmGg3U63W8AZmputXD2&sig=AHIEtbSkiHqLFjf5Rs6WVRrxKBl6eDfUSw) (6.6.2010)
28. Elektronski vir: <http://www.gattefosse.com/internet/gatt-wk3.nsf/TECHDOCPARCLEFPOPUP/PRD00003459?OpenDocument> (7.6.2010)
29. Elektronski vir: <http://www.aapspharmaceutica.com/meetings/files/85/03poultona.pdf>  
(9.6.2010)
30. Jurkovič P.: Proučevanje vpliva izbranih mikroemulzij na učinkovitost derivatov vitamina C v koži, Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2003: 49
31. Breznik M., Kmetec V., Kranjc A., Kreft S., Kristl A., Osredkar J., Peterlin-Mašič L., Planinšek O., Pukl M., Urleb U., Zega A., Kikelj D.: Vaje iz instrumentalne farmacevtske analize, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2003: 57
32. Jores K., Mehnert W., Drechsler M., Bunjes H., Johann C., Mäde K.: Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and

- transmission electron microscopy, *Journal of Controlled Release*, Vol. 95, 2004: 217-227
33. Mohsin K., Long M.A., Pouton C.W.: Desing of Lipid-Based Formulation for Oral Administration of Poorly Water-Soluble Drugs: Precipitation of Drug after Dispersion of Formulations in Aqueous Solution, *Journal of Pharmaceutical sciences*, Vol. 98, 2009: 3582-3594
  34. Balakrishnan P., Lee-B.J., Oh D.H., Kim J.O., Lee Y.I., Kim D.D., Jee J.P., Lee Y.B., Woo J.S., Yong C.S., Choi H.G.: Enhanced oral bioavailability of Coenzyme Q<sub>10</sub> by self- emulsifying drug delivery systems, *International Journal of Pharmaceutics* 374, 2009: 66-72
  35. El-Samaligy M.S., Afifi N.N., Mahmoud E.A.: Increasing bioavailability of silymarin using a buccal liposomal delivery system: preparation and experimental design investigation, *International Journal of Pharmaceutics* 308, 2006: 14
  36. Elektronski vir: <http://www.theherbarie.com/Soy-Lecithin-HLB-7-pr-107.html> (15.6.2010)
  37. Podlogar F., Bešter Rogač M., Gašperlin M.: The effect of internal structure of selected water-Tween<sup>®</sup>40-Imwitor<sup>®</sup>308-IPM microemulsions on ketoprofene release, *International Journal of Pharmaceutics* 302, 2005: 68-77
  38. Kmetec V., Roškar R.: Vaje iz stabilnosti zdravil, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2002: 12, 19

## 9. PRILOGA

### Legenda za preglednice od VIII do XIV:

*E +Ko-E* .....delež emulgatorja in ko-emulgatorja v sistemu

*E* .....delež emulgatorja

*Co-papir* ..... ..obarvanost kobaltovega papirčka

*1* .....nastanek mikroemulzije

*2* .....nastanek emulzije

*Prazen prostor*..... ..ni podatkov za prevodnost, zaradi neustrezne konsistence nastalega sistema

### Preglednica VIII: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:

*Cremophor® EL/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>89,66</b>	<b>10,34</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,910</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
85,18	9,83	5,00	modro	1,986	bistro, tekoče	1
80,69	9,31	10,00	modro	3,458	bistro, tekoče	1
76,21	8,79	15,00	modro	12,191	bistro, tekoče	1
71,73	8,28	20,00	roza	15,400	bistro, tekoče	1
67,24	7,76	25,00	roza	33,770	motno, gosteje	2
62,76	7,24	30,00	roza	51,400	motno, gosteje	2
58,27	6,72	35,00	roza	74,270	transparentno, gel	1
53,79	6,21	40,00	roza	94,790	transparentno, gel	1
49,31	5,69	45,00	roza	108,240	transparentno, gel	1
44,83	5,17	50,00	roza	96,120	bistro, redkeje	1
40,34	4,65	55,00	roza	105,460	bistro, tekoče	1
35,86	4,14	60,00	roza	104,350	bistro, tekoče	1
31,38	3,62	65,00	roza	109,400	bistro, tekoče	1
26,90	3,10	70,00	roza	112,550	bistro, tekoče	1
22,41	2,59	75,00	roza	106,380	bistro, tekoče	1
17,93	2,07	80,00	roza	113,100	bistro, tekoče	1
13,45	1,55	85,00	roza	96,130	bistro, tekoče	1
8,97	1,03	90,00	roza	105,060	bistro, tekoče	1
4,48	0,52	95,00	roza	110,460	bistro, tekoče	1
<b>80,11</b>	<b>19,89</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,063</b>	<b>bistro, tekoče</b>	

76,11	18,89	5,00	modro	3,555	bistro, tekoče	1
72,10	17,90	10,00	modro	7,661	bistro, tekoče	1
68,10	16,90	15,00	modro	12,590	bistro, tekoče	1
64,09	15,91	20,00	roza	26,210	bistro, tekoče	1
60,09	14,92	25,00	roza	22,410	bistro, gosteje	1
56,08	13,92	30,00	roza	54,530	bistro, gel	1
52,07	12,93	35,00	roza	7,730	bistro, gel	1
48,07	11,93	40,00	roza	84,440	bistro, gel	1
44,06	10,94	45,00	roza	152,200	bistro, gel	1
40,06	9,94	50,00	roza	194,200	bistro, gel	1
36,05	8,95	55,00	roza	203,400	bistro, gel	1
32,05	7,96	60,00	roza	208,000	bistro, redkeje	1
28,04	6,96	65,00	roza	241,300	bistro, redkeje	1
24,03	5,97	70,00	roza	239,100	bistro, redkeje	1
20,03	4,97	75,00	roza	217,800	bistro, tekoče	1
16,02	3,98	80,00	roza	59,060	bistro, tekoče	1
12,02	2,98	85,00	roza	54,910	bistro, tekoče	1
8,01	1,99	90,00	roza	136,800	bistro, tekoče	1
4,01	0,99	95,00	roza	74,810	bistro, tekoče	1
<b>69,85</b>	<b>30,15</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,318</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,36	28,65	5,00	modro	4,160	bistro, tekoče	1
62,86	27,14	10,00	modro	8,618	bistro, tekoče	1
59,37	25,63	15,00	modro	17,240	bistro, tekoče	1
55,88	24,12	20,00	roza	27,710	bistro, tekoče	1
52,38	22,61	25,00	roza	38,940	bistro, tekoče	1
48,89	21,11	30,00	roza	42,210	bistro, gel	1
45,40	19,60	35,00	roza	57,020	bistro, gel	1
41,91	18,09	40,00	roza	76,500	bistro, gosto	1
38,42	16,58	45,00	roza	123,160	bistro, gosto	1
34,92	15,08	50,00	roza	201,300	bistro, redkeje	1
31,43	13,57	55,00	roza	225,800	bistro, redkeje	1
27,94	12,06	60,00	roza	241,500	belo, redko	2
24,45	10,55	65,00	roza	246,400	belo, redko	2
20,95	9,05	70,00	roza	253,700	belo, redko	2
17,46	7,54	75,00	roza	256,500	motno, tekoče	2
13,97	6,03	80,00	roza	246,000	bistro tekoče	1
10,48	4,52	85,00	roza	203,500	bistro, tekoče	1
6,98	3,02	90,00	roza	153,100	bistro, tekoče	1
3,49	1,51	95,00	roza	84,570	bistro, tekoče	1
<b>60,23</b>	<b>39,77</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,484</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
57,22	37,78	5,00	modro	4,895	bistro, tekoče	1

54,21	35,79	10,00	modro	10,437	bistro, tekoče	1
51,20	33,80	15,00	roza	8,977	bistro, tekoče	1
48,19	31,81	20,00	roza	19,080	bistro, tekoče	1
45,18	29,83	25,00	roza	56,140	bistro, tekoče	1
42,17	27,84	30,00	roza	77,540	motno, tekoče	2
39,15	25,85	35,00	roza	76,810	belo, gel	2
36,14	23,86	40,00	roza	77,370	belo, gel	2
33,13	21,87	45,00	roza	91,280	belo, gel	2
30,12	19,88	50,00	roza	160,200	belo, gosto	2
27,11	17,90	55,00	roza	234,300	belo, gosto	2
24,09	15,91	60,00	roza	288,400	belo, redko	2
21,08	13,92	65,00	roza	309,700	belo, redko	2
18,07	11,93	70,00	roza	307,600	belo, redko	2
15,06	9,94	75,00	roza	306,100	motno, redko	2
12,05	7,95	80,00	roza	267,100	bistro, tekoče	1
9,03	5,96	85,00	roza	231,400	bistro tekoče	1
6,02	3,98	90,00	roza	173,700	bistro, tekoče	1
3,01	1,99	95,00	roza	94,900	bistro, tekoče	1
<b>49,98</b>	<b>50,02</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,554</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,48	47,52	5,00	modro	5,264	bistro, tekoče	1
44,98	45,02	10,00	modro	10,978	bistro, tekoče	1
42,48	42,52	15,00	roza	20,860	bistro, tekoče	1
39,98	40,02	20,00	roza	34,130	bistro, tekoče	1
37,48	37,52	25,00	roza	49,120	bistro, tekoče	1
34,98	35,02	30,00	roza	91,440	bistro, tekoče	1
32,48	32,52	35,00	roza	135,700	bistro, tekoče	1
29,98	30,01	40,00	roza	99,740	belo, gosto	2
27,49	27,51	45,00	roza	100,930	belo, gosto	2
24,99	25,01	50,00	roza	77,460	belo, gosto	2
22,49	22,51	55,00	roza	89,870	belo, gosto	2
19,99	20,01	60,00	roza	143,300	belo, gosto	2
17,49	17,51	65,00	roza	215,800	belo, redko	2
14,99	15,01	70,00	roza	230,400	belo, redko	2
12,49	12,51	75,00	roza	236,500	belo, tekoče	2
9,99	10,00	80,00	roza	226,900	belo, tekoče	2
7,50	7,50	85,00	roza	188,900	belo, tekoče	2
5,00	5,00	90,00	roza	151,100	belo, tekoče	2
2,50	2,50	95,00	roza	92,770	belo, tekoče	2
<b>40,13</b>	<b>59,87</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,100</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,12	56,88	5,00	modro	6,353	bistro, tekoče	1
36,12	53,89	10,00	roza	11,504	bistro, tekoče	1



34,11	50,89	15,00	roza	19,830	belo, motno	2
32,10	47,90	20,00	roza	32,270	belo, motno	2
30,10	44,91	25,00	roza	35,530	motno, tekoče	2
28,09	41,91	30,00	roza	65,420	motno, gosteje	2
26,08	38,92	35,00	roza	93,840	motno, redkeje	2
24,08	35,93	40,00	roza	145,200	motno, redkeje	2
22,07	32,93	45,00	roza	187,300	motno, redkeje	2
20,06	29,94	50,00	roza	193,400	belo, gosteje	2
18,06	26,94	55,00	roza	142,200	belo, gosteje	2
16,05	23,95	60,00	roza	125,760	belo, gosteje	2
14,05	20,96	65,00	roza	50,640	belo, gosteje	2
12,04	17,96	70,00	roza	42,480	belo, gosteje	2
10,03	14,97	75,00	roza	39,160	belo, gosteje	2
8,03	11,97	80,00	roza	33,640	belo, gosteje	2
6,02	8,98	85,00	roza	32,120	belo, redkeje	2
4,01	5,99	90,00	roza	51,710	belo, tekoče	2
2,01	2,99	95,00	roza	75,760	belo, tekoče	2
<b>30,19</b>	<b>69,81</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,980</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,68	66,32	5,00	modro	6,547	bistro, tekoče	1
27,17	62,83	10,00	roza	12,800	bistro, tekoče	1
25,66	59,34	15,00	roza	19,400	motno, tekoče	2
24,15	55,85	20,00	roza	22,220	motno, tekoče	2
22,64	52,36	25,00	roza	25,060	belo, tekoče	2
21,13	48,87	30,00	roza	27,820	belo, tekoče	2
19,62	45,38	35,00	roza	28,760	belo, gosteje	2
18,11	41,89	40,00	roza	29,000	belo, gosteje	2
16,60	38,40	45,00	roza	32,230	belo, gosteje	2
15,09	34,91	50,00	roza	34,920	belo, gosteje	2
13,58	31,42	55,00	roza	38,490	belo, gosteje	2
12,07	27,93	60,00	roza	40,040	belo, gosteje	2
10,57	24,44	65,00	roza	62,160	belo, gosteje	2
9,06	20,94	70,00	roza	67,650	belo, tekoče	2
7,55	17,45	75,00	roza	89,550	belo, tekoče	2
6,04	13,96	80,00	roza	217,000	belo, tekoče	2
4,53	10,47	85,00	roza	209,500	belo, tekoče	2
3,02	6,98	90,00	roza	162,800	belo, tekoče	2
1,51	3,49	95,00	roza	105,710	belo, tekoče	2
<b>20,06</b>	<b>79,94</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,049</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,06	75,94	5,00	rahlo roza	6,909	bistro, tekoče	1
18,05	71,94	10,00	roza	12,780	motno, tekoče	2
17,05	67,95	15,00	roza	14,020	motno, tekoče	2

16,05	63,95	20,00	roza	14,100	belo, tekoče	2
15,04	59,95	25,00	roza	12,890	belo, tekoče	2
14,04	55,96	30,00	roza	11,865	belo, tekoče	2
13,04	51,96	35,00	roza	12,277	belo, tekoče	2
12,04	47,96	40,00	roza	12,870	belo, tekoče	2
11,03	43,97	45,00	roza	10,895	belo, tekoče	2
10,03	39,97	50,00	roza	10,035	belo, tekoče	2
9,03	35,97	55,00	roza	9,813	belo, tekoče	2
8,02	31,98	60,00	roza	9,961	belo, tekoče	2
7,02	27,98	65,00	roza	9,269	belo, gosteje	2
6,02	23,98	70,00	roza	9,628	belo, gosteje	2
5,01	19,98	75,00	roza	9,186	belo, gosteje	2
4,01	15,99	80,00	roza	10,169	belo, gosteje	2
3,01	11,99	85,00	roza	7,855	belo, gosteje	2
2,01	7,99	90,00	roza	8,190	belo, gosteje	2
1,00	4,00	95,00	roza	70,510	belo, gosteje	2
<b>10,00</b>	<b>90,00</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,892</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,50	85,50	5,00	rahlo roza	6,045	bistro, tekoče	1
9,00	81,00	10,00	roza	10,566	motno, tekoče	2
8,50	76,50	15,00	roza	10,579	motno, tekoče	2
8,00	72,00	20,00	roza	9,397	belo, tekoče	2
7,50	67,50	25,00	roza	8,677	belo, tekoče	2
7,00	63,00	30,00	roza	7,714	belo, tekoče	2
6,50	58,50	35,00	roza	7,401	belo, tekoče	2
6,00	54,00	40,00	roza	7,354	belo, tekoče	2
5,50	49,50	45,00	roza	7,796	belo, tekoče	2
5,00	45,00	50,00	roza	8,012	belo, tekoče	2
4,50	40,50	55,00	roza	9,197	belo, tekoče	2
4,00	36,00	60,00	roza	10,503	belo, tekoče	2
3,50	31,50	65,00	roza	23,420	belo, tekoče	2
3,00	27,00	70,00	roza	133,700	belo, tekoče	2
2,50	22,50	75,00	roza	22,320	belo, tekoče	2
2,00	18,00	80,00	roza	15,433	belo, tekoče	2
1,50	13,50	85,00	roza	266,800	fazi se ločita	2
1,00	9,00	90,00	roza	70,590	fazi se ločita	2
0,50	4,50	95,00	roza	111,850	fazi se ločita	2

*Preglednica IX: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:**Labrasol<sup>®</sup>/Captex<sup>®</sup> 355/Capmul<sup>®</sup> MCM/voda.*

<b>E (%)</b>	<b>Olje (%)</b>	<b>Voda (%)</b>	<b>Co-papir</b>	<b>Prevodnost (<math>\mu\text{S}/\text{cm}</math>)</b>	<b>Izgled</b>	<b>Tip sistema</b>
<b>90,02</b>	<b>9,98</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>		<b>bistro, tekoče</b>	
85,49	9,47	5,04	modro	2,166	bistro, tekoče	1
81,02	8,98	10,00	modro	3,462	bistro, tekoče	1
76,54	8,48	14,98	modro	5,740	bistro, tekoče	1
72,06	7,98	19,95	modro	6,667	bistro, tekoče	1
67,56	7,49	24,95	modro	7,752	bistro, tekoče	1
63,06	6,99	29,95	roza	16,200	bistro, tekoče	1
58,56	6,49	34,95	roza	17,780	bistro, tekoče	1
54,05	5,99	39,96	roza	18,060	bistro, tekoče	1
49,55	5,49	44,95	roza	22,600	bistro, tekoče	1
45,04	4,99	49,97	roza	26,400	bistro, tekoče	1
40,53	4,49	54,98	roza	66,810	bistro, tekoče	1
36,03	3,99	59,98	roza	78,450	bistro, tekoče	1
31,52	3,49	64,99	roza	72,650	bistro, tekoče	1
27,01	2,99	69,99	roza	41,470	bistro, tekoče	1
22,51	2,49	75,00	roza	118,000	bistro, tekoče	1
18,01	2,00	80,00	roza	115,270	bistro, tekoče	1
13,50	1,50	85,00	roza	105,560	bistro, tekoče	1
9,00	1,00	90,00	roza	84,080	bistro, tekoče	1
4,50	0,50	95,00	roza	56,110	bistro, tekoče	1
<b>79,97</b>	<b>20,03</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>		<b>bistro, tekoče</b>	
75,94	19,03	5,03	modro	3,511	bistro, tekoče	1
71,98	18,03	9,99	modro	5,707	bistro, tekoče	1
68,00	17,04	14,96	roza	11,147	bistro, tekoče	1
63,98	16,03	20,00	roza	18,340	bistro, tekoče	1
59,99	15,03	24,98	roza	27,200	bistro, tekoče	1
56,00	14,03	29,97	roza	40,980	bistro, tekoče	1
52,00	13,03	34,97	roza	56,300	bistro, tekoče	1
48,00	12,03	39,97	roza	74,320	bistro, tekoče	1
43,99	11,02	44,99	roza	93,180	bistro, tekoče	1
39,99	10,02	49,99	roza	109,820	bistro, tekoče	1
35,99	9,02	54,99	roza	128,500	bistro, tekoče	1
31,99	8,02	59,99	roza	141,800	bistro, tekoče	1
27,99	7,01	64,99	roza	152,800	bistro, tekoče	1
24,00	6,01	69,99	roza	157,500	bistro, tekoče	1
20,00	5,01	74,99	roza	160,200	bistro, tekoče	1

16,00	4,01	80,00	roza	152,200	bistro, tekoče	1
12,00	3,01	85,00	roza	136,700	bistro, tekoče	1
8,00	2,00	90,00	roza	107,650	bistro, tekoče	1
4,00	1,00	95,00	roza	62,150	bistro, tekoče	1
<b>70,04</b>	<b>29,96</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,502</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,53	28,46	5,00	modro	4,739	bistro, tekoče	1
63,02	26,96	10,02	modro	9,832	bistro, tekoče	1
59,52	25,46	15,01	roza	15,580	rahlo motno, tekoče	2
56,03	23,97	20,00	roza	22,550	belo, tekoče	2
52,53	22,47	25,00	roza	37,320	belo, tekoče	2
49,02	20,97	30,00	roza	57,170	belo, tekoče	2
45,52	19,47	35,01	roza	81,190	bistro, tekoče	1
42,02	17,98	40,00	roza	107,240	bistro, tekoče	1
38,52	16,48	44,99	roza	129,200	bistro, tekoče	1
35,02	14,98	50,00	roza	153,900	bistro, tekoče	1
31,52	13,48	55,00	roza	175,300	bistro, tekoče	1
28,01	11,98	60,00	roza	193,200	bistro, tekoče	1
24,51	10,48	65,00	roza	203,600	bistro, tekoče	1
21,01	8,99	70,00	roza	207,000	bistro, tekoče	1
17,51	7,49	75,00	roza	202,200	bistro, tekoče	1
14,01	5,99	80,00	roza	188,700	bistro, tekoče	1
10,51	4,49	85,00	roza	164,200	bistro, tekoče	1
7,00	3,00	90,00	roza	125,360	bistro, tekoče	1
3,50	1,50	95,00	roza	75,920	belo, tekoče	2
<b>59,99</b>	<b>39,98</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,764</b>	<b>bistra, tekoče</b>	
56,99	37,98	5,00	modro	5,896	bistra, tekoče	1
53,99	35,98	10,01	modro	11,911	bistra, tekoče	1
50,99	33,98	15,00	roza	17,540	belo, tekoče	2
48,00	31,99	19,98	roza	24,250	belo, tekoče	2
45,01	29,99	24,98	roza	38,560	belo, tekoče	2
42,01	27,99	29,98	roza	57,720	belo, tekoče	2
39,01	25,99	34,98	roza	87,580	belo, tekoče	2
36,00	23,99	39,99	roza	102,430	belo, tekoče	2
32,99	21,99	45,00	roza	148,800	belo, tekoče	2
30,00	19,99	50,00	roza	177,000	belo, tekoče	2
26,99	17,99	55,00	roza	200,800	belo, tekoče	2
24,00	15,99	60,00	roza	211,700	belo, tekoče	2
21,00	13,99	65,00	roza	230,600	belo, tekoče	2
18,00	12,00	70,00	roza	231,400	belo, tekoče	2
15,00	10,00	75,00	roza	236,100	belo, tekoče	2
12,00	8,00	80,00	roza	224,300	belo, tekoče	2

9,00	6,00	85,00	roza	184,500	belo, tekoče	2
6,00	4,00	90,00	roza	144,600	belo, tekoče	2
3,00	2,00	95,00	roza	84,900	belo, tekoče	2
<b>49,94</b>	<b>50,06</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,951</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,44	47,56	5,00	modro	6,403	bistro, tekoče	1
44,95	45,06	10,00	modro	14,010	bistro, tekoče	1
42,45	42,55	15,00	roza	17,500	belo, tekoče	2
39,95	40,05	20,00	roza	23,850	belo, tekoče	2
37,46	37,55	25,00	roza	63,000	belo, tekoče	2
34,96	35,04	30,00	roza	49,700	belo, tekoče	2
32,46	32,54	35,00	roza	75,500	belo, tekoče	2
29,96	30,04	40,00	roza	98,860	belo, tekoče	2
27,47	27,53	45,00	roza	124,610	belo, tekoče	2
24,97	25,03	50,00	roza	146,900	belo, tekoče	2
22,47	22,53	55,00	roza	164,900	belo, tekoče	2
19,98	20,02	60,00	roza	181,600	belo, tekoče	2
17,48	17,52	65,00	roza	193,000	belo, tekoče	2
14,98	15,02	70,00	roza	248,200	belo, tekoče	2
12,48	12,52	75,00	roza	278,600	belo, tekoče	2
9,99	10,01	80,00	roza	260,800	belo, tekoče	2
7,49	7,51	85,00	roza	217,000	belo, tekoče	2
4,99	5,01	90,00	roza	164,600	belo, tekoče	2
2,50	2,50	95,00	roza	92,840	belo, tekoče	2
<b>40,03</b>	<b>59,97</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,048</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,03	56,97	5,00	modro	7,483	bistro, tekoče	1
36,02	53,97	10,00	roza	15,790	bistro, tekoče	1
34,02	50,98	15,00	roza	18,420	belo, tekoče	2
32,02	47,98	20,00	roza	22,890	belo, tekoče	2
30,02	44,98	25,00	roza	30,760	belo, tekoče	2
28,02	41,98	30,00	roza	41,330	belo, tekoče	2
26,02	38,98	35,00	roza	54,030	belo, tekoče	2
24,02	35,98	40,00	roza	67,260	belo, tekoče	2
22,02	32,99	45,00	roza	79,630	belo, tekoče	2
20,02	29,99	50,00	roza	88,680	belo, tekoče	2
18,01	26,99	55,00	roza	97,220	belo, tekoče	2
16,01	23,99	60,00	roza	104,890	belo, tekoče	2
14,01	20,99	65,00	roza	114,900	belo, tekoče	2
12,01	17,99	70,00	roza	128,100	belo, tekoče	2
10,01	14,99	75,00	roza	243,100	belo, tekoče	2
8,01	11,99	80,00	roza	271,600	belo, tekoče	2
6,00	9,00	85,00	roza	236,900	belo, tekoče	2

4,00	6,00	90,00	roza	177,900	belo, tekoče	2
2,00	3,00	95,00	roza	102,220	belo, tekoče	2
<b>29,99</b>	<b>70,01</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,045</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,49	66,51	5,00	modro	6,809	bistro, tekoče	1
26,99	63,01	10,00	modro	16,090	bistro, tekoče	1
25,49	59,51	15,00	roza	16,640	belo, tekoče	2
23,99	56,01	20,00	roza	19,030	belo, tekoče	2
22,49	52,51	25,00	roza	21,830	belo, tekoče	2
20,99	49,01	30,00	roza	26,620	belo, tekoče	2
19,49	45,51	35,00	roza	31,810	belo, tekoče	2
17,99	42,01	40,00	roza	35,160	belo, tekoče	2
16,49	38,51	45,00	roza	38,540	belo, tekoče	2
14,99	35,01	50,00	roza	41,890	belo, tekoče	2
13,49	31,50	55,00	roza	45,840	belo, tekoče	2
12,00	28,00	60,00	roza	51,780	belo, tekoče	2
10,50	24,50	65,00	roza	56,310	belo, tekoče	2
9,00	21,00	70,00	roza	64,300	belo, tekoče	2
7,50	17,50	75,00	roza	278,800	belo, tekoče	2
6,00	14,00	80,00	roza	281,700	belo, tekoče	2
4,50	10,50	85,00	roza	263,000	belo, tekoče	2
3,00	7,00	90,00	roza	211,800	belo, tekoče	2
1,50	3,50	95,00	roza	114,270	belo, tekoče	2
<b>20,00</b>	<b>80,00</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,095</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,00	76,00	5,00	modro	7,592	bistro, tekoče	1
18,00	72,00	10,00	roza	16,310	motno, tekoče	2
17,00	68,00	15,00	roza	14,560	belo, tekoče	2
16,00	64,00	20,00	roza	15,060	belo, tekoče	2
15,00	60,00	25,00	roza	15,490	belo, tekoče	2
14,00	56,00	30,00	roza	16,310	belo, tekoče	2
13,00	52,00	35,00	roza	17,800	belo, tekoče	2
12,00	48,00	40,00	roza	18,770	belo, tekoče	2
11,00	44,00	45,00	roza	19,520	belo, tekoče	2
10,00	40,00	50,00	roza	20,270	belo, tekoče	2
9,00	36,00	55,00	roza	21,560	belo, tekoče	2
8,00	32,00	60,01	roza	25,100	belo, tekoče	2
7,00	28,00	65,00	roza	29,250	belo, tekoče	2
6,00	24,00	70,00	roza	44,320	belo, tekoče	2
5,00	20,00	75,00	roza	293,900	belo, tekoče	2
4,00	16,00	80,00	roza	356,600	belo, tekoče	2
3,00	12,00	85,00	roza	329,300	belo, tekoče	2
2,00	8,00	90,00	roza	253,500	belo, tekoče	2

1,00	4,00	95,00	roza	140,300	belo, tekoče	2
<b>10,06</b>	<b>89,94</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,954</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,55	85,45	5,00	roza	6,222	bistro, tekoče	1
9,05	80,95	10,00	roza	13,060	motno, tekoče	2
8,55	76,46	15,00	roza	11,250	belo, tekoče	2
8,05	71,96	20,00	roza	10,419	belo, tekoče	2
7,54	67,46	25,00	roza	9,974	belo, tekoče	2
7,04	62,97	30,00	roza	9,773	belo, tekoče	2
6,54	58,47	35,00	roza	9,589	belo, tekoče	2
6,03	53,97	40,00	roza	10,294	belo, tekoče	2
5,53	49,47	45,00	roza	11,139	belo, tekoče	2
5,03	44,98	50,00	roza	11,947	belo, tekoče	2
4,53	40,48	55,00	roza	13,100	belo, tekoče	2
4,02	35,98	60,01	roza	14,620	belo, tekoče	2
3,52	31,48	65,00	roza	286,600	belo, tekoče	2
3,02	26,98	70,00	roza	391,300	belo, tekoče	2
2,51	22,49	75,00	roza	438,600	belo, tekoče	2
2,01	17,99	80,00	roza	431,600	belo, tekoče	2
1,51	13,49	85,00	roza	333,900	belo, tekoče	2
1,01	8,99	90,00	roza	263,900	belo, tekoče	2
0,50	4,50	95,00	roza	147,100	belo, tekoče	2

*Preglednica X: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:*

*Tween® 20/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>89,90</b>	<b>10,09</b>	<b>0,00</b>	<b>moder</b>	<b>0,818</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
85,41	9,59	5,00	moder	2,883	bistro, tekoče	1
80,91	9,08	10,00	moder	5,773	bistro, tekoče	1
76,42	8,58	15,00	moder	9,401	bistro, tekoče	1
71,92	8,07	20,00	moder	19,110	bistro, tekoče	1
67,43	7,57	25,00	roza	28,750	bistro, tekoče	1
62,93	7,07	30,00	roza	39,660	bistro, tekoče	1
58,44	6,56	35,00	roza	49,850	bistro, tekoče	1
53,94	6,06	40,00	roza	55,610	bistro, tekoče	1
49,45	5,55	45,00	roza	56,080	ni popolnoma bistro	2
44,95	5,05	50,00	roza	98,770	ni popolnoma bistro	2
40,46	4,54	55,00	roza	113,780	rahlo belo	2
35,96	4,04	60,00	roza	126,210	rahlo motno	2

31,47	3,53	65,00	roza	162,500	bistro, tekoče	1
26,97	3,03	70,00	roza	186,000	bistro, tekoče	1
22,48	2,52	75,00	roza	190,600	bistro, tekoče	1
17,98	2,02	80,00	roza	188,900	bistro, tekoče	1
13,49	1,51	85,04	roza	172,700	bistro, tekoče	1
8,99	1,01	90,03	roza	147,300	bistro, tekoče	1
4,50	0,50	95,01	roza	106,210	bistro, tekoče	1
<b>80,02</b>	<b>19,98</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,899</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
76,02	18,98	5,00	modro	2,259	bistro, tekoče	1
72,02	17,98	10,00	modro	6,754	rahlo motno, tekoče	2
68,01	16,98	15,00	modro	11,774	motno, tekoče	2
64,01	15,98	20,00	modro	9,956	motno, tekoče	2
60,01	14,99	25,00	modro	15,230	belo, gosto	2
56,01	13,99	30,00	rahlo roza	28,200	belo, tekoče	2
52,01	12,99	35,00	roza	16,670	belo, tekoče	2
48,01	11,99	40,00	roza	53,580	belo, gosto tekoče	2
44,01	10,99	45,00	roza	70,670	belo, gosto tekoče	2
40,01	9,99	50,00	roza	78,280	belo, gosto tekoče	2
36,01	8,99	55,00	roza	105,900	belo, tekoče	2
32,01	7,99	60,00	roza	130,800	belo, tekoče	2
28,01	6,99	65,00	roza	217,500	bistro, tekoče	1
24,01	5,99	70,00	roza	220,800	bistro, tekoče	1
20,00	5,00	75,00	roza	223,000	bistro, tekoče	1
16,00	4,00	80,00	roza	211,400	bistro, tekoče	1
12,00	3,00	85,01	roza	167,100	bistro, tekoče	1
8,00	2,00	90,00	roza	166,000	bistro, tekoče	1
4,00	1,00	95,00	roza	113,510	bistro, tekoče	1
<b>69,76</b>	<b>30,24</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,382</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,27	28,73	5,00	modro	4,893	bistro, tekoče	1
62,78	27,22	10,00	modro	9,890	bistro, tekoče	1
59,29	25,71	15,00	roza	19,640	bistro, tekoče	1
55,81	24,19	20,00	roza	32,750	bistro, tekoče	1
52,32	22,68	25,00	roza	51,820	bistro, tekoče	1
48,83	21,17	30,00	roza	72,710	bistro, tekoče	1
45,34	19,66	35,00	roza	97,800	bistro, tekoče	1
41,86	18,15	40,00	roza	111,070	bistro, tekoče	1
38,37	16,63	45,00	roza	122,000	bistro, tekoče	1
34,88	15,12	50,00	roza	191,400	bistro, tekoče	1
31,39	13,61	55,00	roza	194,200	bistro, tekoče	1
27,90	12,10	60,00	roza	218,030	bistro, tekoče	1
24,41	10,59	65,00	roza	263,700	bistro, tekoče	1



20,93	9,07	70,00	roza	272,800	bistro, tekoče	1
17,44	7,56	75,00	roza	270,500	bistro, tekoče	1
13,95	6,05	80,00	roza	259,100	motno, modrikasto	2
10,46	4,54	85,00	roza	167,100	motno, modrikasto	2
6,98	3,02	90,00	roza	144,000	motno, belo	2
3,49	1,51	95,00	roza	122,890	motno, belo	2
<b>60,09</b>	<b>39,91</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,509</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
57,08	37,92	5,00	modro	5,220	bistro, tekoče	1
54,08	35,92	10,00	modro	10,087	bistro, tekoče	1
51,08	33,93	15,00	modro	22,190	bistro, tekoče	1
48,07	31,93	20,00	rahlo roza	39,090	bistro, tekoče	1
45,07	29,94	25,00	roza	58,630	bistro, tekoče	1
42,06	27,94	30,00	roza	91,150	bistro, tekoče	1
39,06	25,94	35,00	roza	136,000	bistro, tekoče	1
36,05	23,95	40,00	roza	156,500	bistro, tekoče	1
33,05	21,95	45,00	roza	186,000	bistro, tekoče	1
30,05	19,96	50,00	roza	206,700	bistro, tekoče	1
27,04	17,96	55,00	roza	263,130	bistro, tekoče	1
24,04	15,97	60,00	roza	287,970	bistro, tekoče	1
21,03	13,97	65,00	roza	291,200	bistro, tekoče	1
18,03	11,97	70,00	roza	322,000	bistro, tekoče	1
15,02	9,98	75,00	roza	314,800	bistro, tekoče	1
12,02	7,98	80,00	roza	290,800	motno, tekoče	2
9,01	5,99	85,00	roza	163,200	belo, tekoče	2
6,01	3,99	90,00	roza	153,800	belo, tekoče	2
3,00	2,00	95,00	roza	126,000	belo, tekoče	2
<b>49,94</b>	<b>50,06</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,672</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,44	47,56	5,00	modro	5,414	bistro, tekoče	1
44,94	45,05	10,00	roza	14,190	bistro, tekoče	1
42,44	42,55	15,00	roza	21,430	bistro, tekoče	1
39,95	40,05	20,00	roza	44,230	bistro, tekoče	1
37,45	37,54	25,01	roza	69,825	bistro, tekoče	1
34,95	35,04	30,00	roza	99,960	bistro, tekoče	1
32,46	32,54	35,00	roza	134,400	bistro, tekoče	1
29,96	30,04	40,00	roza	160,650	bistro, tekoče	1
27,46	27,53	45,00	roza	218,400	bistro, tekoče	1
24,97	25,03	50,00	roza	227,300	bistro, tekoče	1
22,47	22,53	55,00	roza	307,700	motno, tekoče	2
19,97	20,02	60,00	roza	317,700	motno, tekoče	2
17,48	17,52	65,00	roza	338,650	motno, tekoče	2
14,98	15,02	70,00	roza	369,400	motno, tekoče	2

12,48	12,51	75,00	roza	353,500	motno, tekoče	2
9,99	10,01	80,00	roza	323,300	bistro, tekoče	1
7,49	7,51	85,00	roza	268,200	bistro, tekoče	1
4,99	5,01	90,00	roza	213,500	motno, tekoče	2
2,50	2,50	95,00	roza	134,500	belo, tekoče	2
<b>39,92</b>	<b>60,08</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,889</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
37,92	57,08	5,00	ralo roza	6,617	bistro, tekoče	1
35,93	54,08	10,00	roza	13,060	bistro, tekoče	1
33,93	51,07	15,00	roza	20,910	bistro, tekoče	1
31,93	48,07	20,00	roza	41,220	bistro, tekoče	1
29,94	45,06	25,00	roza	66,100	bistro, tekoče	1
27,94	42,06	30,00	roza	100,800	bistro, tekoče	1
25,95	39,05	35,00	roza	119,580	bistro, tekoče	1
23,95	36,05	40,00	roza	179,800	bistro, tekoče	1
21,95	33,04	45,00	roza	159,200	motno, tekoče	2
19,96	30,04	50,00	roza	97,370	motno, se gosti	2
17,96	27,04	55,00	roza	62,340	belo, gosto	2
15,97	24,03	60,00	roza	50,530	belo, gosto	2
13,97	21,03	65,00	roza	80,080	belo, tekoče	2
11,98	18,02	70,00	roza	104,830	belo, tekoče	2
9,98	15,02	75,00	roza	121,400	belo, tekoče	2
7,98	12,02	80,00	roza	134,200	belo, tekoče	2
5,99	9,01	85,00	roza	116,450	belo, tekoče	2
3,99	6,01	90,00	roza	95,740	belo, tekoče	2
2,00	3,00	95,00	roza	101,480	belo, tekoče	2
<b>30,01</b>	<b>69,99</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,879</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,51	66,49	5,00	modro	6,470	bistro, tekoče	1
27,01	62,99	10,00	roza	16,010	bistro, tekoče	1
25,51	59,49	15,00	roza	26,840	motno, tekoče	2
24,01	55,99	20,00	roza	36,850	motno, tekoče	2
22,51	52,49	25,00	roza	47,820	belo, tekoče	2
20,07	46,81	33,12	roza	58,480	belo, tekoče	2
18,70	43,61	37,70	roza	68,790	belo, tekoče	2
17,31	40,38	42,31	roza	70,000	belo, tekoče	2
15,92	37,13	46,95	roza	95,810	belo, gosteje	2
14,52	33,87	51,61	roza	64,930	belo, gosteje	2
13,11	30,58	56,31	roza	20,270	belo, gosto	2
11,69	27,27	61,04	roza	37,990	belo, gosto	2
10,26	23,94	65,80	roza	40,210	belo, gosto	2
8,83	20,59	70,59	roza	40,760	belo, redkeje	2
7,38	17,21	75,41	roza	40,640	belo, redkeje	2

5,92	13,81	80,26	roza	33,500	belo, redko	2
4,44	10,36	85,00	roza	23,730	belo, redko	2
2,96	6,91	90,00	roza	31,430	belo, redko	2
1,48	3,45	95,00	roza	58,730	belo, redko	2
<b>20,12</b>	<b>79,88</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,906</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,11	75,88	5,00	modro	6,568	bistro, tekoče	1
18,11	71,89	10,00	rahlo roza	15,240	bistro, tekoče	1
17,10	67,90	15,00	roza	18,590	belo, tekoče	2
16,10	63,91	20,00	roza	22,310	belo, tekoče	2
15,09	59,91	25,00	roza	22,920	belo, tekoče	2
14,08	55,92	30,00	roza	21,860	belo, tekoče	2
13,08	51,92	35,00	roza	19,660	belo, tekoče	2
12,07	47,93	40,00	roza	34,970	belo, gosteje	2
11,07	43,93	45,00	roza	36,070	belo, gosteje	2
10,06	39,94	50,00	roza	25,740	belo, gosteje	2
9,05	35,95	55,00	roza	20,300	belo, tekoče	2
8,05	31,95	60,00	roza	53,410	belo, tekoče	2
7,04	27,96	65,00	roza	58,610	belo, tekoče	2
6,04	23,96	70,00	roza	66,730	belo, tekoče	2
5,03	19,97	75,00	roza	91,870	belo, tekoče	2
4,02	15,98	80,00	roza	220,000	belo, tekoče	2
3,02	11,98	85,00	roza	204,150	belo, tekoče	2
2,01	7,99	90,00	roza	143,300	belo, tekoče	2
1,01	3,99	95,00	roza	73,870	belo, tekoče	2
<b>10,22</b>	<b>89,78</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,721</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,71	85,30	5,00	rahlo roza	6,643	bistro, tekoče	1
9,20	80,81	10,00	roza	10,579	motno, tekoče	2
8,68	76,32	15,00	roza	12,273	belo, tekoče	2
8,17	71,83	20,00	roza	11,407	belo, tekoče	2
7,66	67,34	25,00	roza	10,334	belo, tekoče	2
7,15	62,85	30,00	roza	8,831	belo, tekoče	2
6,64	58,36	35,00	roza	8,238	belo, tekoče	2
6,13	53,87	40,00	roza	8,880	belo, tekoče	2
5,62	49,38	45,00	roza	13,390	belo, tekoče	2
5,11	44,89	50,00	roza	17,890	belo, tekoče	2
4,60	40,40	55,00	roza	16,540	belo, tekoče	2
4,09	35,91	60,00	roza	376,600	belo, tekoče	2
3,58	31,42	65,00	roza	318,120	belo, tekoče	2
3,07	26,93	70,00	roza	400,100	belo, tekoče	2
2,55	22,45	75,00	roza	314,350	belo, tekoče	2
2,04	17,96	80,00	roza	331,500	belo, tekoče	2

1,53	13,47	85,00	roza	284,500	belo, tekoče	2
1,02	8,98	90,00	roza	215,800	belo, tekoče	2
0,51	4,49	95,00	roza	97,090	belo, tekoče	2

*Preglednica XI: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:*

*Tween® 20/lecitin/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E+KoE (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>89,63</b>	<b>10,37</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>		<b>rumeno, gel</b>	
85,15	9,85	5,00	modro		belo, gosto	2
80,67	9,33	10,00	modro		belo, gosto	2
76,19	8,81	15,00	modro		belo, gosto	2
71,71	8,29	20,00	modro		belo, gosto	2
67,23	7,78	25,00	roza		belo, gosto	2
62,74	7,26	30,00	roza		belo, gosto	2
58,26	6,74	35,00	roza		belo, gosto	2
53,78	6,22	40,00	roza		belo, gosto	2
49,30	5,70	45,00	roza		belo, gosto	2
44,81	5,18	50,00	roza		belo, gosto	2
40,33	4,67	55,00	roza		belo, gosto	2
35,85	4,15	60,00	roza		belo, bolj tekoče	2
31,37	3,63	65,00	roza		belo, bolj tekoče	2
26,89	3,11	70,00	roza	0,000	belo, bolj tekoče	2
22,41	2,59	75,00	roza	0,000	belo, bolj tekoče	2
17,93	2,07	80,00	roza	67,310	belo, tekoče	2
13,44	1,56	85,00	roza	67,520	belo, tekoče	2
8,96	1,04	90,00	roza	55,860	belo, tekoče	2
4,48	0,52	95,00	roza	37,280	belo, tekoče	2
<b>79,98</b>	<b>20,03</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>		<b>rumeno, gosto</b>	
75,98	19,03	5,00	modro		rumeno, gosto	2
71,98	18,03	10,00	modro		belo, gosto	2
67,98	17,02	15,00	modro		belo, gosto	2
63,98	16,02	20,00	modro		belo, gosto	2
59,99	15,02	25,00	modro		belo, gosto	2
55,99	14,02	30,00	roza		belo, gosto	2
51,99	13,02	35,00	roza		belo, gosto	2
47,99	12,02	40,00	roza		belo, gosto	2
43,99	11,02	45,00	roza		belo, gosto	2
39,99	10,01	50,00	roza		belo, gosto	2

35,99	9,01	55,00	roza		belo, manj gosto	2
31,99	8,01	60,00	roza		belo, manj gosto	2
27,99	7,01	65,00	roza	24,720	belo, manj gosto	2
23,99	6,01	70,00	roza	27,170	belo, redko	2
19,99	5,01	75,00	roza	28,070	belo, redko	2
16,00	4,01	80,00	roza	34,270	belo, redko	2
12,00	3,00	85,00	roza	35,790	belo, redko	2
8,00	2,00	90,00	roza	35,560	belo, redko	2
4,00	1,00	95,00	roza	29,030	belo, redko	2
<b>69,80</b>	<b>30,20</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,344</b>	<b>rumeno, tekoče</b>	
66,31	28,69	5,00	modro		transparentno, gel	1
62,83	27,18	10,00	modro	5,243	motno, bolj tekoče	2
59,33	25,67	15,00	roza	8,071	motno, tekoče	2
55,84	24,16	20,00	roza	11,332	belo, tekoče	2
52,35	22,65	25,00	roza	18,210	belo, gosteje	2
48,86	21,14	30,00	roza	17,077	belo, gosteje	2
45,37	19,63	35,00	roza	18,470	motno, gel	2
41,88	18,12	40,00	roza	11,790	motno, gel	2
38,39	16,61	45,00	roza	12,550	motno, gel	2
34,90	15,10	50,00	roza		motno, gel	2
31,41	13,59	55,00	roza		motno, gel	2
27,92	12,08	60,00	roza	13,410	belo, gel	2
24,43	10,57	65,00	roza	12,150	belo, gel	2
20,94	9,06	70,00	roza	12,160	belo, gel	2
17,44	7,54	75,02	roza	12,030	belo, redko	2
13,96	6,04	80,00	roza	30,630	belo, redko	2
10,47	4,53	85,00	roza	32,300	belo, redko	2
6,98	3,02	90,00	roza	29,710	belo, redko	2
3,49	1,51	95,00	roza	25,540	belo, redko	2
<b>59,73</b>	<b>40,27</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,557</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
56,74	38,26	5,00	modro	1,869	bistro, tekoče	1
53,75	36,24	10,00	roza	7,037	bistro, tekoče	1
50,77	34,23	15,00	roza	11,723	bistro, tekoče	1
47,78	32,22	20,00	roza	16,520	bistro, tekoče	1
44,80	30,20	25,00	roza	20,090	bistro, tekoče	1
41,81	28,19	30,00	roza	25,820	motno, gosteje	2
38,82	26,18	35,00	roza	43,390	motno, gosteje	2
35,84	24,16	40,00	roza	31,180	motno, gosteje	2
32,85	22,15	45,00	roza	16,530	motno, gosteje	2
29,86	20,14	50,00	roza	12,842	motno, gosteje	2
26,88	18,12	55,00	roza		motno, gosteje	2

23,89	16,11	60,00	roza		motno, gosteje	2
20,91	14,10	65,00	roza		motno, gosteje	2
17,92	12,08	70,00	roza	15,170	motno, redkeje	2
14,93	10,07	75,00	roza	24,830	motno, redkeje	2
11,95	8,05	80,00	roza	22,670	motno, redkeje	2
8,96	6,04	85,00	roza	21,300	belo, redko	2
5,97	4,03	90,00	roza	24,120	belo, redko	2
2,99	2,01	95,00	roza	23,730	belo, redko	2
<b>49,97</b>	<b>50,03</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,994</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,47	47,53	5,00	modro	1,621	bistro, tekoče	1
44,97	45,03	10,00	modro	7,294	bistro, tekoče	1
42,47	42,52	15,00	roza	13,780	bistro, tekoče	1
39,98	40,02	20,00	roza	16,080	bistro, tekoče	1
37,48	37,52	25,00	roza	20,200	bistro, tekoče	1
34,98	35,02	30,00	roza	28,860	motno, tekoče	2
32,48	32,52	35,00	roza	13,860	motno, gosteje	2
29,98	30,02	40,00	roza	49,840	motno, gosteje	2
27,48	27,52	45,00	roza	46,970	motno, gosteje	2
24,99	25,01	50,00	roza	30,220	motno, gosto	2
22,49	22,51	55,00	roza	18,920	motno, gosto	2
19,99	20,01	60,00	roza	13,320	motno, gosto	2
17,49	17,51	65,00	roza	20,760	motno, gosto	2
14,99	15,01	70,00	roza	22,460	motno, gosto	2
12,49	12,51	75,00	roza	24,560	motno, gosto	2
9,99	10,01	80,00	roza	18,940	belo, redko	2
7,50	7,50	85,00	roza	22,760	belo, redko	2
5,00	5,00	90,00	roza	29,890	belo, redko	2
2,50	2,50	95,00	roza	32,540	belo, redko	2
<b>40,13</b>	<b>59,87</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,574</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,12	56,88	5,00	modro	5,032	bistro, tekoče	1
36,11	53,89	10,00	modro	11,907	bistro, tekoče	1
34,11	50,89	15,00	roza	15,710	bistro, tekoče	1
32,10	47,90	20,00	roza	13,510	bistro, tekoče	1
30,10	44,91	25,00	roza	11,386	bistro, tekoče	1
28,09	41,91	30,00	roza	9,330	bistro, tekoče	1
26,08	38,92	35,00	roza	8,102	bistro, tekoče	1
24,08	35,92	40,00	roza	4,419	motno, tekoče	2
22,07	32,93	45,00	roza	26,360	motno, gosteje	2
20,06	29,94	50,00	roza	43,490	motno, gosteje	2
18,06	26,94	55,00	roza	32,880	motno, gosteje	2
16,05	23,95	60,00	roza	20,310	belo, redkeje	2

14,04	20,96	65,00	roza	31,220	belo, redkeje	2
12,04	17,96	70,00	roza	36,180	belo, redkeje	2
10,03	14,97	75,00	roza	39,500	belo, redkeje	2
8,03	11,97	80,00	roza	110,090	belo, redkeje	2
6,02	8,98	85,00	roza	151,300	belo, redkeje	2
4,01	5,99	90,00	roza	128,500	belo, redkeje	2
2,01	2,99	95,00	roza	71,000	belo, redkeje	2
<b>30,07</b>	<b>69,93</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,864</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,57	66,43	5,00	modro	5,689	bistro, tekoče	1
27,07	62,93	10,00	modro	11,970	bistro, tekoče	1
25,56	59,44	15,00	modro	13,420	motno, tekoče	2
24,06	55,94	20,00	roza	10,655	motno, tekoče	2
22,55	52,45	25,00	roza	7,269	motno, tekoče	2
21,05	48,95	30,00	roza	4,853	motno, gosteje	2
19,55	45,45	35,00	roza	3,562	motno, gosteje	2
18,04	41,96	40,00	roza	3,330	belo, gosteje	2
16,54	38,46	45,00	roza	3,587	belo, gosteje	2
15,04	34,96	50,00	roza	59,880	belo, redko	2
13,53	31,47	55,00	roza	142,500	belo, redko	2
12,03	27,97	60,00	roza	167,200	belo, redko	2
10,53	24,47	65,00	roza	246,300	belo, redko	2
9,02	20,98	70,00	roza	262,500	belo, redko	2
7,52	17,48	75,00	roza	268,500	belo, redko	2
6,01	13,99	80,00	roza	238,700	belo, redko	2
4,51	10,49	85,00	roza	216,500	belo, redko	2
3,01	6,99	90,00	roza	185,600	belo, redko	2
1,50	3,50	95,00	roza	114,760	belo, redko	2
<b>20,17</b>	<b>79,83</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,057</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,16	75,84	5,00	modro	6,035	bistro, tekoče	1
18,15	71,84	10,00	roza	12,195	bistro, tekoče	1
17,15	67,85	15,00	roza	13,410	motno, tekoče	2
16,14	63,86	20,00	roza	11,121	motno, tekoče	2
15,13	59,87	25,01	roza	8,978	motno, tekoče	2
14,12	55,88	30,00	roza	7,290	belo, tekoče	2
13,11	51,89	35,00	roza	6,536	belo, tekoče	2
12,10	47,90	40,00	roza	6,431	belo, tekoče	2
11,09	43,91	45,00	roza	7,067	belo, tekoče	2
10,09	39,91	50,00	roza	7,934	belo, tekoče	2
9,08	35,92	55,00	roza	13,440	belo, tekoče	2
8,07	31,93	60,00	roza	239,500	belo, tekoče	2
7,06	27,94	65,00	roza	303,900	belo, tekoče	2

6,05	23,95	70,00	roza	326,350	belo, tekoče	2
5,04	19,96	75,00	roza	317,600	belo, tekoče	2
4,03	15,97	80,00	roza	314,800	belo, tekoče	2
3,03	11,97	85,00	roza	341,400	belo, tekoče	2
2,02	7,98	90,00	roza	247,900	belo, tekoče	2
1,01	3,99	95,00	roza	138,800	belo, tekoče	2
<b>9,96</b>	<b>90,04</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,989</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,46	85,54	5,00	modro	6,163	bistro, tekoče	1
8,96	81,04	10,00	roza	11,229	bistro, tekoče	1
8,47	76,54	15,00	roza	12,190	motno, tekoče	2
7,97	72,03	20,00	roza	10,962	belo, tekoče	2
7,47	67,53	25,00	roza	11,830	belo, tekoče	2
6,97	63,03	30,00	roza	9,336	belo, tekoče	2
6,47	58,53	35,00	roza	9,274	belo, tekoče	2
5,98	54,03	40,00	roza	9,310	belo, tekoče	2
5,48	49,52	45,00	roza	10,249	belo, tekoče	2
4,98	45,02	50,00	roza	13,260	belo, tekoče	2
4,48	40,52	55,00	roza	20,070	belo, tekoče	2
3,98	36,02	60,00	roza	302,950	belo, tekoče	2
3,49	31,52	65,00	roza	428,900	belo, tekoče	2
2,99	27,01	70,00	roza	445,000	belo, tekoče	2
2,49	22,51	75,00	roza	440,000	belo, tekoče	2
1,99	18,01	80,00	roza	415,350	belo, tekoče	2
1,49	13,51	85,00	roza	408,300	belo, tekoče	2
1,00	9,00	90,00	roza	284,900	belo, tekoče	2
0,50	4,50	95,00	roza	156,900	belo, tekoče	2

**Preglednica XII: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:**

*Tween® 20/Capryol™ 90/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E+KoE (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>90,04</b>	<b>9,96</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,924</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
85,54	9,46	5,00	modro	2,888	bistro, tekoče	1
81,04	8,96	10,00	rahlo roza	3,025	motno, tekoče	2
76,53	8,46	15,00	roza	3,765	motno, tekoče	2
72,03	7,97	20,00	roza	5,846	motno, tekoče	2
67,53	7,47	25,00	roza	13,100	motno, tekoče	2
63,03	6,97	30,00	roza	23,410	bistro, tekoče	1
58,53	6,47	35,00	roza	26,790	motno, tekoče	2



54,02	5,97	40,00	roza	18,990	belo, gel	2
49,52	5,48	45,00	roza	11,620	belo, gel	2
45,02	4,98	50,00	roza	6,190	belo, gel	2
40,52	4,48	55,00	roza	29,160	belo, tekoče	2
36,02	3,98	60,00	roza	38,530	belo, tekoče	2
31,51	3,49	65,00	roza	46,180	belo, tekoče	2
27,01	2,99	70,00	roza	60,400	belo, tekoče	2
22,51	2,49	75,00	roza	68,900	belo, tekoče	2
18,01	1,99	80,00	roza	74,720	belo, tekoče	2
13,51	1,49	85,00	roza	76,360	belo, tekoče	2
9,00	1,00	90,00	roza	76,600	belo, tekoče	2
4,50	0,50	95,00	roza	62,310	belo, tekoče	2
<b>79,90</b>	<b>20,10</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,291</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
75,91	19,09	5,00	rahlo roza	3,365	bistro, tekoče	1
71,91	18,09	10,00	roza	4,444	motno, tekoče	2
67,92	17,08	15,00	roza	5,210	motno, tekoče	2
63,92	16,08	20,00	roza	7,100	motno, tekoče	2
59,93	15,07	25,00	roza	14,840	motno, tekoče	2
55,93	14,07	30,00	roza	27,800	bistro, tekoče	1
51,94	13,06	35,00	roza	47,640	bistro, tekoče	1
47,94	12,06	40,00	roza	22,120	belo, gosto	2
43,95	11,05	45,00	roza	9,707	belo, gosto	2
39,95	10,05	50,00	roza	16,270	belo, gosto	2
35,96	9,04	55,00	roza	13,030	belo, gosto	2
31,96	8,04	60,00	roza	29,490	belo, gosto	2
27,97	7,03	65,00	roza	35,460	belo, gosto	2
23,97	6,03	70,00	roza	48,790	belo, redko	2
19,98	5,02	75,00	roza	54,730	belo, redko	2
15,98	4,02	80,00	roza	62,260	belo, redko	2
11,99	3,01	85,00	roza	59,310	belo, redko	2
7,99	2,01	90,00	roza	67,540	belo, redko	2
4,00	1,00	95,00	roza	60,080	belo, redko	2
<b>69,98</b>	<b>30,02</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,506</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,48	28,52	5,00	roza	4,402	bistro, tekoče	1
62,98	27,02	10,00	roza	5,271	motno, tekoče	2
59,48	25,52	15,00	roza	6,036	motno, tekoče	2
55,98	24,02	20,00	roza	7,786	belo, tekoče	2
52,48	22,52	25,00	roza	15,050	belo, tekoče	2
48,99	21,02	30,00	roza	27,510	bistro, tekoče	1
45,49	19,51	35,00	roza	33,710	motno, tekoče	2
41,99	18,01	40,00	roza	30,220	belo, gosto	2

38,49	16,51	45,00	roza	20,510	belo, gosto	2
34,99	15,01	50,00	roza	16,760	belo, gosto	2
31,49	13,51	55,00	roza	12,755	belo, gosto	2
27,99	12,01	60,00	roza	21,310	belo, gosto	2
24,49	10,51	65,00	roza	35,440	belo, redko	2
20,99	9,01	70,00	roza	43,270	belo, redko	2
17,49	7,51	75,00	roza	48,710	belo, redko	2
14,00	6,00	80,00	roza	59,040	belo, redko	2
10,50	4,50	85,00	roza	60,430	belo, redko	2
7,00	3,00	90,00	roza	64,780	belo, redko	2
3,50	1,50	95,00	roza	58,790	belo, redko	2
<b>60,03</b>	<b>39,97</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,663</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
57,02	37,98	5,00	modro	5,301	bistro, tekoče	1
54,02	35,98	10,00	modro	6,161	motno, tekoče	2
51,02	33,98	15,00	modro	6,793	motno, tekoče	2
48,02	31,98	20,00	modro	8,730	motno, tekoče	2
45,02	29,98	25,00	roza	11,726	belo, tekoče	2
42,02	27,98	30,00	roza	17,270	belo, tekoče	2
39,02	25,98	35,00	roza	25,030	belo, gosteje	2
36,01	23,98	40,00	roza	21,730	belo, gosteje	2
33,01	21,99	45,00	roza	14,670	belo, gosteje	2
30,01	19,99	50,00	roza	9,589	belo, gosteje	2
27,01	17,99	55,00	roza	16,070	belo, gosteje	2
24,01	15,99	60,00	roza	25,630	belo, gosteje	2
21,01	13,99	65,00	roza	27,670	belo, redko	2
18,01	11,99	70,00	roza	31,350	belo, redko	2
15,01	9,99	75,00	roza	34,450	belo, redko	2
12,00	7,99	80,00	roza	47,250	belo, redko	2
9,00	6,00	85,00	roza	51,590	belo, redko	2
6,00	4,00	90,00	roza	66,010	belo, redko	2
3,00	2,00	95,00	roza	56,670	belo, redko	2
<b>50,06</b>	<b>49,94</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,897</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,55	47,45	5,00	modro	5,492	bistro, tekoče	1
45,05	44,95	10,00	modro	6,969	motno, tekoče	2
42,55	42,45	15,00	roza	7,366	motno, tekoče	2
40,04	39,96	20,00	roza	8,627	motno, tekoče	2
37,54	37,46	25,00	roza	9,532	belo, tekoče	2
35,04	34,96	30,00	roza	11,990	belo, tekoče	2
32,53	32,46	35,00	roza	20,520	belo, tekoče	2
30,03	29,97	40,00	roza	26,790	belo, tekoče	2
27,53	27,47	45,00	roza	24,440	belo, tekoče	2

25,03	24,97	50,00	roza	21,300	belo, tekoče	2
22,52	22,47	55,00	roza	16,250	belo, tekoče	2
20,02	19,98	60,00	roza	11,821	belo, tekoče	2
17,52	17,48	65,00	roza	34,360	belo, tekoče	2
15,02	14,98	70,00	roza	38,050	belo, tekoče	2
12,51	12,49	75,00	roza	36,790	belo, tekoče	2
10,01	9,99	80,00	roza	29,280	belo, tekoče	2
7,51	7,49	85,00	roza	26,910	belo, tekoče	2
5,01	4,99	90,00	roza	60,150	belo, tekoče	2
2,50	2,50	95,00	roza	63,440	belo, tekoče	2
<b>40,04</b>	<b>59,96</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,995</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,03	56,97	5,00	modro	6,179	bistro, tekoče	1
36,03	53,97	10,00	roza	7,791	motno, tekoče	2
34,03	50,97	15,00	roza	7,724	belo, tekoče	2
32,03	47,97	20,01	roza	7,929	belo, tekoče	2
30,02	44,97	25,00	roza	8,442	belo, tekoče	2
28,02	41,97	30,00	roza	5,650	belo, tekoče	2
26,02	38,97	35,00	roza	14,850	belo, tekoče	2
24,02	35,98	40,00	roza	16,220	belo, tekoče	2
22,02	32,98	45,00	roza	20,640	belo, tekoče	2
20,02	29,98	50,00	roza	18,490	belo, tekoče	2
18,02	26,98	55,00	roza	16,290	belo, tekoče	2
16,01	23,98	60,00	roza	35,420	belo, tekoče	2
14,01	20,99	65,00	roza	38,910	belo, tekoče	2
12,01	17,99	70,00	roza	38,940	belo, tekoče	2
10,01	14,99	75,00	roza	33,350	belo, tekoče	2
8,01	11,99	80,00	roza	39,510	belo, tekoče	2
6,01	8,99	85,00	roza	38,620	belo, tekoče	2
4,00	6,00	90,00	roza	78,330	belo, tekoče	2
2,00	3,00	95,00	roza	63,750	belo, tekoče	2
<b>30,11</b>	<b>69,89</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,870</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,60	66,40	5,00	roza	6,288	bistro, tekoče	1
27,10	62,90	10,00	roza	8,075	motno, tekoče	2
25,59	59,41	15,00	roza	7,632	belo, tekoče	2
24,09	55,92	20,00	roza	7,252	belo, tekoče	2
22,58	52,42	25,00	roza	5,855	belo, tekoče	2
21,07	48,92	30,00	roza	5,647	belo, tekoče	2
19,57	45,43	35,00	roza	6,940	belo, tekoče	2
18,06	41,94	40,00	roza	7,057	belo, tekoče	2
16,56	38,44	45,00	roza	6,177	belo, tekoče	2
15,05	34,95	50,00	roza	4,035	belo, tekoče	2

13,55	31,45	55,00	roza	3,370	belo, tekoče	2
12,04	27,96	60,00	roza	65,330	belo, tekoče	2
10,54	24,46	65,00	roza	94,380	belo, tekoče	2
9,03	20,97	70,00	roza	155,500	belo, tekoče	2
7,53	17,47	75,00	roza	238,100	belo, tekoče	2
6,02	13,98	80,00	roza	231,900	belo, tekoče	2
4,52	10,48	85,00	roza	187,500	belo, tekoče	2
3,01	6,99	90,00	roza	135,900	belo, tekoče	2
1,51	3,49	95,00	roza	85,220	belo, tekoče	2
<b>20,03</b>	<b>79,97</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,942</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,02	75,98	5,00	modro	6,138	bistro, tekoče	1
18,02	71,98	10,00	roza	8,553	motno, tekoče	2
17,02	67,98	15,00	roza	7,056	belo, tekoče	2
16,02	63,98	20,00	roza	6,990	belo, tekoče	2
15,02	59,98	25,00	roza	5,584	belo, tekoče	2
14,02	55,98	30,00	roza	4,790	belo, tekoče	2
13,02	51,98	35,00	roza	4,168	belo, tekoče	2
12,02	47,98	40,00	roza	4,164	belo, tekoče	2
11,01	43,99	45,00	roza	4,125	belo, tekoče	2
10,01	39,99	50,00	roza	4,368	belo, tekoče	2
9,01	35,99	55,00	roza	7,868	belo, tekoče	2
8,01	31,99	60,00	roza	11,839	belo, tekoče	2
7,01	27,99	65,00	roza	333,200	belo, tekoče	2
6,01	23,99	70,00	roza	321,300	belo, tekoče	2
5,01	19,99	75,00	roza	271,400	belo, tekoče	2
4,01	15,99	80,00	roza	248,900	belo, tekoče	2
3,00	12,00	85,00	roza	222,100	belo, tekoče	2
2,00	8,00	90,00	roza	163,100	belo, tekoče	2
1,00	4,00	95,00	roza	115,400	belo, tekoče	2
<b>10,20</b>	<b>89,80</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,500</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,69	85,32	5,00	modro	5,532	bistro, tekoče	1
9,18	80,83	10,00	roza	7,987	motno, tekoče	2
8,67	76,33	15,00	roza	8,030	belo, tekoče	2
8,16	71,84	20,00	roza	7,066	belo, tekoče	2
7,65	67,35	25,00	roza	6,230	belo, tekoče	2
7,14	62,86	30,00	roza	5,867	belo, tekoče	2
6,63	58,37	35,00	roza	5,864	belo, tekoče	2
6,12	53,88	40,00	roza	6,218	belo, tekoče	2
5,61	49,39	45,00	roza	6,617	belo, tekoče	2
5,10	44,90	50,00	roza	7,284	belo, tekoče	2
4,59	40,41	55,00	roza	416,100	belo, tekoče	2

4,08	35,92	60,00	roza	444,200	belo, tekoče	2
3,57	31,43	65,00	roza	460,600	belo, tekoče	2
3,06	26,94	70,00	roza	458,800	belo, tekoče	2
2,55	22,45	75,00	roza	421,500	belo, tekoče	2
2,04	17,96	80,00	roza	376,300	belo, tekoče	2
1,53	13,47	85,00	roza	286,100	belo, tekoče	2
1,02	8,98	90,00	roza	236,900	belo, tekoče	2
0,51	4,49	95,00	roza	144,600	belo, tekoče	2

*Preglednica XIII: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:*

*Tween® 20/Solutol® HS-15/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E+KoE (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>89,79</b>	<b>10,21</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,794</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
85,30	9,70	5,00	modro	3,383	bistro, tekoče	1
80,81	9,19	10,00	modro	5,912	bistro, tekoče	1
76,32	8,68	15,00	roza	13,300	bistro, tekoče	1
71,83	8,17	20,00	roza	23,220	bistro, tekoče	1
67,34	7,66	25,00	roza	33,850	bistro, tekoče	1
62,85	7,15	30,00	roza	51,810	bistro, tekoče	1
58,36	6,64	35,00	roza	68,730	bistro, tekoče	1
53,87	6,13	40,00	roza	88,420	bistro, tekoče	1
49,38	5,62	45,00	roza	110,230	bistro, tekoče	1
44,89	5,11	50,00	roza	127,380	bistro, tekoče	1
40,40	4,60	55,00	roza	150,100	bistro, tekoče	1
35,92	4,09	60,00	roza	183,100	bistro, tekoče	1
31,43	3,58	65,00	roza	199,300	bistro, tekoče	1
26,94	3,06	70,00	roza	202,700	bistro, tekoče	1
22,45	2,55	75,00	roza	205,400	bistro, tekoče	1
17,96	2,04	80,00	roza	191,900	bistro, tekoče	1
13,47	1,53	85,00	roza	168,500	bistro, tekoče	1
8,98	1,02	90,00	roza	131,000	bistro, tekoče	1
4,49	0,51	95,00	roza	78,660	bistro, tekoče	1
<b>79,94</b>	<b>20,06</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,106</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
75,94	19,05	5,00	modro	4,166	bistro, tekoče	1
71,95	18,05	10,00	rahlo roza	8,236	bistro, tekoče	1
67,95	17,05	15,00	roza	17,670	bistro, tekoče	1
63,96	16,05	20,00	roza	26,960	bistro, tekoče	1
59,96	15,04	25,00	roza	47,370	bistro, tekoče	1

55,96	14,04	30,00	roza	64,240	bistro, tekoče	1
51,96	13,04	35,00	roza	92,760	bistro, tekoče	1
47,97	12,04	40,00	roza	120,780	bistro, tekoče	1
43,97	11,03	45,00	roza	151,200	bistro, tekoče	1
39,97	10,03	50,00	roza	184,200	bistro, tekoče	1
35,97	9,03	55,00	roza	203,300	bistro, tekoče	1
31,98	8,02	60,00	roza	235,100	bistro, tekoče	1
27,98	7,02	65,00	roza	244,400	bistro, tekoče	1
23,98	6,02	70,00	roza	247,500	bistro, tekoče	1
19,99	5,01	75,00	roza	241,200	bistro, tekoče	1
15,99	4,01	80,00	roza	224,100	bistro, tekoče	1
11,99	3,01	85,00	roza	192,000	bistro, tekoče	1
7,99	2,01	90,00	roza	148,800	bistro, tekoče	1
4,00	1,00	95,00	roza	86,910	bistro, tekoče	1
<b>70,05</b>	<b>29,95</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,223</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,54	28,45	5,00	modro	4,589	bistro, tekoče	1
63,04	26,96	10,00	modro	10,360	bistro, tekoče	1
59,54	25,46	15,00	modro	18,370	bistro, tekoče	1
56,04	23,96	20,00	roza	33,990	bistro, tekoče	1
52,54	22,46	25,00	roza	50,160	bistro, tekoče	1
49,03	20,97	30,00	roza	77,160	bistro, tekoče	1
45,53	19,47	35,00	roza	105,220	bistro, tekoče	1
42,03	17,97	40,00	roza	143,100	bistro, tekoče	1
38,53	16,47	45,00	roza	176,100	bistro, tekoče	1
35,02	14,98	50,00	roza	214,000	bistro, tekoče	1
31,52	13,48	55,00	roza	246,100	bistro, tekoče	1
28,02	11,98	60,00	roza	265,900	bistro, tekoče	1
24,52	10,48	65,00	roza	277,300	bistro, tekoče	1
21,01	8,99	70,00	roza	281,800	bistro, tekoče	1
17,51	7,49	75,00	roza	269,300	bistro, tekoče	1
14,01	5,99	80,00	roza	247,500	bistro, tekoče	1
10,51	4,49	85,00	roza	212,800	bistro, tekoče	1
7,00	3,00	90,00	roza	161,800	bistro, tekoče	1
3,50	1,50	95,00	roza	93,630	bistro, tekoče	1
<b>60,16</b>	<b>39,85</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,481</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
57,15	37,86	5,00	modro	5,364	bistro, tekoče	1
54,14	35,87	10,00	modro	12,467	bistro, tekoče	1
51,13	33,87	15,00	roza	22,430	bistro, tekoče	1
48,13	31,88	20,00	roza	38,030	bistro, tekoče	1
45,12	29,89	25,00	roza	62,400	bistro, tekoče	1
42,11	27,90	30,00	roza	93,790	bistro, tekoče	1

39,10	25,90	35,00	roza	134,800	bistro, tekoče	1
36,09	23,91	40,00	roza	181,300	bistro, tekoče	1
33,09	21,92	45,00	roza	224,700	bistro, tekoče	1
30,08	19,92	50,00	roza	262,800	bistro, tekoče	1
27,07	17,93	55,00	roza	294,400	bistro, tekoče	1
24,06	15,94	60,00	roza	318,800	bistro, tekoče	1
21,06	13,95	65,00	roza	329,200	bistro, tekoče	1
18,05	11,96	70,00	roza	328,100	bistro, tekoče	1
15,04	9,96	75,00	roza	315,300	bistro, tekoče	1
12,03	7,97	80,00	roza	282,600	bistro, tekoče	1
9,02	5,98	85,00	roza	240,900	bistro, tekoče	1
6,02	3,99	90,00	roza	181,800	bistro, tekoče	1
3,01	1,99	95,00	roza	106,030	bistro, tekoče	1
<b>49,91</b>	<b>50,09</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,584</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,41	47,59	5,00	modro	5,698	bistro, tekoče	1
44,92	45,08	10,00	modro	14,050	bistro, tekoče	1
42,42	42,58	15,00	roza	25,880	bistro, tekoče	1
39,93	40,07	20,00	roza	40,780	motno, tekoče	2
37,43	37,57	25,00	roza	61,990	motno, tekoče	2
34,94	35,06	30,00	roza	91,080	bistro, tekoče	1
32,44	32,56	35,00	roza	130,600	bistro, tekoče	1
29,95	30,05	40,00	roza	169,400	bistro, tekoče	1
27,45	27,55	45,00	roza	209,900	bistro, tekoče	1
24,95	25,05	50,00	roza	252,100	bistro, tekoče	1
22,46	22,54	55,00	roza	283,000	bistro, tekoče	1
19,96	20,04	60,00	roza	328,600	bistro, tekoče	1
17,47	17,53	65,00	roza	338,500	bistro, tekoče	1
14,97	15,03	70,00	roza	348,800	bistro, tekoče	1
12,48	12,52	75,00	roza	331,900	bistro, tekoče	1
9,98	10,02	80,00	roza	306,100	bistro, tekoče	1
7,49	7,51	85,00	roza	260,800	bistro, tekoče	1
4,99	5,01	90,00	roza	197,600	bistro, tekoče	1
2,50	2,50	95,00	roza	113,540	bistro, tekoče	1
<b>40,26</b>	<b>59,74</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,958</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,24	56,75	5,00	modro	6,494	bistro, tekoče	1
36,23	53,77	10,00	roza	15,490	bistro, tekoče	1
34,22	50,78	15,00	roza	26,380	motno, tekoče	2
32,21	47,80	20,00	roza	36,080	motno, tekoče	2
30,20	44,81	25,00	roza	49,900	belo, tekoče	2
28,18	41,82	30,00	roza	74,110	belo, tekoče	2
26,17	38,83	35,00	roza	101,680	belo, tekoče	2

24,16	35,85	40,00	roza	131,300	belo, tekoče	2
22,14	32,86	45,00	roza	165,500	belo, tekoče	2
20,13	29,87	50,00	roza	183,000	belo, tekoče	2
18,12	26,88	55,00	roza	212,600	motno, tekoče	2
16,10	23,90	60,00	roza	239,900	bistro, tekoče	1
14,09	20,91	65,00	roza	251,600	bistro, tekoče	1
12,08	17,92	70,00	roza	252,500	bistro, tekoče	1
10,06	14,94	75,00	roza	241,200	bistro, tekoče	1
8,05	11,95	80,00	roza	220,700	bistro, tekoče	1
6,04	8,96	85,00	roza	190,100	motno, tekoče	2
4,03	5,97	90,00	roza	146,900	belo, tekoče	2
2,01	2,99	95,00	roza	100,200	belo, tekoče	2
<b>29,76</b>	<b>70,24</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,248</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,27	66,73	5,00	modro	7,894	bistro, tekoče	1
26,78	63,22	10,00	rahlo roza	17,290	bistro, tekoče	1
25,29	59,71	15,00	roza	21,550	belo, tekoče	2
23,81	56,19	20,00	roza	27,390	belo, tekoče	2
22,32	52,68	25,00	roza	34,870	belo, tekoče	2
20,83	49,17	30,00	roza	41,190	belo, tekoče	2
19,34	45,66	35,00	roza	46,370	belo, tekoče	2
17,85	42,14	40,00	roza	52,340	belo, tekoče	2
16,37	38,63	45,00	roza	57,660	belo, tekoče	2
14,88	35,12	50,00	roza	62,130	belo, tekoče	2
13,39	31,61	55,00	roza	68,650	belo, tekoče	2
11,90	28,10	60,00	roza	83,420	belo, tekoče	2
10,42	24,58	65,00	roza	92,350	belo, tekoče	2
8,93	21,07	70,00	roza	154,100	belo, tekoče	2
7,44	17,56	75,00	roza	263,200	belo, tekoče	2
5,95	14,05	80,00	roza	302,800	belo, tekoče	2
4,46	10,54	85,00	roza	273,400	belo, tekoče	2
2,98	7,02	90,00	roza	198,500	belo, tekoče	2
1,49	3,51	95,00	roza	118,910	belo, tekoče	2
<b>20,05</b>	<b>79,95</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,204</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,05	75,95	5,00	modro	8,589	bistro, tekoče	1
18,05	71,95	10,00	rahlo roza	18,080	motno, tekoče	2
17,04	67,95	15,00	roza	17,540	belo, tekoče	2
16,04	63,96	20,00	roza	18,370	belo, tekoče	2
15,04	59,96	25,00	roza	18,600	belo, tekoče	2
14,04	55,96	30,00	roza	19,290	belo, tekoče	2
13,03	51,96	35,00	roza	18,460	belo, tekoče	2
12,03	47,97	40,00	roza	17,600	belo, tekoče	2



11,03	43,97	45,00	roza	17,180	belo, tekoče	2
10,03	39,97	50,00	roza	17,610	belo, tekoče	2
9,02	35,97	55,00	roza	18,390	belo, tekoče	2
8,02	31,98	60,00	roza	18,700	belo, tekoče	2
7,02	27,98	65,00	roza	27,690	belo, tekoče	2
6,02	23,98	70,00	roza	209,600	belo, tekoče	2
5,01	19,99	75,00	roza	277,800	belo, tekoče	2
4,01	15,99	80,00	roza	296,500	belo, tekoče	2
3,01	11,99	85,00	roza	307,400	belo, tekoče	2
2,01	7,99	90,00	roza	227,300	belo, tekoče	2
1,00	4,00	95,00	roza	135,300	belo, tekoče	2
<b>10,16</b>	<b>89,84</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,986</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,65	85,35	5,00	rahlo roza	7,135	bistro, tekoče	1
9,15	80,85	10,00	roza	12,760	motno, tekoče	2
8,64	76,36	15,00	roza	11,960	belo, tekoče	2
8,13	71,87	20,00	roza	11,486	belo, tekoče	2
7,62	67,38	25,00	roza	10,710	belo, tekoče	2
7,11	62,89	30,00	roza	10,377	belo, tekoče	2
6,61	58,39	35,00	roza	10,123	belo, tekoče	2
6,10	53,90	40,00	roza	10,298	belo, tekoče	2
5,59	49,41	45,00	roza	11,200	belo, tekoče	2
5,08	44,92	50,00	roza	11,450	belo, tekoče	2
4,57	40,43	55,00	roza	18,950	belo, tekoče	2
4,06	35,93	60,00	roza	318,500	belo, tekoče	2
3,56	31,44	65,00	roza	429,000	belo, tekoče	2
3,05	26,95	70,00	roza	446,100	belo, tekoče	2
2,54	22,46	75,00	roza	437,500	belo, tekoče	2
2,03	17,97	80,00	roza	427,400	belo, tekoče	2
1,52	13,48	85,00	roza	362,900	belo, tekoče	2
1,02	8,98	90,00	roza	275,300	belo, tekoče	2
0,51	4,49	95,00	roza	157,600	belo, tekoče	2

*Preglednica XIV: Sestava in opredelitev nastalih sistemov v sestavi:**Tween® 20/Cremophor® RH 40/Captex® 355/Capmul® MCM/voda.*

E+KoE (%)	Olje (%)	Voda (%)	Co-papir	Prevodnost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Izgled	Tip sistema
<b>89,52</b>	<b>9,98</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,689</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
85,07	9,49	4,97	roza	3,358	bistro, tekoče	1
80,61	8,99	9,96	roza	6,673	bistro, gosteje	1

76,15	8,49	14,94	roza	12,810	bistro, tekoče	1
71,69	8,00	19,92	roza	16,990	bistro, tekoče	1
67,22	7,50	24,91	roza	19,830	bistro, gosteje	1
62,76	7,00	29,90	roza	27,820	bistro, gosteje	1
58,29	6,50	34,89	roza	39,850	bistro, gosteje	1
53,82	6,00	39,88	roza	112,230	bistro, gosteje	1
49,35	5,50	44,88	roza	111,280	bistro, gosteje	1
44,87	5,00	49,88	roza	136,400	bistro, tekoče	1
40,39	4,51	54,88	roza	142,700	bistro, tekoče	1
35,92	4,01	59,88	roza	210,200	bistro, tekoče	1
31,43	3,51	64,89	roza	224,300	bistro, tekoče	1
26,95	3,01	69,90	roza	227,500	bistro, tekoče	1
22,46	2,51	74,91	roza	230,100	bistro, tekoče	1
17,98	2,00	79,92	roza	216,500	bistro, tekoče	1
13,48	1,50	85,00	roza	182,400	bistro, tekoče	1
8,99	1,00	90,00	roza	147,800	bistro, tekoče	1
4,49	0,50	95,00	roza	86,250	bistro, tekoče	1
<b>79,97</b>	<b>20,03</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>0,833</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
75,98	19,02	5,00	roza	2,302	bistro, tekoče	1
71,98	18,02	10,00	roza	9,048	bistro, tekoče	1
67,98	17,02	15,00	roza	8,876	bistro, tekoče	1
63,98	16,02	20,00	roza	27,970	bistro, tekoče	1
59,98	15,02	25,00	roza	35,250	bistro, tekoče	1
55,98	14,02	30,00	roza	67,570	bistro, tekoče	1
51,98	13,02	35,00	roza	53,990	bistro, tekoče	1
47,98	12,02	40,00	roza	62,940	bistro, tekoče	1
43,99	11,01	45,00	roza	65,410	bistro, tekoče	1
39,99	10,01	50,00	roza	172,400	bistro, tekoče	1
35,99	9,01	55,00	roza	102,220	bistro, tekoče	1
31,99	8,01	60,00	roza	199,770	bistro, tekoče	1
27,99	7,01	65,00	roza	201,700	bistro, tekoče	1
23,99	6,01	70,00	roza	275,100	bistro, tekoče	1
19,99	5,01	75,00	roza	266,500	bistro, tekoče	1
16,00	4,01	80,00	roza	247,300	bistro, tekoče	1
12,00	3,00	85,00	roza	206,600	bistro, tekoče	1
8,00	2,00	90,00	roza	162,100	bistro, tekoče	1
4,00	1,00	95,00	roza	92,230	bistro, tekoče	1
<b>69,97</b>	<b>30,03</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,362</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
66,47	28,53	5,00	modro	4,493	bistro, tekoče	1
62,98	27,03	10,00	roza	9,983	bistro, tekoče	1
59,48	25,52	15,00	roza	14,860	bistro, tekoče	1

55,98	24,02	20,00	roza	21,560	bistro, tekoče	1
52,48	22,52	25,00	roza	52,660	bistro, tekoče	1
48,98	21,02	30,00	roza	82,210	bistro, tekoče	1
45,48	19,52	35,00	roza	105,940	bistro, tekoče	1
41,98	18,02	40,00	roza	97,610	bistro, tekoče	1
38,48	16,52	45,00	roza	156,300	bistro, tekoče	1
34,99	15,01	50,00	roza	144,600	bistro, tekoče	1
31,49	13,51	55,00	roza	201,100	bistro, tekoče	1
27,99	12,01	60,00	roza	281,300	bistro, tekoče	1
24,49	10,51	65,00	roza	293,350	bistro, tekoče	1
20,99	9,01	70,00	roza	311,600	bistro, tekoče	1
17,49	7,51	75,00	roza	301,900	bistro, tekoče	1
13,99	6,01	80,00	roza	278,400	bistro, tekoče	1
10,50	4,50	85,00	roza	231,400	bistro, tekoče	1
7,00	3,00	90,00	roza	142,500	bistro, tekoče	1
3,50	1,50	95,00	roza	106,620	bistro, tekoče	1
<b>60,09</b>	<b>39,91</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,483</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
57,08	37,92	5,00	modro	3,804	bistro, tekoče	1
54,08	35,92	10,00	modro	10,592	bistro, tekoče	1
51,07	33,93	15,00	rahlo roza	25,560	bistro, tekoče	1
48,07	31,93	20,00	roza	45,520	bistro, tekoče	1
45,06	29,94	25,00	roza	67,090	bistro, tekoče	1
42,06	27,94	30,00	roza	113,570	bistro, tekoče	1
39,06	25,94	35,00	roza	162,300	bistro, tekoče	1
36,05	23,95	40,00	roza	215,800	bistro, tekoče	1
33,05	21,95	45,00	roza	199,700	bistro, tekoče	1
30,04	19,96	50,00	roza	297,800	bistro, tekoče	1
27,04	17,96	55,00	roza	297,300	bistro, tekoče	1
24,03	15,97	60,00	roza	277,200	bistro, tekoče	1
21,03	13,97	65,00	roza	362,500	bistro, tekoče	1
18,03	11,97	70,00	roza	356,200	bistro, tekoče	1
15,02	9,98	75,00	roza	322,000	bistro, tekoče	1
12,02	7,98	80,00	roza	311,100	bistro, tekoče	1
9,01	5,99	85,00	roza	254,300	bistro, tekoče	1
6,01	3,99	90,00	roza	191,600	bistro, tekoče	1
3,00	2,00	95,00	roza	112,610	bistro, tekoče	1
<b>50,10</b>	<b>49,90</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,768</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
47,60	47,41	5,00	roza	5,904	bistro, tekoče	1
45,09	44,91	10,00	roza	14,650	bistro, tekoče	1
42,59	42,42	15,00	roza	28,790	bistro, tekoče	1
40,08	39,92	20,00	roza	43,060	bistro, tekoče	1

37,58	37,43	25,00	roza	76,880	bistro, tekoče	1
35,07	34,93	30,00	roza	115,040	bistro, tekoče	1
32,56	32,43	35,00	roza	137,600	bistro, tekoče	1
30,06	29,94	40,00	roza	172,500	bistro, tekoče	1
27,55	27,44	45,00	roza	200,300	bistro, tekoče	1
25,05	24,95	50,00	roza	333,000	bistro, tekoče	1
22,54	22,45	55,00	roza	368,600	bistro, tekoče	1
20,04	19,96	60,00	roza	389,600	bistro, tekoče	1
17,54	17,47	65,00	roza	411,000	bistro, tekoče	1
15,03	14,97	70,00	roza	406,400	bistro, tekoče	1
12,53	12,48	75,00	roza	385,100	bistro, tekoče	1
10,02	9,98	80,00	roza	346,000	bistro, tekoče	1
7,52	7,48	85,00	roza	277,600	bistro, tekoče	1
5,01	4,99	90,00	roza	203,400	bistro, tekoče	1
2,51	2,49	95,00	roza	116,560	bistro, tekoče	1
<b>40,10</b>	<b>59,90</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>1,813</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
38,10	56,90	5,00	modro	6,196	bistro, tekoče	1
36,09	53,91	10,00	roza	15,000	bistro, tekoče	1
34,08	50,91	15,00	roza	21,680	motno, tekoče	2
32,08	47,92	20,00	roza	45,040	motno, tekoče	2
30,08	44,92	25,00	roza	68,170	motno, tekoče	2
28,07	41,93	30,00	roza	95,370	bistro, tekoče	1
26,07	38,93	35,00	roza	140,400	bistro, tekoče	1
24,06	35,94	40,00	roza	191,100	bistro, tekoče	1
22,06	32,94	45,00	roza	252,700	bistro, tekoče	1
20,05	29,95	50,00	roza	292,400	bistro, tekoče	1
18,05	26,96	55,00	roza	265,000	motno, tekoče	2
16,04	23,96	60,00	roza	199,100	motno, tekoče	2
14,04	20,97	65,00	roza	376,700	bistro, tekoče	1
12,03	17,97	70,00	roza	401,100	bistro, tekoče	1
10,03	14,98	75,00	roza	311,100	bistro, tekoče	1
8,02	11,98	80,00	roza	359,000	bistro, tekoče	1
6,02	8,98	85,00	roza	206,200	bistro, tekoče	1
4,01	5,99	90,00	roza	225,300	bistro, tekoče	1
2,01	2,99	95,00	roza	129,490	bistro, tekoče	1
<b>30,10</b>	<b>69,90</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,539</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
28,59	66,40	5,00	modro	8,174	bistro, tekoče	1
27,09	62,91	10,00	roza	15,710	bistro, tekoče	1
25,59	59,42	15,00	roza	26,220	motno, tekoče	2
24,08	55,92	20,00	roza	40,090	motno, tekoče	2
22,58	52,43	25,00	roza	48,570	belo, tekoče	2

21,07	48,93	30,00	roza	52,160	belo, tekoče	2
19,57	45,44	35,00	roza	63,630	belo, tekoče	2
18,06	41,94	40,00	roza	75,190	belo, tekoče	2
16,56	38,45	45,00	roza	88,290	belo, tekoče	2
15,05	34,95	50,00	roza	103,960	belo, tekoče	2
13,55	31,46	55,00	roza	118,750	belo, tekoče	2
12,04	27,96	60,00	roza	135,100	belo, tekoče	2
10,54	24,47	65,00	roza	146,900	belo, tekoče	2
9,03	20,97	70,00	roza	154,400	belo, tekoče	2
7,53	17,48	75,00	roza	164,700	belo, tekoče	2
6,02	13,98	80,00	roza	169,000	belo, tekoče	2
4,51	10,48	85,00	roza	162,200	belo, tekoče	2
3,01	6,99	90,00	roza	129,740	belo, tekoče	2
1,50	3,49	95,00	roza	90,160	belo, tekoče	2
<b>20,15</b>	<b>79,85</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,127</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
19,15	75,85	5,00	roza	6,912	bistro, tekoče	1
18,14	71,86	10,00	roza	15,820	bistro, tekoče	1
17,13	67,87	15,00	roza	17,130	belo, tekoče	2
16,12	63,87	20,01	roza	18,610	belo, tekoče	2
15,11	59,88	25,01	roza	17,880	belo, tekoče	2
14,11	55,89	30,00	roza	16,770	belo, tekoče	2
13,10	51,90	35,00	roza	15,150	belo, tekoče	2
12,09	47,90	40,00	roza	13,610	belo, tekoče	2
11,08	43,91	45,01	roza	12,560	belo, tekoče	2
10,08	39,92	50,01	roza	11,930	belo, tekoče	2
9,07	35,93	55,00	roza	13,520	belo, tekoče	2
8,06	31,94	60,00	roza	41,100	belo, tekoče	2
7,05	27,94	65,00	roza	154,700	belo, tekoče	2
6,05	23,95	70,00	roza	176,600	belo, tekoče	2
5,04	19,96	75,00	roza	172,000	belo, tekoče	2
4,03	15,97	80,00	roza	160,760	belo, tekoče	2
3,02	11,98	85,00	roza	152,000	belo, tekoče	2
2,02	7,98	90,00	roza	121,290	belo, tekoče	2
1,01	3,99	95,00	roza	92,840	belo, tekoče	2
<b>10,02</b>	<b>89,98</b>	<b>0,00</b>	<b>modro</b>	<b>2,180</b>	<b>bistro, tekoče</b>	
9,52	85,48	5,00	modro	6,996	bistro, tekoče	1
9,02	80,98	10,00	roza	11,071	motno, tekoče	2
8,52	76,48	15,00	roza	9,648	belo, tekoče	2
8,02	71,98	20,00	roza	9,781	belo, tekoče	2
7,52	67,48	25,00	roza	8,513	belo, tekoče	2
7,02	62,98	30,00	roza	7,728	belo, tekoče	2

6,51	58,49	35,00	roza	7,075	belo, tekoče	2
6,01	53,99	40,00	roza	7,020	belo, tekoče	2
5,51	49,49	45,00	roza	6,788	belo, tekoče	2
5,01	44,99	50,00	roza	7,584	belo, tekoče	2
4,51	40,49	55,00	roza	7,518	belo, tekoče	2
4,01	35,99	60,00	roza	9,428	belo, tekoče	2
3,51	31,49	65,00	roza	18,960	belo, tekoče	2
3,01	26,99	70,00	roza	299,700	belo, tekoče	2
2,51	22,49	75,00	roza	176,600	belo, tekoče	2
2,00	18,00	80,00	roza	337,900	belo, tekoče	2
1,50	13,50	85,00	roza	251,500	belo, tekoče	2
1,00	9,00	90,00	roza	180,200	belo, tekoče	2
0,50	4,50	95,00	roza	126,150	belo, tekoče	2