

	UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA			
	Documento	Código	Fecha	Revisión
FORMATO HOJA DE RESUMEN PARA TRABAJO DE GRADO		FAC-DBL-007	10-04-2012	A
Dependencia		Aprobado		Pág.
DIVISIÓN DE BIBLIOTECA		SUBDIRECTOR ACADEMICO		i(82)

RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

AUTORES	PEDRO RENE HERNANDEZ VILLALBA		
FACULTAD	INGENIERÍAS		
PLAN DE ESTUDIOS	INGENIERÍA MECÁNICA		
DIRECTOR	EDER FLORES SOLANO		
TÍTULO DE LA TESIS	ENCAPSULACIÓN DE COMPLEJO B PARA FAVORECER LA BIOABSORCIÓN EN SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS		
RESUMEN (70 palabras aproximadamente)			
<p>ESTE PROYECTO PLANTEA EL DESARROLLO DE NANOCAPSULAS DE COMPLEJO B FORMADAS POR UNA BOMBA PERISTALTICA Y SUS DOS FACES ACUOSA Y ORGANICA PARA SU POSIBLE USO EN LA FABRICACIÓN DE SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS EN PASIENTES CON DIFICULTAD EN ABSORCION DE LAS VITAMINAS B, EL CUAL BRINDA MAYOR ABSORCION UTIL POR ENDE MEJORA LA CALIDAD DE VIDA DEL PACIENTE. SE ANALIZO LA CONCENTRACION DEL NANOCOMPUESTO MEDIANTE ENSAYOS ELEMENTALES QUE PERMITIERON REALIZAR ESTUDIOS PARA ESTABLECER LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y QUÍMICAS MÁS IMPORTANTES DEL COMPUESTO.</p>			
CARACTERÍSTICAS			
PÁGINAS:	PLANOS:	ILUSTRACIONES:	CD-ROM: 1

**ENCAPSULACIÓN DE COMPLEJO B PARA FAVORECER LA BIOABSORCIÓN
EN SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS**

AUTORES:

Pedro Rene Hernández Villalba

**Anteproyecto presentado como requisito para optar por el título de
Ingeniero Mecánico**

Director

**Eder Flores Solano
MsC. Ingeniería**

Asesor

**LINA MARCELA HOYOS PALACIO
I.Q. PhD.**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA MECÁNICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
INGENIERIA MECANICA**

Ocaña, Colombia

OCTUBRE, 2018

DEDICATORIA

pedro rene Hernández Villalba

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por sus infinitas bendiciones en el transcurso de nuestra carrera y por brindarnos la sabiduría para terminar con éxito este proyecto.

A mis padres que siempre me apoyaron y gracias a ellos pude realizar esto, a mi abuela ELBA TORRES que en paz descansé a mi esposa y a mi hijo por darme fuerzas para salir a delante

Al Magister Eder flores solano, director de tesis por sus asesorías, interés y acompañamiento en el desarrollo de este proyecto.

A la Doctora Lina Hoyos, asesora y amiga por su gran apoyo, consejos, indicaciones por el interés mostrado y acogernos con el mayor de los gustos y cariño en Medellín durante nuestra estadía, te amamos.

A mis profesores, Eder Flórez, Gustavo Guerrero, Jhon Arevalo, Malka Cabellos, Carolina Abril Carrascal, Juan Guillermo García, Alfredo Bohórquez, que de alguna forma estuvieron involucrados en esta importante etapa.

A la universidad Pontificia Bolivariana – Medellín por abrimos sus puertas y permitirnos hacer uso de sus laboratorios para realizar nuestra investigación.

A la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña y todos los docentes que hicieron parte de nuestra formación profesional y moral-

INDICE

Capítulo 1. Desarrollo de encapsulación de complejo b para favorecer la biabsorción en suplementos alimenticios	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema.....	3
1.3 Descripción del problema	4
1.4 objetivos	4
1.4.1 Objetivo general	4
1.4.2 Objetivos Específicos.	4
1.5 Justificación.....	5
1.6 Alcances	6
1.7 Delimitaciones.	6
1.7.1 Geográfica.	6
1.7.2 Conceptual.	7
1.7.3 Operativa.	7
1.7.4 Temporal	7
Capítulo 2. Marco de referencia	8
2.1 Marco histórico.....	8
2.1.1 Antecedentes a nivel mundial.....	8
2.1.2 Antecedentes a nivel nacional.	15
2.1.3 Antecedentes a nivel regional.....	16
2.2 Marco conceptual	16
2.2.1 COMPLEJO B	16
2.2.2 Vitamina B1.....	17
2.2.3 Vitamina B2.....	18
2.2.4 Vitamina B3.....	18
2.2.5 Vitamina B5.....	19
2.2.6 Vitamina B6.....	19
2.2.7 Vitamina B9.....	19
2.2.8 Vitamina B12.....	20
2.2.9 Absorción de complejo b en el cuerpo humano	25
2.2.10 Polímeros usados para transporte de moléculas	27
2.2.11 métodos de encapsulación	33
2.2.12 caracterización de nanocapsulas (SEM, STEM, DLS).....	37
2.2.13 Técnicas de liberación por uv.	40
2.3 Marco legal.....	41
Capítulo 3. Diseño metodológico	46
3.1 Tipo de investigación	46
3.2 Población	46
3.3 Muestra	46
3.4 Técnicas de recolección de información	47
3.5 Instrumentos de recolección de información.....	47
3.6 Fases del proyecto de investigación	48
Capítulo 4. Administración del proyecto.....	50

4.1 Selección de polímero para nanocapsulas	50
4.1.1 Preparación de las soluciones de los polímeros para formación de nanocapsula	51
4.2 Caracterización mecánica de las nanocapsulas	57
4.2.1 Caracterización por SEM	58
4.2.2 Caracterización por TEM	59
4.2.3 caracterización DLS	60
4.3 Evaluación de la concentración encapsulado	61
4.3.1 Realiza el montaje de liberación.....	63
4.3.2 Elaboración de curva de concentración en espectroscopia UV	65
4.3.3 Realizar la lectura de liberación en el tiempo	66
Capítulo 5. Conclusiones	69
Referencias	70

Lista de figuras

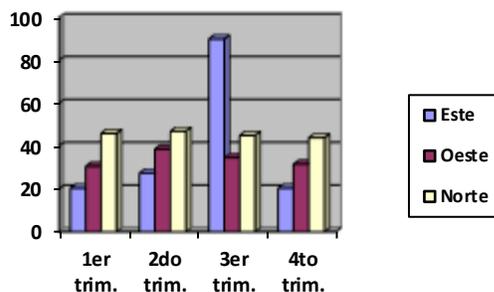
Figura 1 Micrografía de nanoesferas utilizando método de aspersion	10
Figura 2 figura de mezcla de los componentes (ciclodextrina + TPP) unida con (quitosano + vitamina C))	11
Figura 3. Efecto Tyndall nano partículas formadas	12
Figura 4. SEM, nanopartículas de alimentos formados por centrifugación.....	12
Figura 5 Microscopia electrónica de escaneado de nanopartículas con concentraciones de medicamentos en 1500 mg de PVA.....	14
Figura 6. Microscopia electrónica de escaneado de nanopartículas con concentraciones de medicamentos en 500 mg de PVA.....	14
Figura 7. Micrografía TEM de nanoencapsulación de ajo formada por el método de macerado y tamizado aplicado	16
Figura 8. Estructura química vitamina B1	17
Figura 9. Estructura química B2	18
Figura 10. Estructura química de la vitamina B3	18
Figura 11. Estructura química vitamina B6	19
Figura 12. Estructura química vitamina B9	20
Figura 13. Estructura química vitamina B12	21
Figura 14. Estructura química del PVA en la estructura (A) está parcialmente hidrolizado; y en el (B) completamente hidrolizado.....	31
Figura 15. Estructura química del componente glutaraldehido	32
Figura 16. Estructura química del entrecruzamiento del glutaraldehido (GA) + la solución inyectada mediante el flujo turbulento de GA.	32
Figura 17. Diagrama de fases del régimen de flujo en términos del factor R y del número de Reynolds (Re)	53
Figura 18. Sistema empleado para síntesis de nanocapsulas de complejo B	57
Figura 19. soluciones preparadas para la curva de liberación.....	58
Figura 20. SEM de las nanocapsulas obtenidas de PVA con complejo B	58
Figura 21. TEM nanocápsulas poliméricas de PVA sin medicamento.....	59
Figura 22. TEM nanocápsulas poliméricas de PVA a) sin Complejo B, b) con Complejo B.	60
Figura 23. Histograma obtenido por DLS para las nanocápsulas con 10 % de Complejo B.....	61
Figura 24. Histograma obtenido por DLS para las nanocápsulas sin Complejo B.	61
Figura 25. Perfil de liberación in vitro de las nanocapsulas de complejo B	64
Figura 26. Curva de calibración realizada para complejo B disuelta en agua/etanol	65
Figura 27. Ajuste al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas para M1	66
Figura 28. Ajuste al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas para las muestras M2, M3 y M4	68
Figura 29. Exponente “n” de la ecuación modelo de Korsmeyer-Peppas y mecanismo asignado a la liberación del fármaco.....	68

Capítulo 1. Desarrollo de encapsulación de complejo b para favorecer la bioadsorción en suplementos alimenticios

1.1 Planteamiento del problema

La población se ha ido incrementando con los años y a su vez el consumo de vitaminas, proteínas, suplementos para la conservación de los músculos. El análisis del sistema digestivo da a conocer la absorción de dichos componentes basados en el comportamiento del estómago y del intestino delgado ya que estos son los encargados de absorber las vitaminas B que componen el complejo B, generalmente en casos de pacientes con gastritis o pacientes que consumen medicamentos en gran cantidad hacen que exista más ácido gástrico lo cual causa menor absorción de complejo B, Las vitaminas B son los encargados que el sistema nervioso central, el cerebro y el hígado actúan en una eficiencia optima lo cual quiere decir que las vitaminas nombradas son necesarias para la vida humana.

La absorción de las vitaminas B1, B2, B3, B6, B9, B12 es esencial para el funcionamiento del cerebro, del sistema nervioso y para la formación de sangre, es absorbida por la función de las péptidas digestivas en el estómago y el intestino delgado. (Jhuly, 2014).



La deficiencia de vitaminas, B1, B2, B3, B6, B9 y B12 dada frecuentemente en niños con anemia perniciosa, en ancianos se originada por varios factores como la gastritis atrófica, la gastrectomía o algunos medicamentos.

Estudios recientes apoyan la eficacia de altas dosis de vitamina por vía oral, para el tratamiento o la prevención de la deficiencia de vitaminas B es una opción para la mayoría de los casos, su valor monetario es menor que la terapia inyectable convencional, evita los riesgos que esta implica y supone una mayor comodidad para los pacientes, la única deficiencia del complejo B vía oral es que el jugo gástrico descompone componentes del complejo B antes de llegar al sistema digestivo que es donde aprovecha su absorción de vitaminas debido a esto al momento de llegar al sistema digestivo sus vitaminas llegan con una composición química menor a la tomada (Laguno, 2003,).

La cantidad diaria recomendable para adultos es 5 microgramos (mcg), Personas que corren riesgo de desarrollar una deficiencia de vitamina B1, B2, B3, B6, B9, B12 (complejo B)

como personas mayores, niños con anemia, el consumo de medicamentos y en casos extremos exceso de jugo gástrico.

Los vegetarianos obtienen beneficios en una ingesta de 6 hasta 30 microgramos. Algunos expertos en absorción de vitaminas defienden una dosis diaria en personas mayores (mayores de 50 años) de 100 hasta 400 mcg, En caso de capsulas de complejo B el consumo de estas tienen la concentración necesaria para dicho aspecto, su consumo va hacer más efectivo ya que el medicamento encapsulado dura mayor tiempo en digerirse su capa exterior está diseñada para una mayor durabilidad en el jugo gástrico, venden pastillas, inyecciones y jarabes, los cuales no traen la concentración exacta de la adsorción de las vitaminas en el sistema digestivo (Herbert, Septiembre de 1988))

Actualmente a los aditivos alimentarios y en muchos multivitamínicos comunes se les añade complejo B. Sin embargo, esta forma no es exactamente igual a la natural, en cuanto al número de vitaminas que pueden activarla.

Un factor importante es el sabor ya que las mayorías de jarabes no son de muy buen gusto por esto algunos recurren a las pastillas (Allen, 2014)

1.2 Formulación del problema

¿Cómo nanoencapsular complejo B para su óptima absorción en el sistema digestivo?

1.3 Descripción del problema

A nivel mundial se han venido trabajando diferentes tipos de encapsulaciones poliméricas para aplicaciones en el cuerpo, estudiando sus propiedades mecánicas y químicas y la variación, unas de estas aplicaciones son las nanoencapsulaciones en los cuales encontramos las encapsulaciones de vitaminas para la implementación alimenticia. El complejo B es un conjunto de vitaremos el cual no se absorbe fácilmente en el cuerpo humano al tomar dosis establecidas en jarabes, pastillas, o por otro medio de vía oral no son suficientes para favorecer la proporción de vitaremos que el cuerpo necesita por tal motivo se debe generar una nueva alternativa de absorción de complejo B en el cuerpo humano.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general. Obtener Nanocápsulas de complejo B para producción semipiloto

1.4.2 Objetivos Específicos. Sintetizar nanocapsulas que contengan complejo B, utilizando una bomba peristáltica.

Caracterizar las nanocapsulas desarrolladas por las técnicas dispersión dinámica de luz (DLS) , microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM) para verificar la formación de las nanocapsulas y la encapsulación del complejo B.

Evaluar concentraciones de complejo B para la eficiencia de la encapsulación realizada.

1.5 Justificación

El método de nano encapsulación se aplica en el recubrimiento de cantidades nanométricas de un determinado compuesto ya sea vitamina como ocurre en este caso mediante un material protector que generalmente es de naturaleza polimérica (MJ Martín Villena, 2009) , La nanoencapsulación es la encargada de proteger a los materiales encapsulados de factores como el calor y la humedad, de igual forma se ha efectuado para mejorar el sabor, la estructura química y la absorción del medicamento nanoencapsulado. En el sistema digestivo también se asocia para la barrera contra malos olores y ayuda a que los materiales frágiles resistan las condiciones de procesamiento y empaado se mejora el aroma, valor nutritivo y apariencia, existe métodos de nanoencapsulación tales como: procesos físicos (secado por aspersion), procesos químicos (polimerización interfacial e incluso molecular), procesos fisicoquímico (coacervación, liposomas y gelificación iónica) (Arribas, 2008). Han desarrollado bebidas como suplementos en salud, se añaden es vitaminas B ya que es la más necesaria para absorción de proteínas y nutrientes en el sistema digestivo (LH, 2008). La población está incrementando el uso de bebidas para el cuidado del cuerpo como lo son concentración de músculos y proteínas para el cerebro.

En el presente trabajo se pretende desarrollar nanocapsulas de complejo B que favorezcan su ingestión a través de la vía oral y que este pueda ser bioabsorbido por el sistema digestivo humano al hacer uso de un polímero aprobado por la federación de alimentos de Estados Unidos (FDA) para acelerar el proceso de validación técnica en etapas futuras de la presente propuesta.

1.6 Alcances

Se estudiará la nanoencapsulación de complejo B con polivinilo de alcohol (PVA), su estructura y propiedades químicas bajo las diferentes normas de la FDA para la absorción en el sistema digestivo. Se analizan las nano encapsulaciones a través de ensayos de dispersión dinámica de luz (DLS), microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Se realizará la nanoencapsulación del complejo B en PVA con un aglutinante (glutaraldehído) para la formación de dichas capsulas dándole a las vitaminas más duración en la digestión antes de llegar a los intestinos (grueso o delgado) para favorecer la absorción de (B1, B2, B3, B6, B9 y B12) estas vitaminas se dispersan por cada parte del cuerpo la cual da un funcionamiento óptimo al corazón, riñones, hígado y tejido nervioso, estas favorecen la formación de sangre principalmente el músculo esquelético.

1.7 Delimitaciones.

1.7.1 Geográfica. Este proyecto se realizará en la ciudad de Medellín en la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB), donde el alumno se desplazará con recursos propios. La supervisión y colaboración de la Doctora Lina Marcela Hoyos Palacio bajo la vigilancia del director del proyecto Eder Flórez Solano en la Ciudad de Ocaña en la Universidad Francisco de Paula Santander (UFPSO), de la Facultad de Ingeniería.

1.7.2 Conceptual. El proyecto tiene como alcance conceptual realizar el material a entregar, no incluye las pruebas de liberación o absorción en el sistema digestivo, se limita al definir que los polímeros a usar son sustancias aprobadas por la FDA.

1.7.3 Operativa. El estudiante cuenta con la infraestructura necesaria para hacer las nanocápsulas en la UPB Medellín, donde será capacitado para replicar el proceso en UFPSO, de igual manera UPB cuenta con los equipos necesarios para la caracterización mientras se adquieren en UFPSO

1.7.4 Temporal. Este proyecto tendrá duración de 22 semanas iniciando desde el 26 de marzo de 2018 hasta el 29 de agosto del 2018

Capítulo 2. Marco de referencia

2.1 Marco histórico

Revisión del estado del arte.

Existen proyectos en los cuales se ha investigado sobre la nanoencapsulación de vitaminas B12, de vitamina B1, vitamina B6. Para aplicaciones alimenticias, no existen nanoencapsulación de complejo B. A través de la investigación realizada para este proyecto, se logró observar que existe dicha encapsulación de vitaminas la mayoría de los trabajos fue a nivel internacional mas no hubo referencia sobre la nanoencapsulación de complejo B.

2.1.1 Antecedentes a nivel mundial. Las vitaminas son compuestos bioactivos, en los alimentos son fisiológicamente activos componentes que proporcionan beneficios para la salud más allá de su rol nutricional.

Internacionalmente existen trabajos realizados en nanoencapsulación de vitaminas, en México, Distrito Federal. En el año 2014 realizan encapsulaciones en el proyecto titulado “Nanoencapsulación de riboflavina en matrices poliméricas biodegradables empleando la técnica de secado por aspersión” En este trabajo se estudiaron las características estructurales y morfológicas de nanopartículas de Riboflavina (vitamina B2), encapsulada en matrices de Quitosano, Alginato y Pectina y una combinación de estos biopolímeros Alginato-Quitosano y Pectina-Quitosano. Las nanoesferas se obtuvieron empleando la técnica de secado por aspersión a escala nano.

Se determinaron las condiciones de concentración efectivas de los biopolímeros y variables de proceso en el funcionamiento del equipo Nano Spray Dryer para la formación de nanoestructuras con tamaños homogéneos. Este equipo tiene la capacidad de secar por pulverización soluciones y suspensiones acuosas empleando aire comprimido como gas de secado, produciendo estructuras con una distribución homogénea de tamaños. Se empleó 0.125% de concentración en cada biopolímero para que el microfiltro no se sature de la solución a utilizar, esto se analizó mediante un diseño de factorial de experimentos, en el que se fijaron condiciones de uso del Nano Spray Dryer para la formación de nanopartículas de tamaño homogéneo. Las variables de proceso del equipo fueron: microfiltro de 4 μm y temperatura de 120°C. Para diseñar estructuras resistentes y compactas, se determinó el intervalo de pH en el cual se favorece la interacción de cargas electrostáticas inversas entre ambos biopolímeros (Alginato- Quitosano y Pectina-Quitosano), con el fin de formar nanoesferas compactas y resistentes para la liberación controlada de Riboflavina. La medición de cargas electrostáticas se realizó en un equipo Nano Zetasizer. Una vez obtenida la curva de interacción pH vs. mV (cargas electrostáticas), se realizaron las soluciones de biopolímeros y se ajustó el pH de la solución de Alginato-Quitosano (pH = 3.3) y de Pectina-Quitosano (pH = 3.6) en cada biopolímero para su posterior acoplamiento. Una vez teniendo la solución homogénea, se elaboran las nanopartículas en el equipo Nanospray Dryer. La estabilidad de las nanoesferas a la humedad del medio se analizó observando la morfología de las estructuras a través de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). En general, las nanoesferas fueron estables a una humedad de 33 y 75%, sin embargo, a una humedad del 98% las estructuras se hidrataron en las primeras 24 horas, presentando estructuras aglomerados. Del análisis de espectroscopia FT-IR,

se observaron los grupos funcionales que interactúan una vez que las nanoesferas están formadas, estableciendo que el grupo carboxilo (-COO) del polímero iónico (Alginato) puede interactuar con el grupo amino (-) del Quitosano en la interacción Quitosano-Alginato. Finalmente, se realizó la cinética de liberación de Riboflavina en un modelo in vitro. Como resultado del mismo se observó que la interacción de biopolímeros tiene una liberación progresiva, resaltando que la combinación de Pectina-Quitosano fue la matriz en la cual se liberó más rápidamente la vitamina comenzando en los primeros 40 min de su hidratación y la de Alginato-Quitosano lo hizo en un tiempo de 30 min. Concluyendo así que la matriz de Pectina-Quitosano retardó la liberación del compuesto activo. En cuanto a los resultados de concentración, las nanopartículas en promedio alcanzaron una estabilidad en concentraciones de 0.02 nm a partir de este punto la liberación que manifiestan se mantiene constante, en la **figura 1** se analizan el tamaño de las nanocapsulas: (violeta mancilla davalos, 2014)

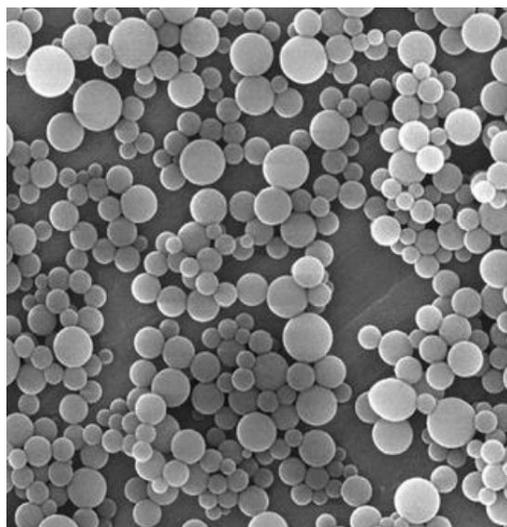


Figura 1. micrografía de nanoesferas utilizando método de aspersión. (violeta mancilla davalos, 2014)

En el área de alimento podemos analizar la nanoencapsulación en comidas para la aplicación en acuicultura titulada “Diseño de nanopartículas para su empleo en alimentación funcional de peces marinos y en la prevención de enfermedades.”

Este proyecto utiliza como método de nano encapsulación Proteínas (BSA, BSA-FITC), Vitaminas (vitamina C), Polisacáridos y oligosacáridos de algas (Urvan) el Método de elaboración por gelatina inotrópica (CS-CD-TPP) (Díaz, 2014) este va tener una solución va hacer (ciclodextrina + TPP) unida con (quitosano + vitamina C) como muestra la **figura 2:**



Figura 2. figura de mezcla de los componentes (ciclodextrina + TPP) unida con (quitosano + vitamina C)). (Díaz, 2014)

Se aplica el efecto Tyndall nano partículas formadas como lo muestra la figura (3) En esta hay dos fluidos, el fluido de lado izquierdo no contiene nanopartículas ya que no hay existencia de estas partículas, el fluido acuoso siempre tendera a coger el color del fluido del lado derecho cuando existen nanopartículas.



Figura 3. Efecto Tyndall nano partículas formadas. (Diaz, 2014)

Luego de aplicar el método (Tyndall nano partículas) anunciado anteriormente se analiza el tamaño de las Nanopartículas aisladas por centrifugación por medio de una imagen SEM

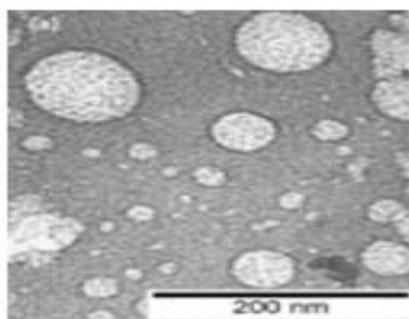


Figura 4. Imagen SEM, nanopartículas de alimentos formados por centrifugación. (Diaz, 2014)

Finalmente las Nanopartículas poliméricas a base de quitosano o de DLPLG no son tóxicas, son biodisponibles, pueden penetrar en tejidos y células transportando compuestos como vitaminas o proteínas.

En octubre del año 2017 la Universidad Tecnológica Federal de Paraná (UTFP) y la Universidad Estadual de Maringá (UEM), desarrollaron nanocapsulas de PVA para la liberación de anti-inflamatorios con el nombre de “Desarrollo de nano y micropartículas de acetato de celulosa para sistemas de liberación controlada de anti-inflamatorios no esteroides” para la nano encapsulación del fármaco los métodos fueron:

Primer método. En la preparación de las nanopartículas se utilizó como matriz polimérica el acetato de celulosa (AC) de la marca Sigma-Aldrich (CA, $M_n = 30.000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, grado de sustitución de 2,5). Para la obtención de las micropartículas se prepararon tres soluciones. La fase orgánica (FO) fue preparada, bajo agitación magnética por 1 hora, utilizando 20 mililitros (ml) de diclorometano y 300 mg de AC. La fase acuosa (FA), fue preparada por la disolución de 1500 mg de los surfactantes Tween 80 o poli (alcohol vinílico) (PVA) en 100 ml de agua, bajo agitación magnética. La fase conteniendo el fármaco (FF) fue preparada por la disolución de 30 mg de Paracetamol en 2 ml de diclorometano. Después de 30 minutos en estas condiciones, la fase orgánica y la fase con el fármaco se añadieron a la fase acuosa y la agitación se mantuvo hasta la evaporación total del solvente a una temperatura de 40 °C. Posteriormente se realizó el filtrado y secado para caracterización de las partículas. También se realizaron experimentos sin la introducción del fármaco, como estudio preliminar de liberación contraria.

En este método las nanopartículas de AC se obtuvieron variando el tipo de surfactante. Para las muestras obtenidas utilizando el surfactante Tween 80, las imágenes de microscopía electrónica de escaneado muestran la formación de pocas partículas, deformes, de carácter esférico, con diferente distribución de diámetro, Las micropartículas de AC conteniendo el fármaco, se verificó la formación de esferas en la siguiente imagen:

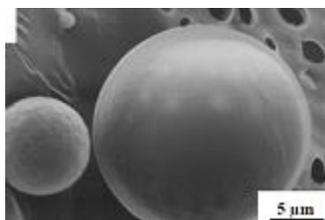


Figura 5 Microscopia electrónica de escaneado de nanopartículas con concentraciones de medicamentos en 1500 mg de PVA. (calloquium, out-dez. 2017)

Segundo método. En este método la FO fue preparada, bajo agitación magnética por 1 hora, utilizando 15,0 ml de diclorometano y 300 mg de AC. La FA fue preparada por la disolución de diferentes porcentajes en masa 500mg del surfactante PVA en 100 ml de agua destilada bajo agitación magnética. A continuación, se transfirió a FO a la FA, que fueron llevadas a un ultrasonido de punta (S.P.Cellet, June 2014,), utilizando una frecuencia de 20 kHz por 5 minutos, con ciclos de 30 segundos. Después de la sonicación, se calentó la solución a 40 °C hasta la evaporación total del solvente. El producto se separó por centrifugación, lavado con agua y seco. Se realizaron tres experimentos variando el porcentaje masivo del surfactante: Exp.1: 1500 mg de PVA; Exp.2: 500 mg de PVA, en la siguiente imagen se muestra las nanocapsulas de PVA formadas:

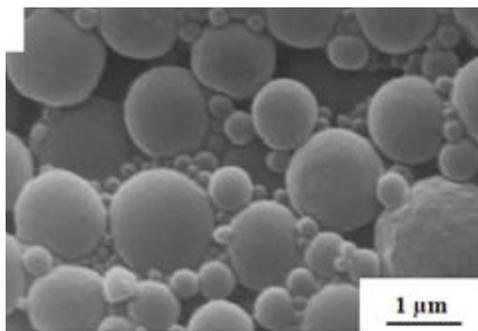


Figura 6. Microscopia electrónica de escaneado de nanopartículas con concentraciones de medicamentos en 500 mg de PVA (calloquium, out-dez. 2017)

Los resultados sugieren que la presencia del fármaco paracetamol favorece la formación de microsferas, con diámetros variando de 20-250 nanómetros (nm). Utilizando agitación ultrasónica se obtuvieron nanopartículas aglomeradas, con diámetro de 100 a 200 nanómetros. El estudio de la cinética de liberación del paracetamol indica que el sistema evaluado puede presentar un mayor tiempo de acción y eficiencia en una sola dosis, demostrando potencialidad de aplicación de las nanoesferas de AC como sistema para liberación controlada de antiinflamatorios no esteroides.

2.1.2 Antecedentes a nivel nacional. El 24 de mayo del 2014 en la Universidad del Quindío, Grupo de Investigación en Ciencias Agroindustriales trabajo en nanocapsulas de ajo el cual lo titularon “Caracterización óptica y estructural de nanopartículas de *Allium sativum* impregnadas en lomo de bovino” El objetivo general de este trabajo fue nanocapsulas óptimas estructuralmente obtenidas de polvos de ajo comercial y aplicadas sobre trozos de lomo de bovino.

Las nanopartículas se obtuvieron por el método de macerado y tamizado, la caracterización de las muestras por las técnicas de TEM, DRX y FTIR. Las nanopartículas de ajo fueron obtenidas por el método de reducción y selección de tamaño, a partir de 10 g de nanopartículas de polvo de ajo comercial 100% natural que fueron sometidos a los procesos siguientes: macerado durante 6 horas utilizando un nano-molino vibratorio compuesto por un conjunto de molienda (mortero y bola de ágata) y pasa por tamiz Ro-tap manteniendo la muestra en constante movimiento durante 15 min sobre una malla de 100 nm. Una vez que las partículas

más finas fueron filtradas, se procedió, nuevamente, a macerar durante 2 horas. Las imágenes de la **Figura 7** fueron el resultado de las nanocapsulas de ajo. (Kelly Johana Figueroa-López, 2015)

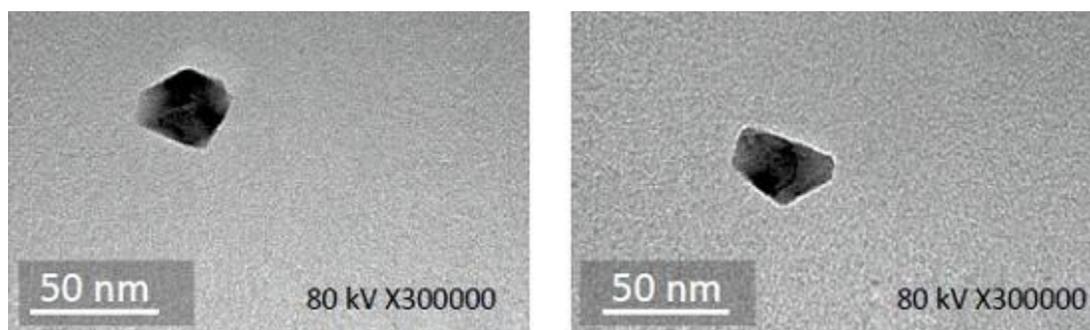


Figura 7. Imagen micrografía TEM de nanoencapsulación de ajo formada por el método de macerado y tamizado aplicado. (Kelly Johana Figueroa-López, 2015)

2.1.3 Antecedentes a nivel regional. No se reportan estudios o investigaciones realizadas sobre las nanocapsulas en esta región del país.

2.2 Marco conceptual

2.2.1 COMPLEJO B. Las vitaminas del complejo B son hidrosolubles son sustancias solubles en agua que son absorbidas y digeridas en el intestino y transportadas a los tejidos por medio del sistema circulatorio, el medio por donde se expulsa del cuerpo humano es principalmente por la orina. Este grupo de vitaminas se describen las del complejo B (B1 o tiamina, B2 o riboflavina, B3 o niacina, B6 o piridoxina, B9 o ácido fólico y B12 o cobalamina).

Estas vitaminas se pueden encontrar en diferentes alimentos tanto de origen animal como vegetal. Su digestión diaria es importante ya que el organismo, por sí solo no las sintetiza, por lo que las reservas que existen en el cuerpo son poco significativas. Es de considerar que su

capacidad de hidrosolubilidad de algún modo es una desventaja, pues al lavar o cocinar los alimentos, éstos pierden parte de sus vitaminas. Por tanto las necesidades vitamínicas deben ser cubiertas diariamente, para prevenir las distintas alteraciones en el organismo a corto o largo plazo que puede producir el déficit vitamínico. (Teleki, 2012)

Función: El complejo B al ser absorbido por el cuerpo humano es el encargado de que el sistema nervioso, riñones y formación de glóbulos rojos estén funcionando en óptimas condiciones por lo cual es muy esencial en la vida. Este complejo es el conjunto de vitaminas de tipo B, son solubles en agua y son importantes para el metabolismo. La función que cumple cada vitamina de la familia B se explicara a continuación:

2.2.2 Vitamina B1. Es una sustancia cristalina e incolora que recibe los nombres de: tiamina, Esta vitamina tiene la acción de coenzima en el metabolismo de los carbohidratos, necesaria para liberar energía. Es importante para reacciones transcetolasas, deshidrogenasa y descarboxilación, además actúa en la regulación de los componentes del sistema nervioso, específicamente en el inicio de la propagación del impulso nervioso. (Acosta, 2014) Una deficiencia de tiamina puede ocasionar beriberi (cardiovascular o neurológico) y el síndrome de Wernicke Korsakoff.

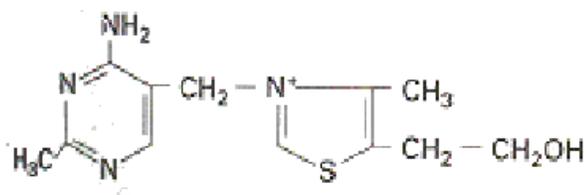


Figura 8. Estructura química vitamina B1. (Dantí, 20 diciembre, 2017)

2.2.3 Vitamina B2. También se denomina riboflavina o lactoflavina. Funciona como coenzima en el metabolismo de proteínas, grasas e hidratos de carbono y se encarga del funcionamiento óptimo de las membranas mucosas (HERNANDEZ, 1999). Esta vitamina se encarga principalmente de reacciones de óxido reducción.



Figura 9. Estructura química B2. (hidrosolubles, 2015)

2.2.4 Vitamina B3. También se conoce como nicotinamida, niacina o vitamina PP. Es una sustancia que su actividad es una coenzima para liberar la energía que se obtiene de los alimentos. (HERNANDEZ, 1999) Esta vitamina es esencial para el transporte de electrones de NAD (H) o NADP (H), molécula necesaria para el metabolismo de carbohidratos y lípidos.

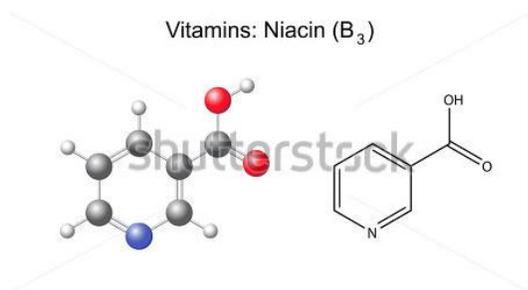


Figura 10. Estructura química de la vitamina B3. (es.123rf.com, 2015)

2.2.5 Vitamina B5. También llamada ácido pantoténico, se requiere para la síntesis de coenzima A, una molécula esencial para el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas.

2.2.6 Vitamina B6. Su otro nombre es piridoxina tiene un papel importante en el metabolismo de las proteínas, carbohidratos y lípidos puesto que se convierte en piridoxina 5 fosfato; es de utilidad en la degradación del colesterol y formación de anticuerpos. (Acosta, 2014) (HERNANDEZ, 1999) Además ayuda en la formación de neurotransmisores como dopamina, norepinefrina, epinefrina y serotonina es importante recalcar el rol en la conversión de triptófano a niacina, síntesis del grupo heme y de esfingolípidos esenciales para la membrana celular.



Figura 11. Estructura química vitamina B6. (imagen+quimica+vitamina, 2015)

2.2.7 Vitamina B9. Ácido fólico, pero también recibe otras denominaciones como folato y folacina. La acción primordial de esta vitamina es actuar como coenzima en el transporte de fragmentos simples de carbono, también tiene una participación en la síntesis de bases nitrogenadas (guanina, adenina, piridina, timina) esenciales para la división celular. (Pita, 2014) Es esencial para la formación de nucleótidos, reparación del DNA y reacciones de metilación.

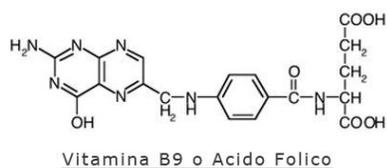


Figura 12. Estructura química vitamina B9. (Good Nutra Bull 2008, química)

2.2.8 Vitamina B12. Llamada cobalamina (por la estructura química que presenta consistente en un anillo porfirínico unido a un átomo de cobalto); además tiene otros sinónimos como factor extrínseco de Castle y factor anti anemia perniciosa (Pita, 2014). Esta vitamina es esencial para la formación del aminoácido metionina para reacciones de metilación, para la síntesis de hemoglobina principal componente de los glóbulos rojos y para el metabolismo de los ácidos grasos y proteínas.

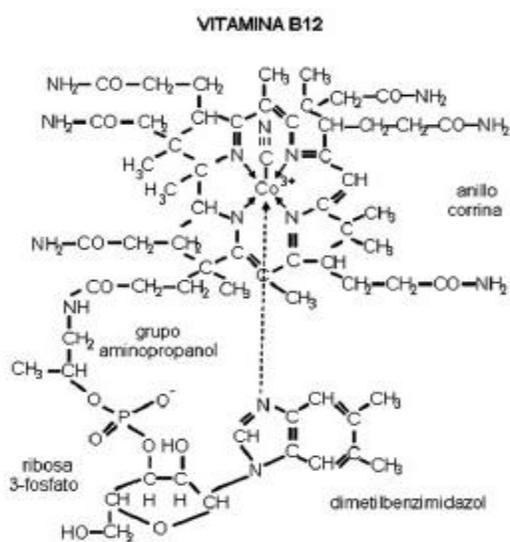


Figura 13. Estructura química vitamina B12. (Brito Alex, 2012)

En este caso se investigó la cantidad de Vitaminas del complejo B en los alimentos y consumo mínimo para el ser humano.

Vitamina B1:

La tiamina se encuentra en gran cantidad, en alimentos como el cerdo, carnes magras, vísceras, huevos, vegetales de hoja verde, cereales, frutos secos y legumbres. La deficiencia de vitamina B1 puede ocasionar beriberi, esta enfermedad presenta un cuadro clínico de neuritis, atrofia muscular, deficiencia en la coordinación de movimientos pudiendo llegar a una parálisis e incluso la muerte por insuficiencia cardíaca. Otra alteración debido al déficit de tiamina es el síndrome de Wernicke Korsakoff.

El beriberi infantil puede ocurrir debido a lactantes que reciben únicamente leche materna en la cual las madres tienen una deficiencia de tiamina en la dieta y pueden presentar cardiomegalia, taquicardia, cianosis y disnea; en algunos casos pueden presentar síntomas neurológicos como convulsiones y disminución del estado de conciencia. En el beriberi adulto se caracteriza por una neuropatía distal simétrica tanto sensorial como motora con alteraciones cardíacas que pueden llevar a falla cardíaca. En cuanto al síndrome de Wernicke-Korsakoff se caracteriza por oftalmoplejia, ataxia, nistagmus y confusión, ha sido reportado en pacientes luego de cirugía bariátrica completa y en alcohólicos.

Estas deficiencias son más comunes en quienes su dieta es a base de arroz blanco y cereales, estos alimentos contienen altas cantidades de tiamina sin embargo en su procesamiento son removidas.

El exceso del consumo de alimentos que contienen esta vitamina no suele ser tóxico, tiene un requerimiento mínimo diario de 0.5mg/1000 Kcal (Illera Martín, España. 2010), (HERNANDEZ, 1999)

Vitamina B2:

Esta vitamina se obtiene de alimentos como la carne, la leche, el hígado, verduras verdes, cereales, fideo y pan. Su metabolismo es principalmente en el hepatocito y su deficiencia ocasiona mucosa bucal y faríngea hiperemia, queilitis, glositis, dermatitis seborreica y anemia normocítica normocrómica. Estas deficiencias ocurren en pacientes con anorexia nervosa, síndromes de mala absorción como enfermedad celíaca y neoplasias, también se encuentra en errores del metabolismo con defecto en la formación de enzimas dependientes de riboflavina y en el uso prolongado de fenobarbital y otros barbitúricos que llevan a la oxidación de riboflavina e impiden su correcta función en el organismo.

Un consumo excesivo generalmente es atóxico y su requerimiento diario es de 1.1 a 1.3 mg/día para mujeres y hombres. (Arquero, 2014)

Vitamina B3:

El niacina se obtiene de alimentos como el hígado, pollo, carne, pescado, cereales y frutos secos. El déficit de vitamina B3 puede llegar a producir pelagra, enfermedad que inicia con síntomas de debilidad, falta de sueño y pérdida de peso, afecta a la piel y se manifiesta con la aparición de áreas rojizas, ásperas y escamosas muy parecidas a las quemaduras por exposición solar, existe una pérdida de apetito, mala digestión y diarrea, además produce problemas en el sistema nervioso como cefalea, trastornos mentales, algias y temblores musculares, pudiendo llevar a la muerte, esta enfermedad es caracterizada por las "4D" dermatitis, diarrea, demencia y muerte (death), además de ocasionar fotosensibilidad y trastornos cardiovasculares y neurológicos, a diferencia del resto de las vitaminas un exceso de niacina si tiene efectos adversos en los cuales el más común es el flushing varía la dosis y de persona a persona, también puede ocasionar daño hepático en dosis por encima de 2000 a 6000mg/día en la cual se saturan todos los receptores para metabolizar esta vitamina, hay algunos reportes en los cuales empeora la diabetes y la gota, sin embargo aún se debe estudiar más en este aspecto.

La ingesta excesiva de la nicotinamida ha sido usada para tratar la arterioesclerosis, pues una dosis elevada la misma ayuda a reducir los niveles de colesterol en la sangre. La ingesta recomendada es de 14 mg/día para mujeres y 16 mg/día para hombres, por día (HERNANDEZ, 1999), (Illera Martín, España. 2010)

Vitamina B5.

Su principal fuente son los huevos, la leche, el hígado y el brócoli, su deficiencia generalmente es rara, pero se ha visto en malnutrición o en situaciones de hambruna, su principal

manifestación son las parestesias en extremidades y su requerimiento diario son 5mg/día para hombres y mujeres adultos.

Vitamina B6:

Se obtiene de los cereales, granos enteros, hígado, vegetales verdes como la espinaca, pan, plátano. Su deficiencia ocasiona problemas en la piel, queilitis angular, convulsiones, náuseas, mareos y anemia sideroblastica. Un exceso de vitamina B6 ocasiona neuropatía con dosis por encima de 250mg/día y su requerimiento diario es de 1.5 mg/día

Vitamina B9:

La vitamina B9, como componente natural de los alimentos se denomina folato y cuando se obtiene artificialmente recibe el nombre de ácido fólico. La fuente alimentaria principal de la que proviene esta vitamina es de carnes, hígado, huevos, leche, semillas de sésamo, cereales integrales y verduras de hojas verdes. El ácido fólico se almacena en el hígado y los requerimientos nutricionales diarios no son tan considerables (400mcg.). (HERNANDEZ, 1999), (Pita, 2014). Una deficiencia de vitamina B9 ocasiona principalmente defectos del tubo neural muchos de estos son incompatibles con la vida, además de ser la principal causa de anemia megaloblastica.

Vitamina B12:

Esta vitamina es muy importante para la formación de glóbulos rojos y el buen funcionamiento del sistema nervioso. Sólo se obtiene de alimentos de origen animal como

vísceras (hígado, riñones y corazón) de ovinos y bovinos, carne de res, pescados, mariscos, leche y huevos. Los requerimientos diarios de vitamina B₁₂ son mínimos y oscilan alrededor de los 2 mg. La ingesta insuficiente de cobalamina produce anemia perniciosa, que se caracteriza por la pérdida del epitelio digestivo, defectos en la síntesis de mielina y una deficiente producción de hematíes. Por lo general las personas que presentan déficit de esta vitamina son los vegetarianos. (Pita, 2014), (Barrios Forrellat, 2014)

2.2.9 Absorción de complejo b en el cuerpo humano

Metabolismo y absorción:

La tiamina (B1) es absorbida por medio del intestino delgado mediante su proceso de digestión activo cuando la cantidad de ingesta es mínima, cuando el consumo de alimentos que contienen esta vitamina es mayor, la absorción se produce por transporte pasivo. Se metaboliza por un proceso de fosforilación en la mucosa yeyunal, llega al hígado a través de la vena Porta. Se almacena principalmente en el músculo esquelético, también en el corazón, riñones, hígado y tejido nervioso. (HERNANDEZ, 1999)

La vitamina B2 se absorbe en el intestino delgado, un transporte activo y se convierte en coenzimas en el citoplasma celular, especialmente en las células del tejido intestinal, así como en el corazón, riñones e hígado. La vitamina B3 su absorción se da con mucha facilidad en todo el tracto intestinal, se almacena en el hígado, se transportan por vía circulatoria a todos los tejidos en los que forma NAD⁺ (Nicotinamida adenina nucleótido) que realiza el intercambio de electrones e hidrogeniones, necesario para generar energía. (HERNANDEZ, 1999)

La vitamina B6 o piridoxina se absorbe de manera rápida en la mucosa intestinal del yeyuno mediante transporte activo. La mayor porción de esta vitamina se transporta hacia el hígado, sitio en el cual se capta mediante difusión facilitada. (Aguilar, 2014)

El ácido fólico o vitamina B9 en los alimentos se halla en forma de poliglutamatos, por ello debe hidrolizarse hasta convertirse en una forma monoglutámica. El folato se absorbe en el yeyuno proximal y en menor proporción en el yeyuno distal.

La cobalamina además de ser ingerida a manera de factor intrínseco, se fusiona con el factor intrínseco sintetizado por microorganismos que se encuentran en la mucosa de animales superiores, para luego de formar un complejo vitamínico, formado por cobalaminas de los alimentos y la unión de cobalaminas y análogos (cobafilinas) del estómago, que son digeridas en la parte alta del intestino delgado transfiriéndose solamente las cobalaminas al factor intrínseco, y posterior adhesión al complejo B12, de donde por endocitosis y unión transcelular a la transcobalamina II ingresa al organismo, esta forma de transporte lleva a su distribución en los tejidos y hematíes. (Aguilar, 2014)

Excreción:

La tiamina se degrada a pirimidina y tiazol, y se elimina por medio de la orina.

Como existe un grado de almacenamiento poco considerable de vitamina B2 en el organismo, su excreción urinaria refleja su la ingesta diaria. La niacina se excreta por la orina como N-metilnicotinamida, las pirodonas y el ácido nicotínico. (HERNANDEZ, 1999)

El ácido piridóxico es el metabolito primordial de degradación de la piridoxina y se desecha junto al ácido piridoxal por la orina. El ácido fólico por la capacidad de hidrosolubilidad que posee en agua se elimina por la orina, pero también se elimina en la bilis. La cobalamina se excreta principalmente en la bilis y en mínima cantidad a través de las heces fecales, y por la orina sólo se elimina la vitamina B12 no asociada a proteínas. (Aguilar, 2014)

2.2.10 Polímeros usados para transporte de moléculas . Los polímeros son la combinación de una o más unidades Químicas (monómeros) que se repiten a lo largo de la molécula. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry IUPAC) define un polímero como "una molécula de alta masa molecular relativa, cuya estructura comprende esencialmente la repetición múltiple de unidades derivadas de moléculas de relativa baja masa molecular". (Puoci, 2015)

La clasificación de los polímeros puede adoptarse varias formas: dependiendo de: su origen (natural, semisintético y sintético), su estructura, el mecanismo de polimerización (adición y condensación) y fuerzas moleculares (elastómeros, fibras, termoplásticos y termoestables). (Shackelford, 2005.)

La clasificación de los polímeros en aplicaciones de liberación controlada puede ser difícil debido a la diversidad inherente de las estructuras. Sin embargo, es beneficioso intentar esta clasificación porque puede resaltar propiedades comunes dentro de grupos de polímeros. En términos generales, los polímeros pueden clasificarse como biodegradables o no biodegradables. (S. (Doppalapudi, 2014.))

. Los sistemas biodegradables han recibido la atención y desarrollo en los sistemas de administración de fármacos, debido a que los sistemas no biodegradables necesitan procesos de manipulación posterior después de su introducción en el cuerpo

Polímeros biodegradables

Los polímeros biodegradables han recibido un gran interés para la administración de Numerosos compuestos farmacológicos. Los polímeros biodegradables se dividen basados en el origen en dos grupos, naturales (derivados de medios biológicos) y sintéticos. Los polímeros de origen sintético ofrecen ventajas sobre los polímeros naturales al ser versátiles para un mayor número de aplicaciones. Esta ventaja se debe a que tienen la capacidad de adaptar las propiedades mecánicas y de degradación de acuerdo con la necesidad de aplicaciones específicas. Por otra parte, los polímeros naturales presentan ventajas sobre los sintéticos debido a su excelente biocompatibilidad.

Los polímeros naturales se están estudiando ampliamente como potencial material portador de fármacos específicos debido a su naturaleza no tóxica y biocompatible. Las proteínas y

polisacáridos se han investigado tanto para aplicaciones de administración de fármacos como en otros campos biomédicos. S. (Doppalapudi, 2014.)

De acuerdo con los criterios anteriores, y una vez estudiados los diferentes materiales, se selecciona el PVA por varias razones: son materiales extensivamente empleados para la fabricación de nanopartículas y fibras para la liberación de medicamentos; hecho que hace que se encuentren gran cantidad de investigaciones que los emplean y protocolos desarrollados que podrían ser empleados en el desarrollo de la presente investigación. Se encuentran comercialmente con diferentes pesos moleculares. Adicionalmente están aprobados por la FDA, para su uso en la industria farmacéutica. (Ku, 2010)

(Baker, 2012)

Por otra parte, los polímeros seleccionados presentan propiedades excepcionales que se describen en la siguiente sección PVA Mn: 80000g/mol= 0,21 USD/g reportados por SIGMA-ALDRICH. (SIGMA-ALDRICH®, 2017)

Se procedió a la selección de los materiales que componen la nanocapsula. A continuación, se describen dichas particularidades:

Propiedades físicas y mecánicas adecuadas

Bajo costo

Biocompatibles/biodegradables

No trombogénicos

No inmunogénicos

No deben generar agregación de plaquetas

No deben generar respuesta inflamatoria crónica

Ser completamente bioabsorbido y degradado

El polímero escogido para nuestro caso fue PVA. (Ku, 2010), (Baker, 2012) (S. Fathollahipour, 2015), (et D., 2011), (R. P. Shaik, 2012.)

PVA y su entrecruzamiento

Alcohol polivinílico

Es uno de los pocos polímeros aceptados por la FDA conocido comúnmente como adhesivo vinílico, (PVA) es un polímero sintético utilizado desde los años 1930 en una amplia gama de aplicaciones industriales, comerciales, médicas y de alimentos incluyendo resinas, lacas, hilos quirúrgicos y aplicaciones de contacto con alimentos. El PVA se clasifica generalmente en dos grupos en función de la cantidad de grupos acetato en la cadena principal, los cuales son parcialmente hidrolizado (A) y totalmente hidrolizado (B), con la cantidad de cadenas hidrolizadas se determinan las características físicas, propiedades químicas y mecánicas. El PVA es altamente soluble en agua, pero resistente a la mayoría de solventes orgánicos. Cuanto mayor sea el grado de hidroxilación y polimerización del PVA, menor es la solubilidad en agua y más difícil la cristalización. (Baker, 2012), (Schoneker, 2003) En la siguiente imagen se observa los parcialmente hidrolizados y los totalmente hidrolizados

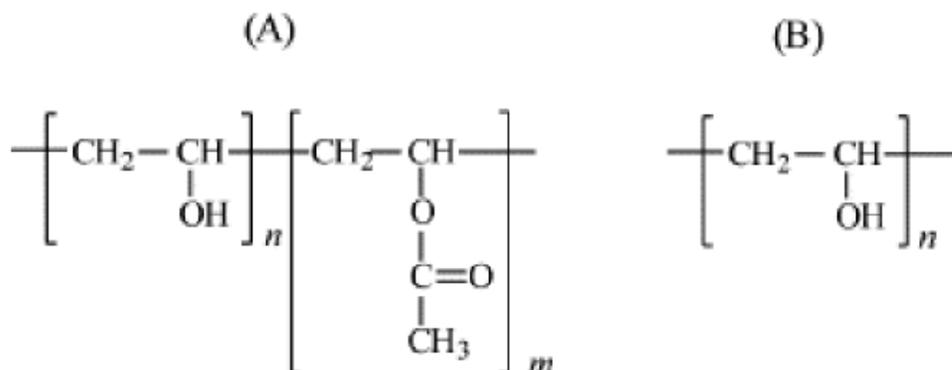


Figura 14. Estructura química del PVA en la estructura (A) está parcialmente hidrolizado; y en el (B) completamente hidrolizado. (Schoneker, 2003)

Este trabajo para la realización de las nanocapsulas se utilizó una aglutinante que fue el glutaraldehído el cual era el encargado de la formación de las nanocapsulas, era el causante del entrecruzamiento del PVA al atravesar el conducto al cual se le inyecta el polímero junto con el complejo B

Glutaraldehído

GA es el agente de reticulación más eficaz de todos los aldehídos; el empleo de este aldehído en la reticulación de materiales altamente hidrófilos mediante la exposición en fase vapor ha tomado interés gracias a que tiene menor o ningún efecto citotóxico. Es un compuesto químico de la familia de los aldehídos. Un alto número de reportes se encuentran en la literatura acerca del empleo de GA como agente utilizado para la reticulación de nanofibras, membranas

de PVA, gelatina, quitosano y otros polímeros altamente solubles en agua para aplicaciones biomédicas. (Milella, 2002) Su estructura química se muestra en la **Figura 15**:

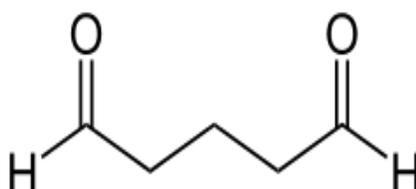


Figura 15. Estructura química del componente glutaraldehído (wikipedia, 26 jul 2018)

Es completamente soluble en agua a 20 grados centígrados y se usa como un agente fijador de tejidos en los laboratorios este se comporta de la siguiente manera como en la **Figura 16**:

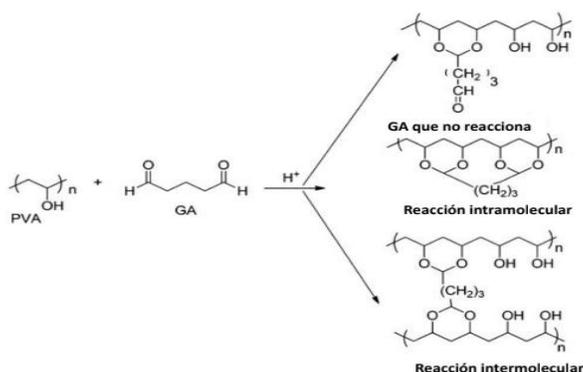


Figura 16. Estructura química del entrecruzamiento del glutaraldehído (GA) + la solución inyectada mediante el flujo turbulento de GA. (Mariola Ferrández Rives, Valencia, Julio de 2016)

Biodegradación del PVA

El PVA se degrada mediante hidrólisis debido a la presencia de grupos hidroxilos capaces de establecer enlaces de hidrogeno con agua. (Gaaz, 2015) Los andamios y recubrimientos con PVA cuando son sometidos en medios húmedos, el agua penetra la matriz polimérica

produciendo la hinchazón instantánea, ocasionando una erosión homogénea del material y con ello la erosión en masa. (Baker, 2012), (Gaaz, 2015) Posterior a la degradación hidrolítica ocurre la degradación de las cadenas principales mediante biodegradación intracelular.

2.2.11 métodos de encapsulación

Nanoencapsulación

La encapsulación es una forma de incorporar y proteger moléculas de interés en los alimentos. Es un proceso mediante el cual sustancias bioactivos de los alimentos se introducen en una matriz para impedir que se pierdan para protegerlas de la reacción con otros compuestos o para frenar reacciones como la oxidación que son causadas por la luz o el oxígeno, en pocas palabras la encapsulación no es más que un medio de envasar, separar y almacenar materiales para su posterior liberación bajo condiciones controladas. Este proceso empezó a desarrollarse entre los años de 1930 y 1940 (Nacional Cash Register; en Ohio) y su primera aplicación en alimentos fue con la gelatina. (Rahman - 2003), (ORTEGA, 2011)

Existen SEIS métodos de encapsulación los cuales son:

El secado por aspersion:

Es ampliamente usado en la industria de los alimentos debido a que es un método económico y efectivo en la protección de materiales, es particularmente empleado en la deshidratación de la leche.

Los almidones modificados, las maltodextrinas y las gomas son empleados como acarreadores o materiales pared. El material a encapsular es homogenizado con el acarreador; la mezcla es alimentada al secador por aspersión y se atomiza por medio de una boquilla o disco; colectando posteriormente las cápsulas. Desarrollos recientes se han hecho con nuevos acarreadores, incluyendo coloides y gomas naturales, para la obtención de mezclas que permitan incrementar la retención de compuestos volátiles y la vida de las nanocapsulas. Se ha conseguido la retención de aceites esenciales de naranja y disminuido su oxidación al usar goma arábica. (VELASCO, 2000)

Aspersión por enfriamiento o congelamiento:

Aspersión por enfriamiento o congelación, que consiste en fusionar el material a encapsular con el producto portador y atomizarlo mediante aire frío. Las microcápsulas se producen por nebulización de la emulsión o suspensión que contiene el material y la sustancia activa sólida o líquida. Los cubrimientos más utilizadas son aceites vegetales en el caso de aspersión por enfriamiento o aceite vegetal hidrogenado para la aspersión por congelamiento; así pueden nanoencapsularse líquidos sensibles al calor y materiales que no son solubles en disolventes convencionales. (JEREZ, 2006)

La reducción de la temperatura produce una solidificación del líquido pared y el atrapamiento de la sustancia activa en el centro de la cápsula. La aspersión por enfriamiento es usualmente empleada para encapsular sulfato ferroso, vitaminas, minerales o acidulantes.

Atrapamiento en liposomas

Un tipo de cápsula con más propiedades versátiles y menos fragilidad que aquellas hechas de grasa es el de los liposomas. Estos han sido empleados para la liberación de vacunas, enzimas y vitaminas en el cuerpo y consisten de una o más capas de lípidos no tóxicos y aceptables en alimentos; la permeabilidad, estabilidad, actividad superficial y afinidad pueden variar con el tamaño y la composición del lípido. Los liposomas son vesículas que se forman cuando películas de fosfolípidos son dispersadas en un medio acuoso; al igual que las membranas naturales, los liposomas son selectivamente permeables a iones; los liposomas se forman cuando una solución acuosa de sustancia activa es mezclada con la película del lípido. Estructuralmente existen tres tipos de liposomas multilaminar, vesículas de un compartimiento y macro vesículas.

(MATSUNO, 1993)

Liofilización

La liofilización o desecación en estado congelado es un proceso usado en la deshidratación de casi todos los materiales y aromas termo sensibles. Se ha usado para encapsular esencias hidrosolubles y aromas naturales, además de drogas. Excepto por su largo período de desecación requerido, la liofilización es una técnica simple particularmente adecuada para la encapsulación de productos aromáticos. Puesto que todo el proceso de deshidratación se realiza a baja temperatura y presión, se cree que el proceso tendría una alta capacidad de retención de compuestos volátiles. (M. Shafiur Rahman. 2003)

Emulsión de gases

En el año 1900, (Ramsden, 1903) y (Pickering, 1907) observaron que las partículas sólidas muy pequeñas podían adsorberse sobre una interfase aceite/agua y podía estabilizar emulsiones. Sin embargo, no fue hasta el trabajo de Finkle et al. cuando se encontró una relación entre el tipo de partícula sólida y la naturaleza de la emulsión (aceite en agua, o/w o agua en aceite, w/o). Estos investigadores encontraron que en una emulsión que contenga dos líquidos inmiscibles, uno de los líquidos moja más la partícula que el otro líquido, siendo este último la fase dispersa. Este hecho es similar la regla de Bancroft que ocurre en el caso de los agentes tensioactivos. La mojabilidad de las partículas en la interfase agua-aceite se suele medir por el ángulo de contacto que las partículas forman en la misma interfase. Si el ángulo (medido a través de la fase acuosa) es menor que 90° las partículas se mojan preferentemente por el agua y estabilizan emulsiones. Si la partícula es mojada preferentemente por el aceite, el ángulo de contacto será mayor que 90° y la emulsión preferente será w/o. Sin embargo, si las partículas son demasiado hidrófilas (bajo) o demasiadas hidrófobas (altas), tienden a estar dispersas tanto en la fase acuosa como en la aceitosa, respectivamente y dan lugar, por lo tanto, a emulsiones inestables.

Coacervación simple y compleja

La coacervación simple hace referencia a un proceso donde se usa un único coloide (proteínas, celulosas, ésteres). Este coloide se disuelve en un disolvente adecuado, en donde también se encuentra dispersado el aceite, que es el agente activo. La separación de fases se induce por adición de un segundo compuesto incompatible con la presencia en solución del coloide, o por modificación de las características fisicoquímicas de la disolución. De esta forma,

el coacervado se deposita sobre las partículas en suspensión, formando una cobertura uniforme, que luego debe ser consolidada. Para el proceso de nanoencapsulación algunos biopolímeros han sido utilizados como coberturas (goma arábica y gnetina). La nanoencapsulación por coacervación requiere que el material a encapsular y el material pared sean mezclados; la cobertura es depositada sobre el material activo. Generalmente un cambio de pH, temperatura o fuerza iónica provoca una fase de separación o coacervación de la cobertura y atrapamiento del material activo disperso; finalmente la cobertura es solidificada por medios térmicos o entrecruzamiento. La fase de separación acuosa involucra el uso de materiales como gnetina o mezclas de gnetina y goma arábica. Una coacervación simple se presenta cuando sólo la gnetina es inducida a formar nanocapsulas. La coacervación compleja utiliza gnetina y un polímero de carga opuesta como goma arábica. (Rahman. 2003)

2.2.12 caracterización de nano capsulas (SEM, STEM, DLS). Debido al método de encapsulación utilizado se requiere de un análisis de SEM, STEM, DLS para su caracterización.

Microscopía electrónica de barrido (SEM):

La microscopia electrónica de barrido (SEM) es un método de formación de imágenes de superficie en el que un haz de electrones incide a través de la superficie de una muestra, e interactúa con la misma, para generar señales que reflejan la composición atómica y el detalle topográfico de la muestra. Los electrones incidentes causan dispersión inelásticas de electrones o electrones secundarios con los que se puede obtener imágenes de alta resolución SEI (Secondary

Electron Image por sus siglas en inglés), además causan una dispersión elástica de electrones o electrones retrodispersados que permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie BEI (Backscattered Electron Image), y una característica de iluminación de rayos X llamada catodoluminiscencia en el que son analizados las energías dispersas EDS (Energy Dispersive Spectrometer), en donde son colectadas y se realiza diversos análisis semi-cuantitativos y de distribución de elementos presentes en la superficies. (Lin, 2014)

Con la técnica SEM se puede ver con claridad la longitud, diámetro y distribución de las nanocapsulas de polímero. Igualmente, en las micrografías obtenidas mediante el empleo de esta técnica. Finalmente, las imágenes obtenidas mediante micrografías permiten revelar las características de las nanocapsulas, además de poder visualizar el tamaño.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La técnica consiste en incidir un haz de electrones que se transmite a través de una muestra de lámina muy delgada, durante el cual los electrones incidentes que interactúan con la muestra se transforman en electrones dispersados elásticamente, electrones dispersos o electrones dispersos de manera inelástica. Los electrones dispersados o no dispersados son enfocados por una serie de lentes electromagnéticas, que luego son proyectados en una pantalla para generar una difracción de electrones, una imagen de contraste amplitud, una imagen de contraste de fases o una imagen de sombra de variación de oscuridad de acuerdo con la densidad de electrones dispersados. (Lin, 2014)

Los espectros obtenidos del microscopio electrónico de transmisión analizaron la morfología de las nanocapsulas sintetizadas. Así mismo, por medio del software libre Imagen se pudo medir de las micrografías el tamaño aproximado de las nanocápsulas.

Dispersión dinámica de luz (DLS)

Varias características físico-químicas de los nanomateriales incluyendo el tamaño hidrodinámico, forma, estructura, estado de agregación, y la conformación biomolecular se pueden explorar utilizando técnicas de dispersión de radiación. DLS, una de las modalidades de dispersión de luz más populares, pueden sondear la distribución del tamaño de pequeñas cápsulas, moléculas o polímeros en la escala de sub-micrométrica hasta un nanómetro en solución o suspensión utilizando una fuente de luz monocromática, por ejemplo, un láser. (Sapsford, 2011)

El principio de DLS es supervisar la fluctuación temporal de la intensidad de la dispersión elástica de la luz, es decir, la dispersión de Rayleigh, inducida por el movimiento Browniano de las cápsulas/moléculas de un tamaño mucho menor que la longitud de onda de luz incidente, en un ángulo de dispersión fijo. La traza de la intensidad de fluctuación comprende una mezcla de las interferencias constructivas y destructivas de la luz dispersa, a través del cual el tamaño de las cápsulas se puede derivar a partir del análisis de la función de auto correlación dependiente del movimiento usando la ecuación de Stokes-Einstein. (Lin, 2014) Mediante esta técnica se puede determinar el tamaño de las nanocápsulas.

2.2.13 Técnicas de liberación por uv.

Espectroscopia ultravioleta UV visible:

La espectroscopia UV-Visible utiliza la radiación del espectro electromagnético, cuya longitud de onda está comprendida entre los 100 y los 800 nm, su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia. En la espectroscopia UV-Vis absorbe UV-Vis y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón en estado basal o fundamental a uno excitado. La energía de transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación a través de la ecuación de Planck (Ecuación 1). La señal espectral permite, por un lado, identificar grupos funcionales presentes en las moléculas y, por el otro, estimar la concentración de una sustancia como lo muestra la

Ecuación (1). (Lin, 2014)

$$E = h\nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} \dots \dots \dots (1)$$

Donde:

E: energía transportada por cuanto de radiación o fotón (J fotón⁻¹)

h= constante de Planck (6,6256*10⁻³⁴ J s fotón⁻¹)

c= velocidad de la luz (2,9979*10⁸ m s⁻¹)

λ= longitud de onda

ν= frecuencia de la radiación

Mediante la técnica espectroscopia ultravioleta UV visible se pudo determinar la presencia de complejo B en el medio de liberación y en las soluciones que permitieron calcular la eficiencia de la encapsulación.

2.3 Marco legal

Constitución política de Colombia:

Artículo 61. El Estado protegerá la propiedad intelectual por el tiempo y mediante las formalidades que establezca la ley.

Artículo 71. La búsqueda del conocimiento y la expresión artística son libres. Los planes de desarrollo económico y social incluirán el fomento a las ciencias y, en general, a la cultura. El estado creara incentivos para personas e instituciones que desarrollen y fomenten la ciencia y la tecnología y las demás manifestaciones culturales y ofrecerá estímulos especiales a personas e instituciones que ejerzan estas actividades.

Ley 9 de 1979. “Por la cual se dictan medidas sanitarias”: Esta Ley, da los lineamientos generales necesarios para preservar, restaurar o mejorar las condiciones necesarias en lo que se relaciona con la salud humana; también reglamenta actividades y competencias de salud pública para asegurar el bienestar de la población.

En el Título VI. Drogas, Medicamentos, Cosméticos y Similares, se plasman los principios de las normativas para los dispositivos médicos, allí mismo se dictan las sanciones que se deriven de las prohibiciones y demás.

En el Título XI. Vigilancia y control, se establecen las medidas de seguridad y sanciones que se deriven del incumplimiento de la misma.(Velazco, 2012).

Universidad Francisco de Paula Santander de Colombia:

Acuerdo 065 de 1996: El cual establece el estatuto estudiantil que es el regente actual en la institución (superior universitario, 1996).

Artículo 140. El estudiante podrá optar por una de las siguientes modalidades del trabajo de grado:

Proyecto de investigación

Monografía

Trabajo de investigación: generación o aplicación de conocimientos sistematización del conocimiento

Proyecto de extensión.

Trabajo social.

Labor de consultoría en aquellos proyectos en los cuales participe la universidad.

Pasantía.

Trabajo dirigido.

PARAGRAFO 1. El estudiante podrá optar como componente alterna al proyecto de grado, créditos especiales como cursos de profundización académica o exámenes preparatorios.

PARAGRAFO 2. Para algunos planes de estudio y de acuerdo a sus características el consejo académico podrá obviar la presentación del trabajo de grado.

Artículo 141. El proyecto de grado incluye las siguientes etapas:

a. Presentación del anteproyecto o plan de trabajo según corresponda a la modalidad del proyecto seleccionado.

b. Desarrollo de la investigación o ejecución física del proyecto.

c. Sustancias de la investigación y/o verificación o aval de la realización del proyecto.

PARAGRAFO. Para todas las modalidades de proyecto de grado, el estudiante deberá presentar un informe final avalado por su director.

Artículo 142. Las condiciones y procedimientos para la presentación, desarrollo y evolución de cada una de las modalidades de trabajo de grado, o sus componentes alternas, harán parte de la reglamentación específica de cada facultad, para cada plan de estudios.

PARAGRAFO. La universidad incorporara los trabajos de grado, como componente básico de su hacer y creara bancos de proyectos en los departamentos académicos y en la vicerrectoría asistente de investigación y extensión.

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, presenta a los lectores un documento guía para la adaptación de la última edición del Manual de publicaciones de la American Psychological Association, (Norma APA), para la redacción de trabajos de investigación, trabajos de grado y trabajos de aula. Este documento presenta un resumen de los aspectos de mayor consulta por parte de los estudiantes y docentes de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña en lo referente a contenido, estilo, citación, referenciación, presentación de tablas y figuras, entre otras. (Hoja, Para, & Academico, 2012). En este proyecto se tiene en cuenta la Administración de alimentos y medicamentos (Food and Drog administration-**FDA**): Este ente Protege la salud pública mediante la regulación de los medicamentos de uso humano y veterinario, vacunas y otros productos biológicos, dispositivos médicos, el abastecimiento de alimentos en nuestro país, los cosméticos, los suplementos dietéticos y los productos que emiten radiaciones. (Commissioner, n.d.).

Normas para ensayos:

SEM: La microscopía electrónica de barrido (SEM) es un método de formación de imágenes de superficie en el que un haz de electrones incide a través de la superficie de una muestra. (Lin, 2014)

TEM: La técnica consiste en incidir un haz de electrones que se transmite a través de una muestra de lámina muy delgada, durante el cual los electrones incidentes que interactúan con la muestra se transforman en electrones dispersados elásticamente, electrones dispersos o electrones dispersos de manera inelástica. (Lin, 2014)

LDS: Varias características físico-químicas de los nanomateriales incluyendo el tamaño hidrodinámico, forma, estructura, estado de agregación, y la conformación biomolecular se pueden explorar utilizando técnicas de dispersión de radiación. (Sapsford, 2011)

Capítulo 3. Diseño metodológico

3.1 Tipo de investigación

En este proyecto se realizará una investigación de laboratorio de tipo experimental la cual se ocupa de la orientación dirigida a los cambios y desarrollos. El control adecuado es el factor esencial del método utilizado. (Perfil, 2018).

En esta investigación se presenta la manipulación de variables no comprobadas, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir la situación, manipulando las variables a través del razonamiento hipotético-deductivo en el cual emplearemos muestras representativas y un diseño experimental como estrategia de control a través de una metodología cuantitativa, se realizara una medición sistemática y el análisis estadístico como característica para analizar los datos a través de varias fases.

3.2 Población

La población en esta investigación corresponde muestras de nanocapsulas de complejo B para su absorción.

3.3 Muestra

La muestra de esta investigación se detallará a continuación con relación a cada prueba a ejecutar y las variables manipuladas.

Se realizaron dos muestras la primera eran nanocapsulas de pva para la formación de nanocapsulas de pva sin medicamento.

Luego para la formación de nanocapsulas de complejo B se realizan dos fases una acuosa y otra orgánica para la preparación por el método de la bomba peristáltica la cual se define en la preparación de muestras

3.4 Técnicas de recolección de información

La técnica utilizada en este proyecto es la observación, la cual consiste en la indagación sistemática, dirigida a estudiar los aspectos más significativos de los objetos, hechos, situaciones sociales o personas en el contexto donde se desarrollan normalmente; permitiendo la comprensión de la verdadera realidad del fenómeno. .

Se observará y analizará el comportamiento de las nanocapsulas que son el objeto de estudio para determinar su viabilidad en la absorción

3.5 Instrumentos de recolección de información

Se llevarán a cabo pruebas de laboratorio, para evaluar las variables que son objeto de estudio con el fin de identificar discrepancia alguna y demostrar los resultados. Además, se recolectará y analizarán los datos para contestar las preguntas de investigación y probar la hipótesis establecida.

Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM-6490LV - Universidad de Antioquia.

Microscopio Electrónico de Barrido JEOL - Universidad Pontificia Bolivariana.

Microscopía electrónica de transmisión JEOL JSM-6701F operado a 5 kV - Universidad pontificia bolivariana

Dispersión dinámica de luz – universidad pontificia bolivariana

3.6 Fases del proyecto de investigación

Fases para el desarrollo de la propuesta cumpliendo los objetivos específicos: Se formula cada una de las fases y sus respectivas actividades a fin de dar solución al problema de investigación, las cuales son:

Fase 1:

Selección de polímero para nanocapsulas

Revisar el estado del arte de la encapsulación de complejo B

Preparación de las soluciones de los polímeros para formación de nanocapsulas

Síntesis de nanocapsulas

Fase 2:

Caracterización de las nanocápsulas

Caracterización por SEM

Caracterización por TEM

Caracterización por DLS

Fase 3:

Evaluación de la concentración encapsulado

Realiza el montaje de liberación

Elaboración de curva de concentración en espectroscopia UV

Realizar la lectura de liberación en el tiempo

Análisis de resultados

Revisar los resultados obtenidos

Analizar los resultados obtenidos

Escribir la tesis

Escribir un artículo basado en los resultados

Capítulo 4. Administración del proyecto

4.1 Selección de polímero para nano capsulas

El material para seleccionar fue el polivinilo de alcohol (pva), este material presenta unas propiedades mecánicas y químicas las cuales son actas para el consumo del ser humano,

El pva es un material aprobado por la FDA la cual se basa en la aprobación de polímeros utilizados para la absorción y expulsión de las partículas poliméricas el material seleccionado tiene en el mercado un valor monetario muy asequible y para una producción en masa es estable su valor.

4.1.2 Revisar el estado del arte de la encapsulación de complejo B:Para desarrollo de esta actividad se realizó una investigación en algunas de las bases de datos las cuales son:

Scopus: es la base de datos de citas y citas más grande del mundo de literatura de investigación revisada por pares. Con más de 22.000 títulos de más de 5.000 editores internacionales. (“Scopus - Búsqueda de un perfil de autor,” n.d.)

Scienedirect: Búsqueda de revistas revisadas por pares, artículos, capítulos de libros y contenido de acceso abierto. (“ScienceDirect.com,” n.d.)

Redalyc: Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Impulsada por la UAEM para la difusión de la ciencia en acceso abierto. (“Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España,” n.d.)

Scielo: Es una biblioteca virtual para Latinoamérica, el Caribe, España y Portugal. Se desarrolla como una red que cuentan con sitios de operación regular en cada país e iniciativas en desarrollo. (“SciELO - Scientific electronic library online,” n.d.)

4.1.3 Preparación de las soluciones de los polímeros para formación de nano capsulas.

En la preparación obtuvimos dos muestras las cuales son una sin medicamento para la comprobación de las nanocapsulas y otra con el medicamento dentro de cada una de dichas capsulas

Primera solución nanopartículas de pva

Previo a la encapsulación del fármaco, se prepararon nanocápsulas sin fármaco para poder establecer los parámetros que permitieron que el método fuera reproducible. La metodología empleada contempla la realización de dos fases: una fase orgánica y la fase acuosa. La fase orgánica está compuesta por la solución del solvente-polímero. La solución se prepara al disolver 120 mg de PVA (diferentes pesos moleculares) en 30 ml de acetona en un matraz de Erlenmeyer, con agitación magnética permanente (700 rpm) a 45 °C de temperatura durante 45 minutos. Luego de realizar los estudios previos a fase orgánica utilizando el procedimiento descrito. En

otro recipiente de vidrio se obtuvo la fase acuosa mediante la disolución del surfactante (Tween 80, Polaxamer 188 y Pluronic F127) y agua desionizada en una relación de 0,25 w/v.

Luego de obtener las dos fases se procedió a realizar el proceso de síntesis de las nanocápsulas, para ello, la fase acuosa se introduce en el sistema en el sistema recirculante a través de la manguera de silicona a la que se le inyecta la fase orgánica. Luego de inyectar la fase orgánica en la fase acuosa se eliminó el solvente de la suspensión; para ello se agitó la solución por 12 horas. El tiempo utilizado de acuerdo a la revisión de diferentes reportes es suficiente para la evaporación total de la acetona debido a que es un solvente altamente volátil (Chauhan, 2010), (Eviner, 2012), (Kalita, 2015.), (Leung, 2015.). Posteriormente, la suspensión se sometió a centrifugación a 9000 rpm por 15 minutos, se eliminó el sobrenadante y se agregó de nuevo agua desionizada hasta completar un volumen de 30 ml. Las nanocápsulas fueron suspendidas mediante agitación en vórtex y seguidamente se sometieron de nuevo a centrifugación. Finalmente, luego de tres ciclos se obtienen las nanocápsulas recolectadas en una suspensión acuosa

La síntesis de las nanocápsulas de PVA se realizó mediante la variación de parámetros como el peso molecular, el surfactante, la relación de las fases y la cantidad de fármaco encapsulado. Inicialmente se sintetizaron nanocápsulas variando el peso molecular Mn: 10,000-14.000 g/mol; Mn: 45.000 g/mol y Mn: 80.000 g/mol, con los parámetros establecidos. Cabe destacar que la concentración de polímero y del surfactante no se varió durante todo el diseño experimental, teniendo en cuenta que por estudios previos y reportes de la literatura se

determinó que el aumento de estos parámetros aumenta considerablemente el diámetro de las nanocápsulas. Se eligió Tween 80 como surfactante para este ensayo, en vista de que es el mayormente reportado en la literatura (Chauhan, 2010), (Ding, 2014), (Kim, 2012), (Kalita, 2015.).

Segunda muestra nanocapsulas de PVA formadas con el medicamento

se utilizó el diagrama de fases de la Figura 6, donde se determinó que el flujo es turbulento.

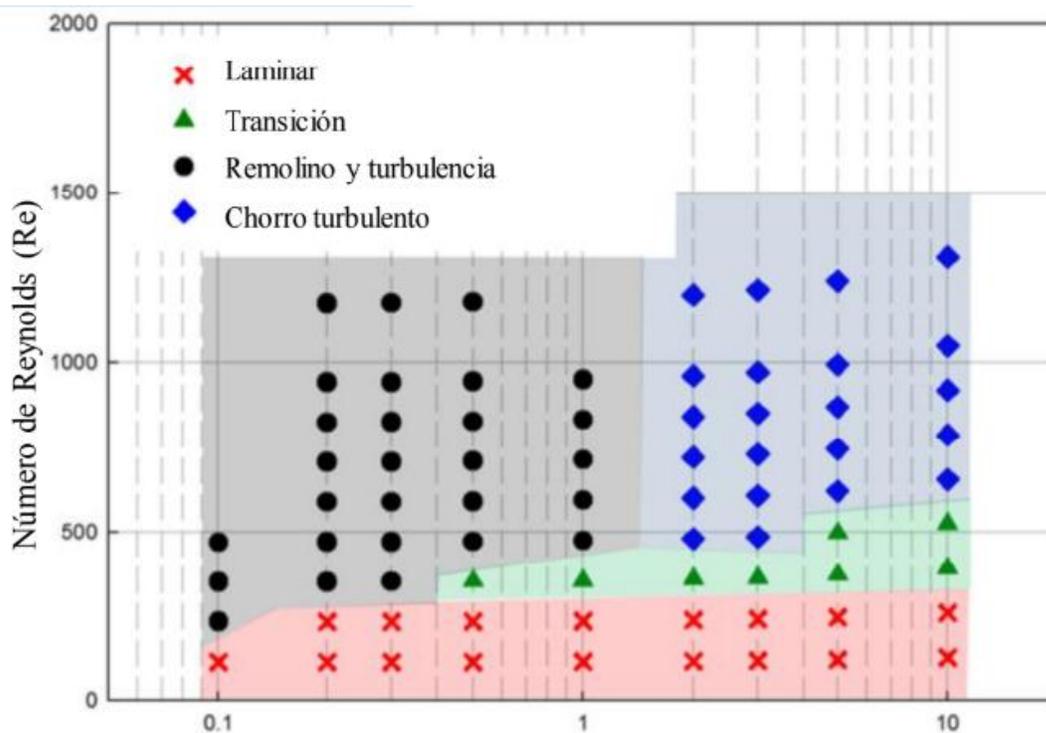


Figura 17. Diagrama de fases del régimen de flujo en términos del factor R y del número de Reynolds (Re) (Lim, 2014)

Luego de establecer las velocidades del sistema, se procedió a sintetizar la nanocápsulas de PVA. La síntesis de las nanocápsulas se realizó a temperatura ambiente, utilizando los

precursores que se describen a continuación: polímero Polivinilo de alcohol Mn: 10,000-14.000 g/mol; Mn: 45.000 g/mol, Mn: 80.000 g/mol, Tween 80, Polaxamer 188, glutaraldehido como surfactantes, agua desionizada como no solvente, y Complejo B medicamento encapsulado. Los reactivos químicos utilizados en la síntesis de las nanocápsulas de PVA fueron de grado analítico.

Luego de establecer el peso molecular apropiado para el pva se realizó el análisis de la variación del surfactante (Tween 80, Pluronic F127, Polaxamer 188) en el tamaño de las nanocápsulas, para ello se mantuvo constante otros parámetros del proceso como: el peso molecular del polímero, la relación de las fases, la concentración del polímero y del surfactante. Igualmente se evaluó la variación del tamaño de con diferentes relaciones de las fases (2:1, 5:1, 10:1), al igual que en el caso anterior se mantuvieron constantes el peso molecular del polímero, la relación de las fases, la concentración del polímero y el surfactante (Tween 80). Después de establecer estos parámetros, se realizó el análisis de encapsular diferentes cantidades de complejo B en el tamaño las nanocápsulas utilizando diferentes relaciones de fármaco/polímero (10%, 15%, 20% w/w masa de complejo b/masa polímero) en la fase orgánica. Este análisis se realiza como consecuencia de que en diferentes reportes varían la cantidad de pva cargada en las nanocápsulas (Chauhan, 2010), (Ding, 2014)¹, (Leung, 2015.), sin embargo, no se reporta la incidencia en el tamaño de la nanocápsula. Para determinar la influencia de los parámetros estudiados en las características morfológicas

y de tamaño de las nanocápsulas, se utilizaron técnicas como: dispersión dinámica de luz (DLS) DLS, microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

4.1.4 Síntesis de nanocapsulas. La síntesis de las nanocapsulas de PVA se realizó, de acuerdo con la metodología reportada por Lim y colaboradores. (Lim, Ultra-high throughput synthesis of nanoparticles with homogeneous size distribution using a coaxial, 2014.)

La síntesis de las nanocápsulas se realizó por medio de un mezclador coaxial de flujo turbulento en un sistema recirculante, con el que se obtuvieron nanocápsulas con tamaños en un rango comprendido de 80 y 250 nm, variando el peso molecular del polímero, la concentración de las fases, el surfactante y la cantidad de complejo B encapsulada. Antes de iniciar el proceso de síntesis de las nanocápsulas es necesario garantizar que el flujo del sistema cumpla la condición turbulenta. Esta condición se debe a que el flujo turbulento permite que el fármaco hidrófobo y el polímero se co-precipiten muy rápidamente formando cápsulas en escala manométrica. (Lim, 2014.), (Z. Zhu, 2014), (Prud'homme, 2015.) Para ello hemos realizado un montaje aproximado al construido por Lim y colaboradores (ver **Figura18**). (Lim, Ultra-high throughput synthesis of nanoparticles with homogeneous size distribution using a coaxial, 2014.) El montaje consiste en un conducto de silicona por el que circula la fase acuosa impulsada por una bomba peristáltica Masterflex® a una velocidad de 30900 ml/h, en ella se inyecta la fase orgánica a través de una jeringa con una aguja 27 G (0,4*13mm) a una velocidad de 200 ml/h,

este flujo es impulsado por una bomba de inyección Colp Parmer®. En los párrafos siguientes se describe el proceso con el cual se establecieron las velocidades del sistema.

La caracterización del flujo se realizó por medio de la metodología y los resultados encontrados por Lim. (Lim, Ultra-high throughput synthesis of nanoparticles with homogeneous size distribution using a coaxial, 2014.) El número de Reynolds y la relación de las velocidades de los chorros se calcularon empleando las ecuaciones planteadas por dicho autor, las cuales se presentan a continuación:

$$U_i = \frac{4 Q_i}{\pi d_i^2} \quad \dots (2)$$

Dónde:

u_i y Q_i = velocidad de inyección y flujo volumétrico de la fase orgánica, d_i = diámetro de la aguja.

$$U_o = \frac{4 Q_o}{\pi (D^2 - d_i^2)} \quad \dots (3)$$

Dónde: u_o y Q_o = velocidad y flujo volumétrico de la fase acuosa, D = diámetro de la manguera d_i = diámetro de la aguja.

$$R = \frac{U_i}{U_o} \quad \dots (4)$$

Donde R = relación de las velocidades de los chorros, u_i = velocidad de inyección de la fase orgánica y u_o = velocidad de la fase acuosa.

$$Re = \frac{Q D}{\nu A} \quad \dots (5)$$

Donde Re = número de Reynolds, Q = suma de los caudales, ν es la viscosidad del fluido, A = área interior de la manguera

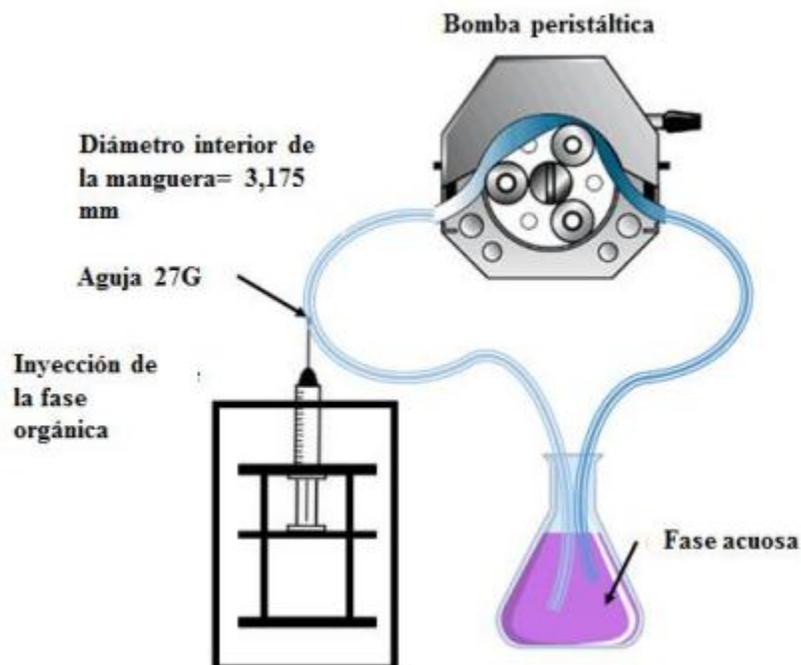


Figura 18. Sistema empleado para síntesis de nanocapsulas de complejo B (Lim, 2014.).

4.2 Caracterización mecánica de las nanocapsulas

Para la caracterización solo se prepararon dos muestras una de ellas solo son nanocapsulas de pva y otra muestra contendrán las capsulas de pva con el medicamento las cuales se explicaron el método de realización por medio de la muestra.

4.2.1 Caracterización por SEM

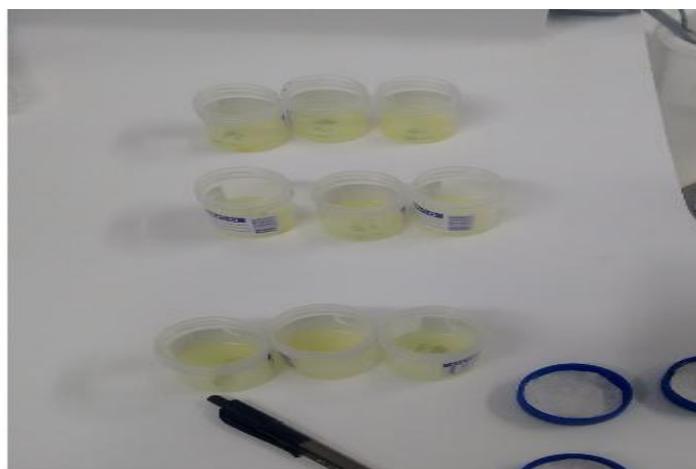


Figura 19. Imagen de las soluciones preparadas para la curva de liberación

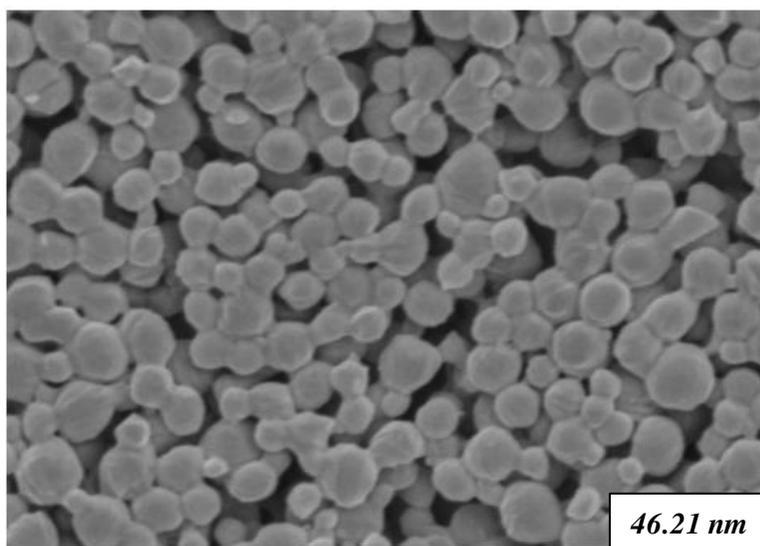


Figura 20. Imagen SEM de las nanocapsulas obtenidas de PVA con complejo B

4.2.2 Caracterización por TEM. La morfología de las nanocápsulas de PVA obtenidas con y sin Complejo B se determinó mediante imágenes TEM como se muestra en las Figuras. Tampoco se observaron aglomeraciones de las nanocápsulas en las imágenes analizadas. En la Figura 21 es apreciable que las nanocápsulas están vacías, se observa la coraza de las nanocápsulas, mientras que en la Figura 22 a) y b) se observa la diferencia en la morfología entre las nanocápsulas de PVA sin y con Complejo B.

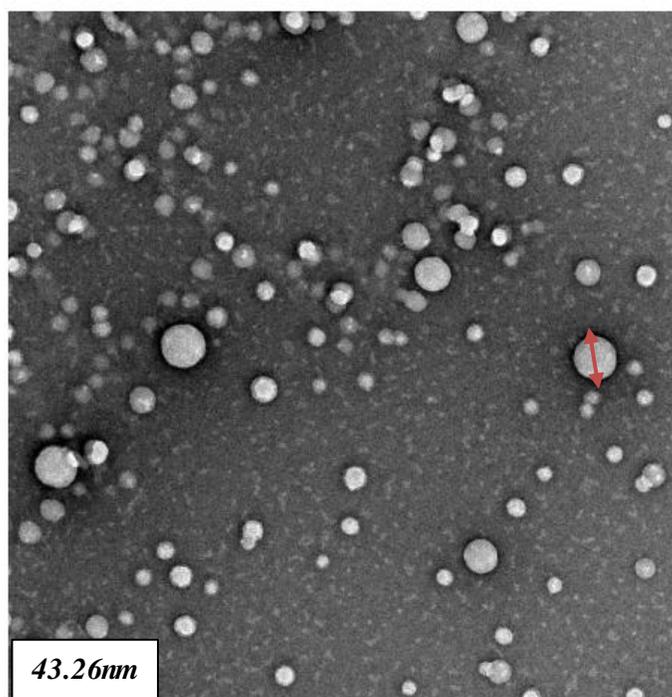


Figura 21. Imagen TEM nanocápsulas poliméricas de PVA sin medicamento.

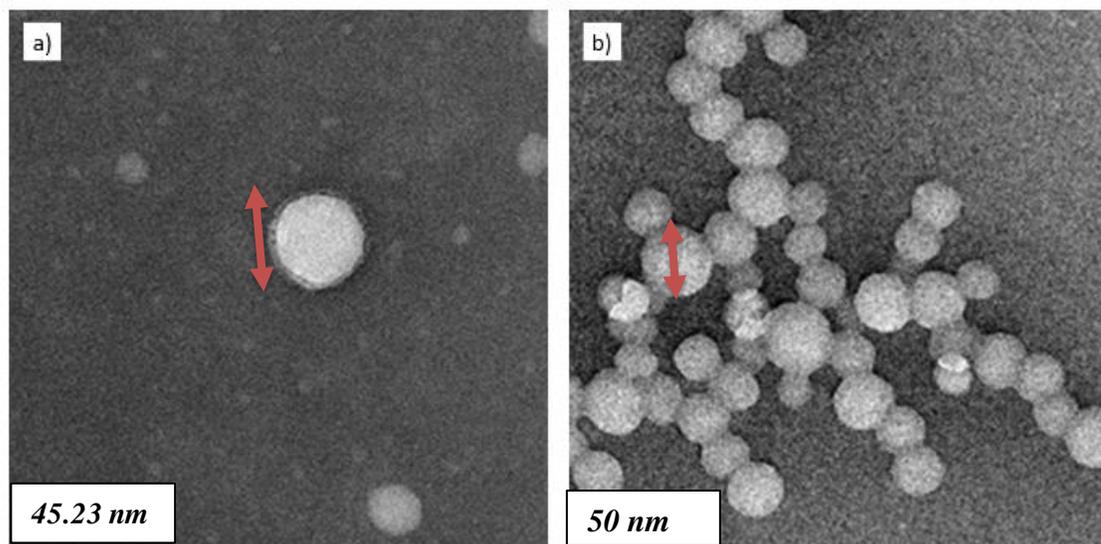


Figura 22. Imagen TEM nanocápsulas poliméricas de PVA a) sin Complejo B, b) con Complejo B.

4.2.3 caracterización DLS. El surfactante que se usó para generar las nanocápsulas fue diámetro es el Tween 80 (36.88-43.55 nm). La polidispersidad de estas nanocapsulas medidas en el DLS fue de 0.211 a 0.233 como se observa en la figura 23, las nanocápsulas obtenidas cuentan con diámetros en un rango de 43.12-49.78 nm y la polidispersidad más baja (0.138-0.160). Adicionalmente, las relaciones volumétricas 2:1 y 5:1 de polímero complejo B presentaron las nanocápsulas de menor diámetro y entre ellas no se encontró diferencia estadística. Se realizaron ensayos de encapsulación con Complejo B al 10% respecto al peso del PVA, el diámetro de las nanocápsulas y el índice de polidispersidad incrementaron ligeramente con la adición del medicamento como se puede observar en los histogramas obtenidos por DLS en la Figuras 24

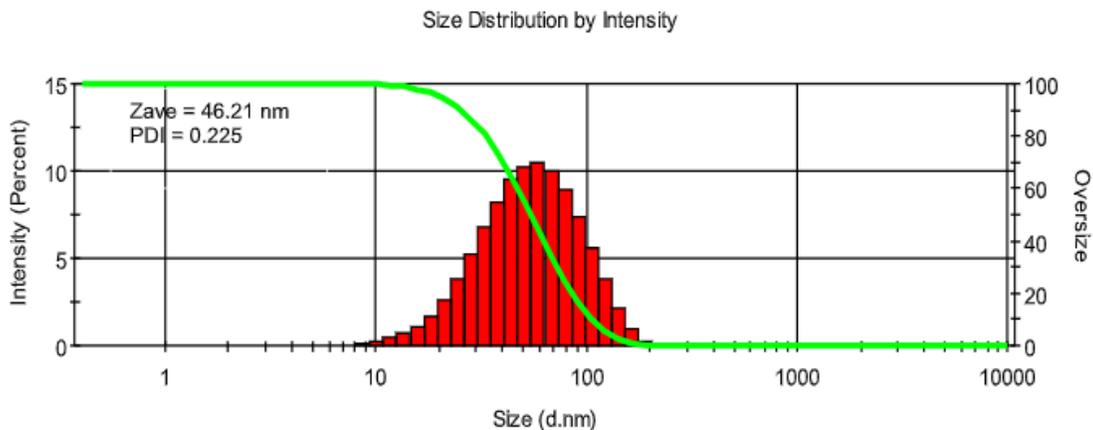


Figura 23. Histograma obtenido por DLS para las nanocápsulas con 10 % de Complejo B.

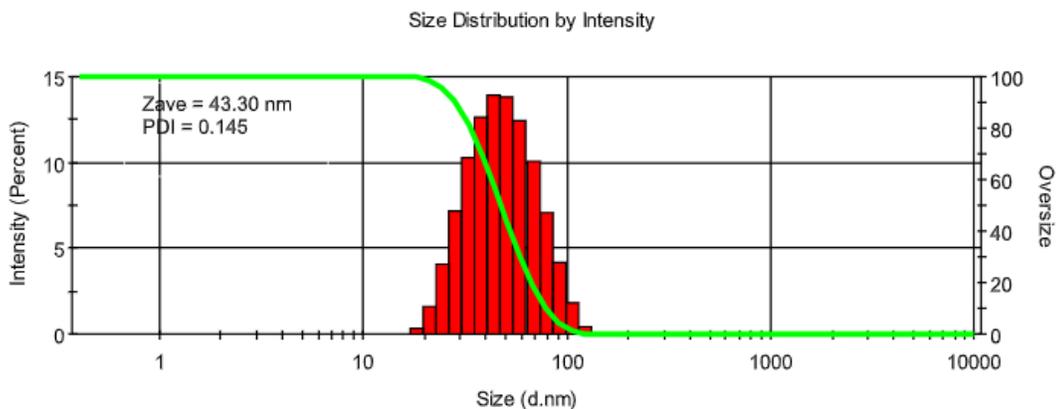


Figura 24. Histograma obtenido por DLS para las nanocápsulas sin Complejo B.

4.3 Evaluación de la concentración encapsulado

se realizó el cálculo de la eficiencia de la encapsulación empleando la **ecuación 6**. Es importante resaltar que el procedimiento empleado para obtener la curva de calibración que permitió cuantificar la absorbancia del complejo b no encapsulada, se realizó de acuerdo al método desarrollado por (P. V. Kadam, "Development and validation of UV spectrophotometric

method for the estimation of curcumin in cream formulation; P. V. Kadam, “Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in cream formulation,” , 2013). Para ello se tomaron mediciones de la absorbancia del sobrenadante y de la solución con el complejo B cargada inicialmente usando un espectrofotómetro UV, posteriormente con estos valores se calculó la eficiencia de la encapsulación a través de la **ecuación 6.**

$$\frac{\text{complejo b no encapsulado}}{\text{complejo b cargado inicialmente}} \times 100 \quad \dots(6)$$

Las nanocápsulas sintetizadas fueron almacenadas en recipientes para su posterior incorporación y el desarrollo de las nanocapsulas. Por otra parte, las suspensiones obtenidas de la síntesis fueron sometidas a un proceso de liofilización, con el fin de determinar la cantidad de nanopartículas producidas por cada proceso de síntesis. Para ello, se utilizó la metodología de (Jain, 2013.), las suspensiones de nanopartículas se introdujeron en recipientes y se sometieron a un proceso de congelación mediante la inmersión en nitrógeno líquido.

Posteriormente se introdujeron en un congelador SANYO modelo MDF-C8V1, a una temperatura de -80 °C, por un periodo de 1 hora. Terminado este tiempo los recipientes se llevaron al liofilizador LABCONCO modelo 7934021, cuya presión de operación fue de 0.023 mBar, donde se dejaron por 24 horas; transcurrido este periodo se obtuvieron las nanocápsulas liofilizadas (Jain, 2013.)

4.3.1 Realiza el montaje de liberación. El ensayo de liberación se realizó para las nanocapsulas que contenían complejo B durante un tiempo de 45 días, con la ayuda de la curva de calibración se calculó el porcentaje de liberación de complejo B y se presentó en función del tiempo, de acuerdo a la ecuación. Las alícuotas se tomaron de la solución por triplicado, se centrifugaron y se cuantificaron por espectrofotometría UV-Visible, a una longitud de onda de 426 nm, determinando así la concentración de complejo B en el medio de liberación a distintos tiempos.

Se ha realizado un estudio entorno a la cinética de liberación obtenida de los ensayos de liberación del complejo B, con la finalidad de determinar la velocidad con la que el sistema desarrollado controla la elución del complejo. Se ha podido determinar que se presentan tres etapas, estas se diferencian por la velocidad de liberación. Se debe tener en cuenta la presencia de etanol en la solución, el cual favorece la solubilidad y permite una completa disolución del complejo B.

Las nanocapsulas sintetizadas presentaron perfiles de liberación similares, en la Figura 25 se observa el comportamiento de elución de complejo B a partir del material compuesto. La liberación de complejo B se mantuvo constante al menos durante 18 días sin presentar efecto de ráfaga. Luego de 45 días en el sistema solo se ha liberado el 60% del fármaco total cargado en las nanocapsulas.

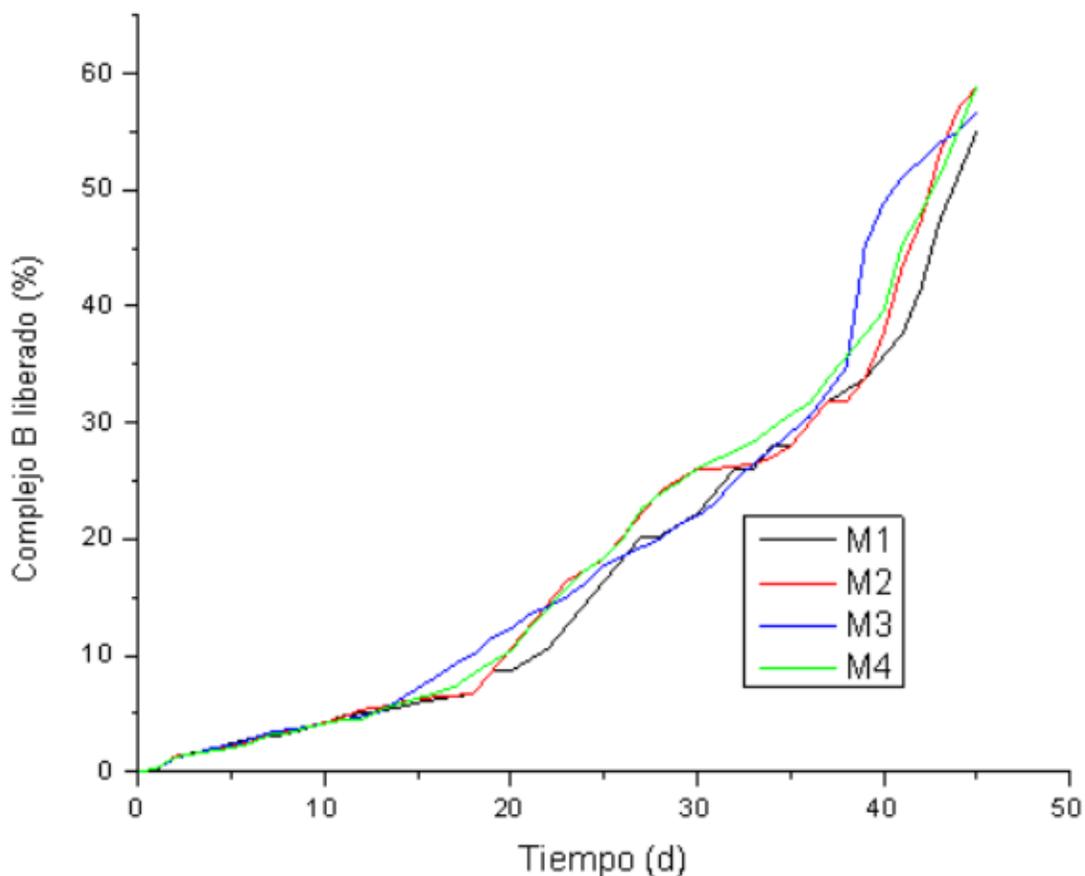


Figura 25. Perfil de liberación in vitro de las nanocapsulas de complejo B

Las muestras analizadas empezaron a liberar complejo B a una velocidad de $4,34 \mu\text{g}/\text{día}$ durante los 18 días iniciales, hasta liberar el 7% del total del fármaco cargado, las muestras mantienen la misma velocidad de liberación durante este periodo. Posteriormente, durante los días 19 al 31 la liberación para la muestra M 1 con línea de color rojo se realizó a una tasa de $5,95 \mu\text{g}/\text{día}$, y para la muestra M 2 de color negro a una velocidad de $5,45 \mu\text{g}/\text{día}$. Finalmente, la velocidad de liberación para M 1 se realiza a una tasa de $9,23 \mu\text{g}/\text{día}$ hasta alcanzar el 60% del total de complejo B encapsulado y para M 2 a una velocidad de $9,02 \mu\text{g}/\text{día}$ hasta alcanzar el 57% del total de complejo B encapsulado

4.3.2 Elaboración de curva de concentración en espectroscopia UV. Antes de realizar el comportamiento *in vitro* de las nanocapsulas, se realizó una curva de calibración donde se logró determinar la absorbancia de diferentes concentraciones de complejo B disuelto en la solución de agua: etanol, usando un espectrómetro ultravioleta visible (UV-Vis) a una longitud de onda de 426 nm. En la Figura 26 se observa la curva de calibración obtenida del ensayo. Para el calibrado se utilizaron patrones de complejo B de concentraciones variables entre 0.25 y 10 µg/ml en agua: etanol.

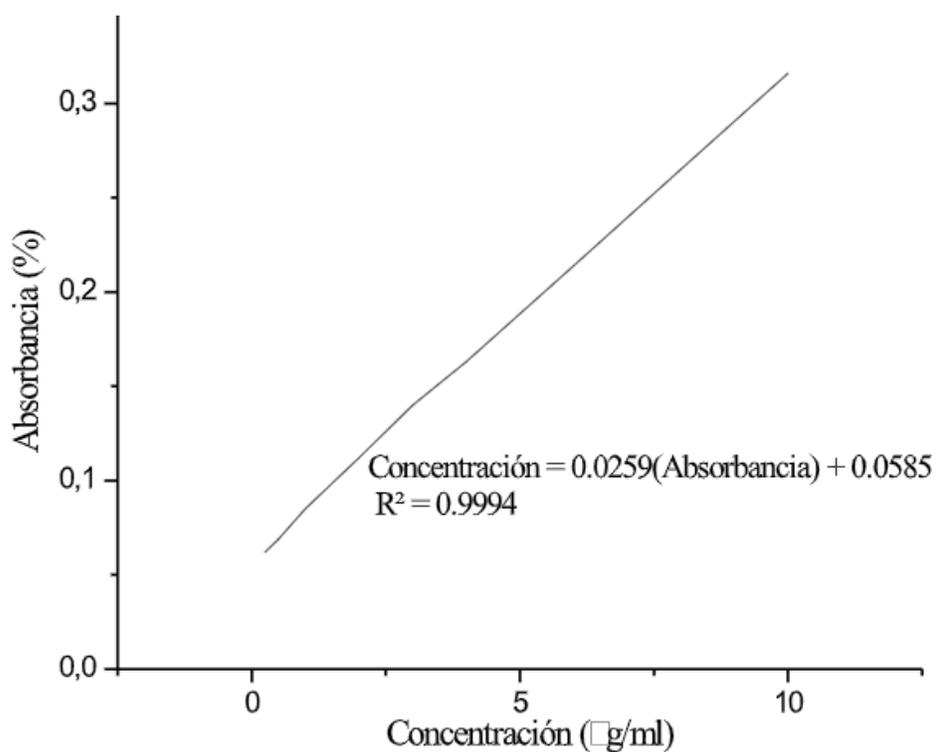


Figura 26. Curva de calibración realizada para complejo B disuelta en agua/etanol

4.3.3 Realizar la lectura de liberación en el tiempo. La liberación in vitro del sistema desarrollado se ajustó a dos modelos matemáticos presentando en los dos casos altos valores de coeficiente de regresión en diferentes etapas de liberación del sistema. Los modelos matemáticos utilizados son los siguientes:

Modelo Higuchi:

El modelo de la ley del exponente, Korsmeyer-Peppas:

En la Figura 27 y la Figura 28, se presenta el comportamiento de la cinética de liberación ajustada a los modelos matemáticos. De acuerdo con la gráfica el modelo matemático de Higuchi mostró que el ajuste de regresión no es adecuado para el tipo de liberación que presentó el sistema. No obstante, el ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas permitió la obtención de un mejor ajuste lineal de los datos.

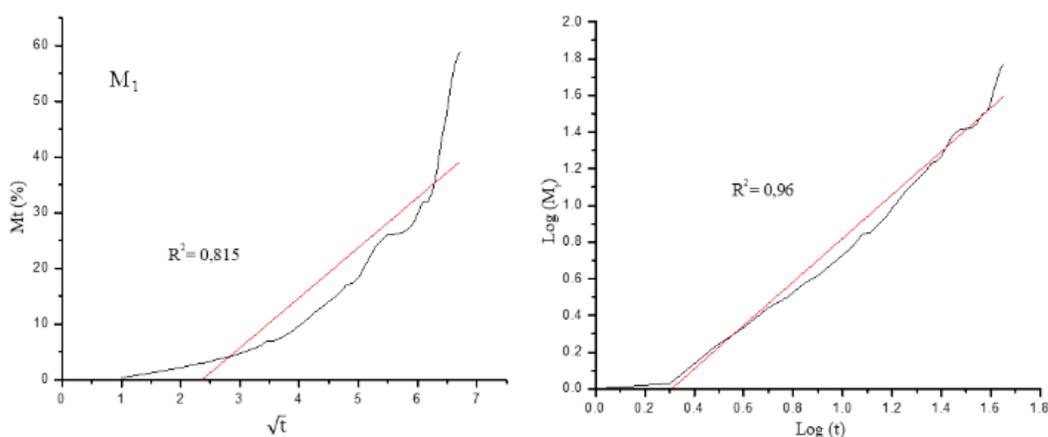
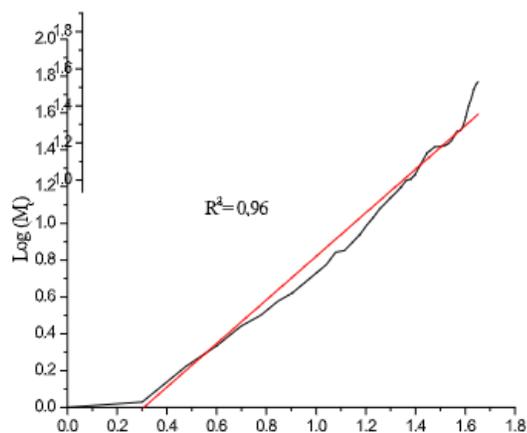
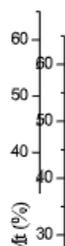
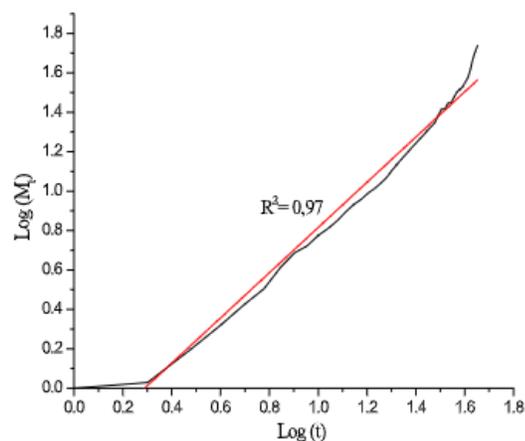
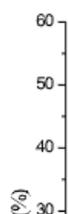


Figura 27. Ajuste al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas para M 1

De acuerdo con la información presentada en la gráfica, se halló la relación de la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$) respecto a la cantidad de complejo B liberado ($M t$), los valores del coeficiente de correlación no pueden considerarse significativos (0,815; 0,825; 0,8662; 0,8119) considerando entre el 55 y el 60% del compuesto liberado. Los valores del coeficiente de difusión son superiores a 1 en los dos casos analizados. Con respecto a lo anterior podemos inferir con no se presenta en su totalidad relaciones proporcionales entre la raíz cuadrada del tiempo y la cantidad de complejo B liberado, es decir, no se puede considerar que existe un proceso de difusión del fármaco a partir de la matriz.



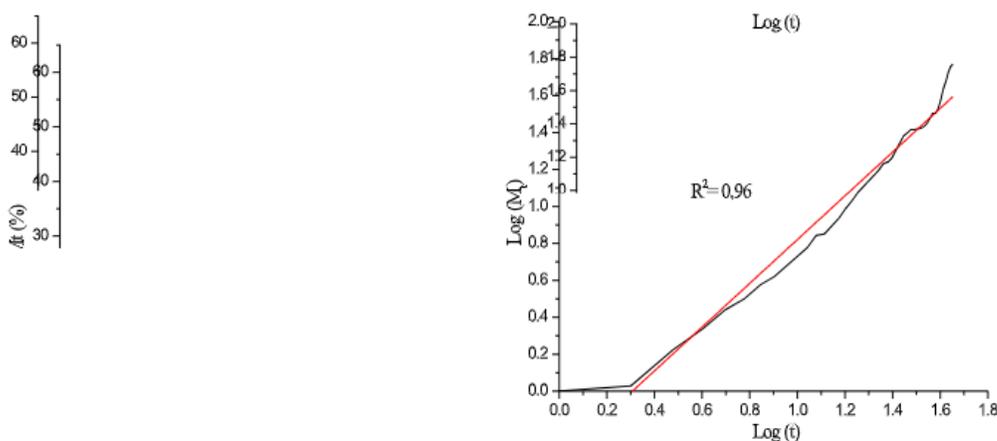


Figura 28. Ajuste al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas para las muestras M2, M3 y M4

Por otra parte, se aplicó la ecuación de Korsmeyer-Peppas, con este modelo y por medio de un proceso de linealización logarítmica, se encontró que el sistema de liberación obtenido presenta coeficientes de correlación de 0,97; 0,96; 0,9762 y 0,9563 por lo que se puede determinar el exponente de liberación n que indica el mecanismo de liberación de la pendiente de la recta. El valor del exponente de la ecuación para la liberación sostenida de complejo B es n para M 1 = 0,68; M 2 = 0,7; M 3 = 0,68; M 4 = 0,6. El valor obtenido está dentro del rango $0,45 < n < 0,89$, lo que indica que el mecanismo de liberación es anómalo Figura 29. (Sandoval, 2008)(Modelo no Fickian), podría ser el principal mecanismo de liberación del complejo B en el medio de liberación.

Capa delgada	Cilindro	Esfera	Mecanismo de liberación
0,5	0,45	0,43	Difusión "Fickiana"
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anómalo
1,0	0,89	0,85	Transporte tipo I

Figura 29. Exponente " n " de la ecuación modelo de Korsmeyer-Peppas y mecanismo asignado a la liberación del fármaco (Sandoval, 2008)

Capítulo 5. Conclusiones

Se lograron sintetizar nanocápsulas de PVA cargadas con complejo B con un diámetro promedio de 46.21 nm y un índice de polidispersidad de 0.225.

Se lograron sintetizar nanocápsulas de PVA cargadas de complejo B y observar el cambio en la morfología (diámetro) de estas al ser cargadas con el medicamento. Es decir, el diámetro promedio y el índice de polidispersidad de las nanocápsulas PVA presentan un incremento de 2,91 nm y 0.08 respectivamente con la adición o carga de Complejo B.

Se logró desarrollar una técnica para sintetizar micro y nanocápsulas poliméricas a partir de diferentes formulaciones que cumplieran con bajos índices de polidispersidad. Lo que se traduce en que la técnica de nanoprecipitación modificada permite sintetizar cápsulas de forma reproducible.

Se tomó los modelos de Korsmeyer-Peppas como los más ajustables para la liberación del complejo b.

La curva de liberación más óptima para la nanoemcapsulacion la es m 1 se realiza a una tasa de 9,23 $\mu\text{g}/\text{día}$ hasta alcanzar el 60% del total de complejo b encapsulado

Referencias

- A. Teleki, A. H. (2012). 100 years of vitamins: the science of formula-. *Angew Chem Int Ed Engl.*
- Alex Brito, a. E. (Santiago nov. 2012). *Folatos y vitamina B12 en la salud humana*. Revista médica de Chile: vol.140 no.11.
- Allen, R. H., Seetharam, B., Podell, E., & Alpers, D. H. (2014). Effect of proteolytic enzymes on the binding of cobalamin to r protein and intrinsic factor: in vitro evidence that a failure to partially degrader protein is responsible for cobalamin malabsorption in pancreatic insufficiency. *1 de enero de 1978 vol.61*, 47-54.
- Andrews A., A. A. (5 de marzo de 2014). Ingesta de vitaminas hidrosolubles en mujeres, Revista ANACEM. Chile. 2007; 1: 25-29. Fecha de acceso. URL disponible en: . *anacem*, vol.1 25-29.
- ardo Arquero. (Fecha de acceso 4 de marzo de 2014). La importancia de las vitaminas en la nutrición de personas que realizan actividad físicodeportiva. . *Rev.int.med.cienc.act.fís.deporte. España. 2004;*, 4(16): 233-242. .
- Arribas, R. M. (2008). aplicaciones terapeticas de los probioticos. *elsevier*, vol. 49.
- Berta N. Estevinho, A. M. (2014). Microencapsulation of β -galactosidase with different biopolymers by a spray-drying process. *Food Research International*, 64, 134-140.
- C. C. DeMerlis and D. R. Schoneker. (2003). Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). *Food Chem. Toxicol*, vol. 41, no. 3, pp. 319–326.
- C. Kim. (2012). “5-aminolevulinic acid-incorporated poly(vinyl alcohol) nanofiber-coated metal stent for application in photodynamic therapy,”. *Int. J. Nanomedecine*, vol 7, 1997–2005,
- calloquium. (out-diez. 2017). *Desarrollo de nano y micropartículas de acetato de celulosa para sistemas de liberación controlada de anti-inflamatorios no esteroides*. exactarum: v.9, n.4.
- Chauhan, M. M. (2010). Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved. *elsavier*, 351 (2010) 19–29.
- cole-parmer. (s.f.). *nanoencapsulacion de meicamentos*. modelo EW-04711-40.
- Preparation, characterization and application and application of pyrene-loaded methoxy poly(ethyleneglycol)–poly(lactic acid) copolymer nanoparticles. (*Colloid Polym Sci* (2004)). *ORIGINAL CONTRIBUTION*, 282: 1323–1328.
- D, m. (16 November 2007). shelf life food industry briefing series blackwell science. *wiley online lybrary upb*.
- D. Jain, R. A. (2013.). “Studies on stabilization mechanism and stealth effect of poloxamer 188 onto PLGA nanoparticles. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, , vol. 109, pp. 59–67, .
- Dantí, C. M. (20 diciembre, 2017). *Tiamina*. vol.1.
- diarios, e. d. (2007). Ingesta de vitaminas hidrosolubles en mujeres. *anacem*, 25-29.
- Díaz, D. C. (Diciembre 2014). *DISEÑO Y EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MICRO Y NANOENCAPSULACIÓN PARA SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA*. Biotecnología Marina de sevilla: 12-13. .

- Doppalapudi, J. K. (2014.). Biodegradable polymers-an overview. *Polym. Adv. Technol*, vol. 25, no. 5, pp. 427–435.
- es.123rf.com. (2015). *Foto de archivo - Fórmula química estructural y el modelo de nicotinamida niacinamida, vitamina b3, 2d y 3d, aislado en fondo blanco*. coombia: foto.
- et, D. M. (2011). Fabrication and controlled release of electrosprayed ReoPro-loaded metal surface for vascular stent. *macromol res*, vol.19,no5. pp 501-506.
- et, J. L. (2014.). Ultra-high throughput synthesis of nanoparticles with homogeneous size distribution using a coaxial. *ACS Nano*, vol. 8, no. 6, pp. 6056–6065, .
- et, T. S. (2015). Properties and applications of polyvinyl alcohol, halloysite nanotubes and their nanocomposites. *elsevier, Molecules*, vol. 20, no. 12, pp. 22833–22847.
- Eviner, W. K. (2012). The leaf economic spectrum drives litter decomposition. *Institute of Ecological Science, Department of Systems Ecology, Faculty of Earth and Life Sciences, Vrije Universiteit, De Boelelaan 1085, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands*, 1-10.
- Forrellat Barrios, G. H. (8 de marzo de 2014). Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. *Cubana Hematol Inmunol Hemoter. Cuba. 1999;*, 15 (3): 159-174.
- G., P. R. (2014.). Ácido fólico y vitamina B12 en la nutrición humana Fecha de acceso 5 de marzo de URL disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_2_98/ali07298.pdf. *Cubana Aliment Nutr. Cuba.*, 12(2):107-119.
- Herbert, V. (Septiembre de 1988)). Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assay [Vitamina B12: fuentes vegetales, requerimientos y un ensayo]. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 48 852-858.
- Hernández Rodríguez, S. G. (1999). Tratado de nutrición. *. 1o edición. Editorial Díaz de Santos. Madrid.*, 153-215 .
- Illera Martín, I. d. (España. 2010). Vitaminas y minerales. *. 1ra edición. Editorial Complutense.*, 13-80. .
- imagen+quimica+vitamina, g. (2015). *Foto de archivo - La vitamina B6 fórmula química, estructura molecular, ilustración vectorial médica*. colombia bogota: foto.
- J. VELASCO, M. D.-R. ((2000).). Oxidation of free and encapsulated oil fractions in dried microencapsulated fish oil. Vol. 51. Fasc.6. 439-446 .
- JEREZ, J. J. (04/26/2006). La encapsulación en alimentos. <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2006/04/26/.php>, 23292.
- Jhuly2, M. P. (Rev. Act. Clin. Med v.41 La Paz mar. 2014). Absorción, excreción y metabolismo de las vitaminas hidrosolubles. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 2304-3768.
- José María Obón de Castro M Rosario Castellar, M. A. (s.f.). TÉCNICAS DE SECADO POR ATOMIZACIÓN . www.upct.es/contenido/estudios_postgrado/programas_posgrado/Asignaturas/TECNICAS_DE_SECADO_ATOMIZACION1.pdf, 1-2.
- K. E. Sapsford, K. M. (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques,. *Anal. Chem*, vol. 83, pp. 4453–4488.
- Kalita, S. (2015.). Chloramphenicol encapsulated in poly-ε-caprolactone-pluronic composite: Nanoparticles for treatment of MRSA-infected burn wounds. *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, pp. 2971–2984.

- Kelly Johana Figueroa-López, O. L.-B.-C. (2015). Caracterización óptica y estructural de nanopartículas de *Allium sativum* L. impregnadas en lomo de bovino. *Bioteología* doi:<https://doi.org/10.15446/acag.v64n1.43651> e-ISSN 2323-0118, Volumen 64, Número 1, p. 54 - 60.
- Ku, D. W. (2010). "Mechanical evaluation of polyvinyl alcohol cryogels for. *j.med.devices-transactions asme*, vol.4 no.3 pp 8-13 .
- Laguno, J. S. (Volume 32, Issue 6, 2003, 382-387). Deficiencia de vitamina B12 y tratamiento por vía oral. Una opción tan eficaz como (todavía) poco utilizada. *elsevier*.
- LH, A. (2008). Causes of vitamin B12 and folate deficiency; 29 (2): 20-34. *Nutrition Bulletin*, vl.29 20-34.
- Lim. (2014). "Ultra-high throughput synthesis of nanoparticles with homogeneous size distribution using a coaxial,". *ACS Nano*, vol. 8, no. 6, pp. 6056-6065,.
- M. H. M. Leung, T. H. (2015.). "Nanoprecipitation and spectroscopic characterization of curcumin-encapsulated polyester nanoparticles. *Langmuir*, vol. 31, no. 42, pp. 11419-11427.
- M. I. Baker, S. P. (20012). A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic. *j.biomed.mater.res-parteb biomater*, vol.100 no.5 pp 1451-1457.
- Mariola Ferrández Rives, J. L. (Valencia, Julio de 2016). HIDROGEL NANOREFORZADO PARA LA LIBERACIÓN de proteínas para la piel. pagina 6.
- MATSUNO, S. A. (ago 1993). Tecnología de encapsulación de lípidos: técnicas y aplicaciones a la comida. *trends food sci. technol*, 256261.
- MJ Martín Villena, M. M. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *universidad de granada*, vol.5 .
- ORTEGA, S. H.-J. (Cartagena de Indias, Agosto 10 de 2011). obtención de nanotubos a partir de alfalactoalbumina para el encapsulamiento de aceite de arenque (*clupea harengus harengus*) que contribuyan a retrasar el proceso de oxidación de los ácidos grasos docosahexaenoico (dha) y eicosapentaenoico (epa). *Comité de Investigaciones y Proyectos de Grado Programa de Ingeniería de Alimentos Universidad de Cartagena*.
- P. A. Ramires and E. Milella. (2002). Biocompatibility of poly (vinyl alcohol) -hyaluronic acid and poly (vinyl alcohol) -gellan membranes crosslinked by glutaraldehyde vapors. *J. Mater. Sci*, vol. 3, pp. 119-123.
- P. A. Sandoval, Y. B. (2008). "Mecanismos generales de cesión de principios activos a partir de matrices monolíticas hidrofílicas preparadas con éteres de celulosa,. *Colomb. Cienc. Quím. Farm*, , vol. 37, no. 2, pp. 105-121,.
- P. V. Kadam, C. L. (, 2013). "Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in cream formulation,". *Pharm. Methods*, ., vol. 4, no. 2, pp. 43-45.
- P. V. Kadam, C. L. (s.f). "Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in cream formulation,. *Pharm. Methods*, vol. 4, no. 2, pp. 43-45, 2013.
- P.-C. Lin, S. L. (2014). techniques for physicochemical characterization of nanomaterials . *biotechnol. adv*, vol.32,no4. pp711-726.
- Pickering SU, J. C. (1907). *Pickering SU, J (1907)*. Chem. Soc., 91, 2001.

- Prud'homme, W. S. (2015.). Principles of nanoparticle formation by flash nanoprecipitation,. *Nano Today*, vol. 11, no. 2, pp. 212–227,.
- Puoci, F. (2015). Advanced polymers in medicine,: . *1st ed. New York Springer International publishing*.
- Q. Ding, T. N. (2014). “Preparation of curcumin-loaded poly(ester amine) nanoparticles for the treatment of anti-angiogenesis,”. *Biomed. Nanotechnol.*, vol. 10, no. 4, pp. 632–641,.
- R, M. G. (6 de marzo de 2014.). El valor del ácido fólico en la prevención primaria de defectos congénitos y otras enfermedades del ser humano. . *elsevier*.
- R. P. Shaik, P. K. (2012.). Crosslinked electrospun PVA nanofibrous membranes: elucidation of their physicochemical, physicomechanical and molecular disposition. *Biofabrication*, vol. 4, no. 2, p. 25002.
- Ramsden. (1903). *emulsion de gases*. proc. r. soc. 72,156.
- S. Fathollahipour, A. A. (2015). “Electrospinning ofpv/chitosan nanocomposite nanofibres containing gelatin nanoparticles as a dual drug delivery system. *j.biomed.mater.res-partA* , vol.103, no.12 pp 3852-3862.
- S.P.Cellet, E. P. (June 2014,). *Covalent TiO2/pectin microspheres with Fe3O4 nanoparticles for magnetic field-modulated drug delivery*. elsevier: Volume 67, Pages 43-52.
- VITAMINA HIDROSOLUBLES. (sÁBADO, 23 DE MAYO DE 2015). Manizales, Caldas, Colombia.
- Shackelford, F. (2005.). Introducción a La ciencia de materiales para ingenieros, 6th ed. *Pearson Educación, S.A.*
- SIGMA-ALDRICH®, “. S.-A. (2017). *SIGMA-ALDRICH®*, “Products,” *SIGMA-ALDRICH®*, 70.
- T, A. L. (07 de marzo de 2014). Piridoxina (Vitamina B6). . *Instituto de nutrición y salud Kellogg's 2012*.
- violeta mancilla davalos, d. m. (julio del 2014). *Nanoencapsulación de riboflavina en matrices poliméricas biodegradables empleando la técnica de secado por aspersión*. mexico D.F.: VOL.1, 1-90.
- w, r. (1903). emulsion de gases . *elsevier*, pg 72-156.
- wikipedia. (26 jul 2018). Glutaraldehído. *wikipedia*, 1.
- Z. Zhu. (2014). Flash nanoprecipitation: Prediction and enhancement of particle stability via drug structure. *Mol. Pharm*, vol. 11, no. 3, pp. 776–786.