(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 312 176**

(51) Int. Cl.:
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **97910113 .6**
(96) Fecha de presentación : **09.10.1997**
(97) Número de publicación de la solicitud: **0984771**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **15.03.2000**

(54) Título: **Emulsiones y suspensiones supersaturadas de gas estabilizado.**

(30) Prioridad: **11.10.1996 US 730517**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2009

(73) Titular/es: **Wayne State University**
4031 F/AB, 656 West Kirby
Detroit, Michigan 48202, US

(72) Inventor/es: **Spears, J., Richard**

(74) Agente: **García-Cabrerizo y del Santo, Pedro María**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Emulsiones y suspensiones supersaturadas de gas estabilizado.

Campo técnico

Esta invención se refiere a un método para preparar una emulsión o suspensión supersaturada de gas, que es adecuada para suministrarla desde un entorno de elevada presión a un sitio desprovisto de gas sin la aparición inmediata de cavitación o burbujeo.

Técnica antecedente

La concentración máxima de gas que se puede conseguir en un líquido está determinada por la ley de Henry. La solubilidad relativamente baja a presión ambiente de muchos gases (por ejemplo, oxígeno o nitrógeno) dentro de un líquido tal como agua produce una baja concentración del gas en el líquido cuando estos se mezclan. Hay, sin embargo, muchas aplicaciones donde sería ventajoso emplear un gas en una mezcla líquida donde la concentración del gas dentro del líquido exceda en gran medida su solubilidad a presión ambiente.

La compresión a elevada presión de un líquido dentro de una emulsión líquida o de un sólido dentro de una suspensión líquida puede usarse para conseguir una concentración de gas disuelto mayor, pero la alteración de este líquido supersaturado con gas a través de la expulsión en un entorno de 1 bar desde el depósito a elevada presión generalmente provocará el inicio de cavitación en o cerca del acceso de salida. La rápida evolución de burbujas producidas en el acceso de salida descarga mucho del gas del líquido, de modo que el elevado grado de concentración de gas dentro del líquido está considerablemente reducido a las presiones ambientales fuera del recipiente de elevada presión. Además, la presencia de burbujas en el efluente genera turbulencia e impide el flujo del efluente más allá del acceso de salida.

Una amplia diversidad de aplicaciones se beneficiaría de la expulsión de un fluido supersaturado de gas desde un depósito de elevada presión en un entorno a presión ambiente de un modo que no implica inicio de cavitación en o cerca del acceso de salida. Por ejemplo, las corrientes de material orgánico y residuos vegetales - por ejemplo, fábricas de papel y plantas químicas - a menudo requieren un aumento del contenido de oxígeno disuelto antes de que estas corrientes se descarguen de forma segura en un cuerpo de agua. La Patente de Estados unidos Nº 4.965.022 reconoce que puede existir una necesidad similar en plantas de tratamiento de residuos municipales y que las piscifactorías requieren niveles de oxígeno disuelto aumentados para satisfacer las necesidades de la acuicultura de elevada densidad. Se describen otras aplicaciones en la Patente de Estados Unidos Nº 5.261.875.

Hay muchas referencias de la técnica anterior que describen métodos para enriquecer el contenido de oxígeno de agua. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 4.664.680 describe varios tipos convencionales de aparatos que pueden usarse para poner en contacto de forma continua corrientes líquidas y gaseosas que contienen oxígeno para realizar la absorción de oxígeno dentro del líquido. Específicamente, se usan pasadizos de flujo confinado presurizable para evitar la liberación prematura del oxígeno disuelto antes de que se incorpore dentro del fluido. Se describen otros dispositivos de saturación de oxígeno en las Patentes de Estados unidos Nº 4.874.509 y 4.973.558. Sin embargo, estas técnicas dejan sin resolver el problema de cómo expulsar las soluciones fluidas enriquecidas con gas desde un depósito de elevada presión en un entorno de menor presión sin la formación de burbujas en el efluente en o cerca del acceso de salida.

En una solicitud previa, el documento US 6.344.489, presentado el 3 de enero de 1996, describe un método para la expulsión de líquidos supersaturados de gas desde un entorno de elevada presión a uno de baja presión sin cavitación, que consiste en la extrusión del fluido a través de canales capilares y compresión para retirar los núcleos de cavitación a lo largo de la superficie interna de los canales. La compresión hidrostática a presiones entre 0,5 kbar y 1,0 kbar retira rápidamente los núcleos de cavitación y las burbujas del líquido. Cuando se usa una fuente de gas tanto para presurizar el líquido como para conseguir una concentración deseada de un gas relativamente insoluble en el líquido, generalmente es necesario mantener la presión del gas en el intervalo de 10 a 150 bar.

La ausencia completa de inicio de cavitación en agua saturada con oxígeno a elevadas concentraciones permite su infusión *in vivo* en sangre venosa o arterial para el propósito de aumentar la concentración de oxígeno de la sangre evitando al mismo tiempo la formación de burbujas que tienden a ocluir los capilares.

En contraste con esta técnica de canal capilar, la presente invención prescinde de la necesidad de comprimir los fluidos dentro de canales capilares, dependiendo, en su lugar, del uso de emulsiones y suspensiones supersaturadas de gas.

El documento US 5.438.041 describe emulsiones dobles de agua-en-aceite-en-agua que comprenden hemoglobina oxigenada disuelta en agua, pero no presenta una emulsión única de un líquido supersaturado de gas dentro de un segundo líquido de solubilidad gaseosa inferior, tal como un aceite. El documento US 5.407.425 describe un sistema cerrado para recoger y retransfundir sangre autóloga que implica entre otras cosas un fluido anticoagulante. El documento US 5.061.484 describe emulsiones que comprenden un compuesto perfluoroquímico en agua dentro de vesículas estabilizadas de un polímero. Este documento también muestra emulsiones que comprenden partículas

perfluoroquímicas recubiertas con lípidos oxigenados, pero no muestra supersaturación de una preparación perfluoroquímica líquida con gas como oxígeno. El documento US 4.366.169 describe un método para poner en contacto una herida con un material de carbono sustancialmente fluorado o un derivado mono- o dibromado del mismo que contiene oxígeno molecular. Además, el documento US 5.407.426 muestra la supersaturación de oxígeno en un líquido, pero también muestra que la solución es inestable a presiones ambientales.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un método para preparar una emulsión como se define en la reivindicación 1. Las realizaciones preferidas están caracterizadas en las reivindicaciones dependientes 2 a 20. Además, la presente invención se refiere a una emulsión formada por dicho método y el uso específico de dicha emulsión; consúltense las reivindicaciones 21 y 23.

Se describe un método para el uso de emulsiones o suspensiones para transportar un líquido supersaturado de oxígeno desde un depósito de elevada presión a un entorno de presión relativamente baja (incluyendo presión ambiente), sin inicio de cavitación inmediata.

Si se suspende un líquido que tiene una solubilidad gaseosa relativamente elevada (también conocido como la fase interna) en gotas finas dentro de otro líquido o semi-sólido inmiscible que tiene una solubilidad gaseosa relativamente baja (conocido como el vehículo o fase externa) puede conseguirse un elevado nivel de supersaturación del gas en la emulsión resultante después de su liberación a un entorno desprovisto de gas a presión ambiente. Asimismo, pueden suspenderse partículas sólidas dentro de un vehículo líquido para formar una suspensión con las mismas propiedades (a menos que se indique otra cosa, las descripciones para líquido en emulsiones líquidas también son ciertas para sólido en suspensiones líquidas). Los principales gases de interés para la formación de emulsiones supersaturadas de gas son oxígeno, nitrógeno, y dióxido de carbono.

El pequeño tamaño de las gotas o partículas junto con la exposición a una presión hidrostática elevada transitoria confiere estabilidad a las gotas o partículas de un modo similar al proporcionado por tubos capilares de pequeño diámetro. Generalmente, las gotas finas están entre aproximadamente 0,1 μm y aproximadamente 10 μm de diámetro. Por tanto, después de la liberación de la emulsión a un entorno de presión ambiente, el gas que se disuelve a elevados niveles de supersaturación no formará burbujas, a pesar de una concentración relativamente elevada del gas dentro de las gotas o partículas.

El vehículo de las gotas o partículas es estable a elevadas presiones parciales de gas a causa de la solubilidad gaseosa relativamente baja del vehículo así como la ausencia de núcleos gaseosos después de la compresión hidrostática. Un bajo coeficiente de difusión de gases en el vehículo provoca una liberación lenta, retardada del gas desde las gotas o partículas del vehículo así como desde la emulsión al entorno desprovisto de gas. A pesar de esta lenta liberación de gas desde la emulsión y la concentración relativamente baja de gas en el vehículo, la elevada presión parcial de gas en la emulsión crea un elevado gradiente de presión motriz entre la emulsión y las superficies con poco gas.

Como resultado de la ausencia de inicio de cavitación en o cerca del acceso de salida, puede usarse una corriente de la emulsión supersaturada de gas para enriquecer de forma rápida y eficaz un sitio privado de gas tal como un líquido por convección de la emulsión al sitio privado de gas. El enriquecimiento de un líquido privado de gas con gas por difusión desde la fase gaseosa al líquido es, por el contrario, un proceso extremadamente lento.

La ausencia de burbujas en el efluente permite adicionalmente la expulsión no impedida en el sitio desprovisto de gas. Cuando la emulsión supersaturada de gas se expulsa en un entorno de aire, la ausencia de inicio de cavitación en o cerca del acceso de salida permite que el efluente se comporte como si no estuviera supersaturado con gas. Es decir, la corriente expulsada permanece intacta en lugar de desintegrarse en una pulverización difusa cerca del acceso de salida debido al rápido crecimiento de núcleos gaseosos.

Las etapas básicas para formar la emulsión supersaturada de gas (se aplica el mismo método a la formación de una suspensión supersaturada de gas) son: preparar la emulsión; exponer la emulsión a un gas a una presión mayor de 2 bar; y suministrar la emulsión a un entorno desprovisto de gas a presión ambiente. Típicamente, la emulsión se expone al gas (el principal gas de interés es oxígeno) a una presión entre aproximadamente 5 bar y aproximadamente 20 bar. La emulsión podría mezclarse rápidamente (a aproximadamente 1.600 rpm, por ejemplo) durante varias horas durante su exposición al gas a presiones parciales entre 6,90 bar (100 psi) y 103,5 bar (1500 psi). Además, la emulsión podría suministrarse a una bomba hidrostática de elevada presión para aumentar adicionalmente la presión parcial del gas.

La emulsión se extruye en la salida de un recipiente presurizable a través de un tubo, que suministra la emulsión al entorno exterior a entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 ml por minuto.

Este tipo de emulsión puede usarse para suministrar de forma eficaz oxígeno a la piel, a heridas, o a otros entornos. En un contexto biológico, el elevado nivel de oxígeno conseguido en dichos tejidos por contacto de la emulsión con los tejidos debería ser de ayuda en una diversidad de vías, tales como síntesis de colágeno, inhibición del crecimiento de bacterias anaeróbicas, y promoción de metabolismo aeróbico. También puede usarse una emulsión de oxígeno supersaturada para oxigenar sangre para una diversidad de aplicaciones médicas. La emulsión se inyecta directamente en el torrente sanguíneo, aumentando de este modo el suministro de oxígeno a la sangre.

Descripción detallada de la realización preferida

Formación de la Emulsión

Para formar una emulsión, debe elegirse un líquido que se suspenderá en forma de gotas dentro de un vehículo así como el vehículo. El vehículo para la emulsión incluye cualquier líquido o semi-sólido que tenga una velocidad de difusión relativamente baja del gas a disolver. Se aplican las mismas técnicas a la formación de una suspensión de partículas dentro de un vehículo líquido.

En general, los líquidos caracterizados por elevada viscosidad y baja solubilidad gaseosa son los vehículos más eficaces, ya que estas propiedades tienden a aumentar la resistencia del líquido a la formación de burbujas. De forma ideal, la viscosidad del vehículo debe estar en el intervalo de 10^{-3} Pa·s (1 centipoise) a 10^{-2} Pa·s (10 centipoise). Los ejemplos de vehículos habitualmente usados incluyen glicerina, geles tales como hidrogel, vaselina, parafina, y ceras.

Las gelatinas también componen vehículos eficaces. Por ejemplo, se reticuló el 5-10% en peso de gelatinas en glutaraldehído para volverlas insolubles en agua, se expusieron a oxígeno a 10-20 bar, y posteriormente se comprimieron a elevadas presiones hidrostáticas (por ejemplo, de 0,5 a 10 kbar) durante aproximadamente una hora. Después de la liberación a presión hidrostática de 1 bar, se observó que no se formaban burbujas en la gelatina, y se mantuvo una pO_2 superficial > 2.000 mm de Hg durante periodos de al menos 20-30 minutos.

En contraste con el vehículo, las gotas líquidas o partículas sólidas que tienen que suspenderse en el vehículo deben tener elevada solubilidad gaseosa. Por ejemplo, pueden suspenderse gotas de compuesto perfluoroquímico (PFC) dentro de la gelatina añadiendo una solución de gelatina caliente a un concentrado de gotas de PFC, mezclando brevemente, y enfriando para realizar la solidificación. Con presión de oxígeno suficientemente elevada, las gotas de PFC absorberán una elevada concentración de oxígeno y mantendrán la estabilidad a 1 bar en virtud de su pequeño tamaño. Asimismo, la gelatina proporcionará una lenta velocidad de difusión de oxígeno desde las partículas y a través de la gelatina al sitio pobre en oxígeno. Uno de dichos entornos al que podría aplicarse esta suspensión es tejido biológico.

Además de la gota de PFC, otros materiales de gota que podrían usarse para proporcionar un depósito de oxígeno concentrado incluyen lípidos, liposomas, y aceites (incluyendo, la clase de aceites, aceites minerales, de coco, y vegetales), la mayoría de los cuales tienen una elevada solubilidad de oxígeno relativa a la del agua.

Las partículas sólidas útiles para preparar suspensiones de la presente invención están compuestas de polímeros. Se ha descubierto que estos polímeros absorben gases tales como oxígeno en condiciones de elevada presión y liberan los gases sin formación de burbujas después de la exposición a presión ambiente. Los polímeros preferidos incluyen poliacrilamida (en su forma no hidratada o hidratada), polipropileno, policarbonato, polietileno, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, policaprolactona, polietilenglicol, poliestireno, polisorbato, polimetilmetacrilato y copolímeros de los mismos. Preferiblemente, el tamaño de las partículas sólidas está dentro del intervalo de 0,1 a 10 μm.

Cualquier partícula o gota podría también estar micro o nano-encapsulada con un recubrimiento superficial semipermeable que controla adicionalmente la velocidad de difusión desde la partícula o gota al vehículo. La encapsulación puede conseguirse a través de técnicas bien conocidas tales como coacervación o deposición por vapor.

Para formar una emulsión, puede obtenerse una emulsión disponible en el mercado que comprende un líquido deseado suspendido en agua. Después de centrifugar esta emulsión y decantar el sobrenadante, las gotas deseadas pueden resuspenderse en un vehículo de elección. Asimismo, para formar una suspensión, puede centrifugarse una suspensión de partículas, decantar el sobrenadante, y resuspender las partículas en otro vehículo de elección.

Realización Preferida

El siguiente ejemplo se proporciona para ilustrar los anteriores principios. Se eligió la glicerina como vehículo a causa de su baja solubilidad de oxígeno ($7{,}9\cdot10^{-3}$ cm^3 O_2/g/bar) (0,008 cc O_2/g/atm.), viscosidad relativamente elevada, y baja velocidad de difusión de oxígeno. Además, es un líquido biocompatible, que permite de este modo la aplicación a la piel o a heridas. Se eligieron partículas perfluoroquímicas (PFC) para suspenderlas en el vehículo debido a su elevada solubilidad de oxígeno (0,493 cm^3 O_2/g/bar) (0,5 cc O_2/g/atm.), su capacidad inherente de formarse en partículas pequeñas (típicamente iguales a o menores de 0,5 μm), y su biocompatibilidad.

Para preparar la suspensión de PFC/glicerina, se centrifugaron suspensiones de PFC/agua disponibles en el mercado previamente preparadas. Las partículas de PFC en la parte inferior de los tubos de centrífuga se resuspendieron en glicerina después de decantar el sobrenadante.

La suspensión de PFC/glicerina (200 ml) se puso en un recipiente de reactor Parr de 300 ml de capacidad, y la suspensión se expuso a oxígeno a presiones parciales tan elevadas como de 34,5 a 103,5 bar (500 a 1500 psi) durante una rápida mezcla (a aproximadamente 1.600 rpm) con un agitador propulsor. Se requirieron elevadas presiones parciales de oxígeno para impulsar el oxígeno en la suspensión durante un periodo de muchas horas a causa de la lenta velocidad de difusión del oxígeno a través de la glicerina.

A pesar de las elevadas presiones parciales de oxígeno, se estimó que la presión parcial de oxígeno desarrollada en la suspensión después del anterior tratamiento y durante una noche de exposición a oxígeno a 20,7 bar (300 psi) (sin agitación) era de aproximadamente 10,13 bar (10 atm). Después de suministrar la suspensión a una bomba hidrostática de elevada presión Haskel a 69,0 bar (1000 psi) de presión parcial de oxígeno, la presión hidrostática aumentó hasta 827,6 bar (12.000 psi). En la salida de la bomba, se usó un tubo de acero inoxidable de 0,229 mm (0,009 pulgadas) de d.i. - de aproximadamente 100 cm de longitud - para suministrar la suspensión al entorno ambiental externo a un caudal de aproximadamente 0,2 ml/min.

No se formaron burbujas en la suspensión después de la extrusión de la suspensión en un vaso de precipitados de vidrio, tubo de ensayo de plástico, o piel (incluyendo la extensión manual de la suspensión sobre la piel de una mano).

Sin embargo, la pO_2 en la suspensión era aproximadamente 10 veces mayor que la observada en glicerina que se había expuesto solamente al aire, determinada con un electrodo de pO_2 de membrana de tipo polarográfica (fabricado por Diamond General, Ann Arbor). Alícuotas de 1 ml de la suspensión estaban en comunicación con una columna de mercurio para medir los cambios de volumen a 1 bar así como en contacto con una sonda de titanio prototipo (cuyo extremo distal estaba en contacto con la parte superior de la muestra líquida). La sonda se sedimentó dentro de la pipeta mediante un manguito que se había construido en el dispositivo en su nodo y pegado en el interior de un tubo que estaba comunicado con la pipeta. La sonda, accionada por un amplificador de 1500 vatios (fabricado por Sonics and Materials, Inc.), se usó para desgasificar la muestra líquida durante periodos de 1 minuto de sonicación.

Se descubrió que la suspensión contenía aproximadamente 1 ml de O_2/g. Como la suspensión habitualmente contiene aproximadamente 0,1 ml de O_2/g/bar en agua, y el volumen porcentual de PFC en la glicerina es similar a la existente en agua, la presión parcial del gas debe haber sido aproximadamente 10 bar.

Para determinar cuánto tiempo retiene la suspensión la elevada concentración de oxígeno, se repitió la medición de la concentración de oxígeno a 5, 10, 20, y 30 minutos después del suministro de la suspensión en un vaso de precipitados de 50 ml. Durante los primeros 10 minutos, solamente el 30% del oxígeno se perdía de la suspensión; sin embargo, en 30 minutos, la mayor parte del oxígeno se había difundido. Por tanto, es evidente que la difusión de oxígeno de la suspensión es bastante lenta, parcialmente como resultado de la naturaleza relativamente impermeable del vehículo.

Dosificación de la emulsión

Un dosificador simple para la emulsión cremosa rica en oxígeno puede constar de un diseño tipo jeringa, con depósito accionado por rotación manual de un pistón que avanza como un tornillo en la rosca, similar a la operación de “dispositivos de inflado” disponibles en el mercado usados para presurizar globos de elevada presión (tan elevada como 20,7 bar (300 psi)) en catéteres de angioplastia.

La compresión manual a al menos 20,7 bar (300 psi) se puede conseguir fácilmente, y una válvula en el extremo distal de la jeringa permitiría estrujarla desde la jeringa de un modo controlado. Después de dosificar una cantidad deseada de crema, se cerraría la llave de paso y se aplicaría presión adicional para mantener una presión hidrostática que igualara o excediera la presión parcial del gas disuelto. La jeringa estaría fabricada de materiales que son impermeables al oxígeno.

Debe observarse que hay una amplia diversidad de geometrías que podrían emplearse en o cerca del(de los) acceso(s) de salida que permitirían la expulsión de la emulsión supersaturada de gas libre de cavitación en un entorno a 1 bar desde un depósito de elevada presión. Por ejemplo, se ha descubierto que un tubo de vidrio de borosilicato cuadrado de 50 μm de diámetro funciona de forma tan eficaz como un tubo de vidrio redondo y como un tubo de acero inoxidable redondo de diámetro similar para este propósito. También se esperaría que una geometría rectangular o de tipo rendija que caracteriza los canales de suministro fuera eficaz.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una emulsión que comprende las etapas de:

a. preparar una emulsión; y

b. exponer la emulsión a un gas a una presión mayor de 2 bar, donde la emulsión comprende un primer líquido que tiene una elevada solubilidad gaseosa suspendido en gotas finas dentro de un segundo líquido que tiene una solubilidad gaseosa relativamente baja.

2. El método de la reivindicación 1, donde la emulsión se expone al gas a una presión entre aproximadamente 5 bar y aproximadamente 20 bar.

3. El método de la reivindicación 1, donde el gas es oxígeno.

4. El método de la reivindicación 1, donde las gotas finas tienen entre aproximadamente 0,1 μm y aproximadamente 10 μm de diámetro.

5. El método de la reivindicación 1, donde el primer líquido es un compuesto perfluoroquímico.

6. El método de la reivindicación 1, donde el primer líquido es un lípido o liposoma.

7. El método de la reivindicación 1, donde el primer líquido es un aceite.

8. El método de la reivindicación 7, donde el aceite es un aceite mineral, de coco, o vegetal.

9. El método de la reivindicación 1, donde el segundo líquido es glicerina.

10. El método de la reivindicación 1, donde el segundo líquido es un gel.

11. El método de la reivindicación 1, donde el segundo líquido es vaselina, parafina, o cera.

12. El método de la reivindicación 1, donde el segundo líquido es una gelatina del 5-10% en peso que se ha reticulado.

13. El método de la reivindicación 1, donde la emulsión comprende gotas perfluoroquímicas dentro del segundo líquido que comprende gelatina.

14. El método de la reivindicación 1, donde el gas es oxígeno.

15. El método de la reivindicación 1, donde la emulsión se prepara por las etapas de:

a. centrifugar una emulsión acuosa perfluoroquímica;

b. decantar el sobrenadante; y

c. resuspender las partículas perfluoroquímicas en un líquido que tiene una baja solubilidad gaseosa.

16. El método de la reivindicación 1, donde en la etapa b. el gas se disuelve en la emulsión exponiendo la emulsión al gas a elevadas presiones parciales durante varias horas durante la mezcla rápida.

17. El método de la reivindicación 1, donde en la etapa b. el oxígeno se disuelve en la emulsión exponiendo la emulsión a oxígeno a presiones parciales entre aproximadamente 6,90 bar (100 psi) y aproximadamente 103,5 bar (1.500 psi) durante la mezcla.

18. El método de la reivindicación 1, donde después de la etapa b. la emulsión se suministra a una bomba hidrostática de elevada presión para aumentar adicionalmente la presión parcial del gas.

19. El método de la reivindicación 1, donde la emulsión se extruye en la salida de un recipiente presurizado a través de un tubo, que suministra la emulsión al entorno externo a entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 ml por minuto.

20. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la emulsión se forma por las etapas de:

a. centrifugar una primera emulsión que comprende un primer líquido suspendido dentro de un segundo líquido;

b. separar sustancialmente el primer líquido del segundo líquido;

c. resuspender el primer líquido dentro de un tercer líquido para formar una segunda emulsión; y

d. exponer la segunda emulsión a un gas a presiones parciales entre aproximadamente 6,90 bar (100 psi) y aproximadamente 103,5 bar (1.500 psi) durante la mezcla.

21. Una emulsión formada por el método definido en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 20.

22. La emulsión de la reivindicación 21 que contiene un gas supersaturado que comprende un primer líquido con una elevada solubilidad gaseosa suspendido en gotas finas dentro de un segundo líquido que tiene una solubilidad gaseosa relativamente baja.

23. Uso de la emulsión de acuerdo con la reivindicación 21 ó 22 para la preparación de un medicamento para tratar una herida de tejido biológico o suministrar oxígeno a la piel para promover la síntesis de colágeno o para oxigenar la sangre.