



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

**SÍNTESIS DE NANOCÁPSULAS
POLIMÉRICAS A BASE DE ACEITE DE OLIVA
Y K-CARRAGENINA LIOFILIZABLES.**

TESIS

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta:

MARTÍN FRANCISCO ZAMARRÓN PULE

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2017

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

UNIVERSIDAD DE SONORA

VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 19 de Diciembre de 2017.

DR. ALEJANDRO VALENZUELA SOTO
ENCARGADO DEL DEPARTAMENTO
INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis Profesional “**SÍNTESIS DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS A BASE DE ACEITE DE OLIVA Y K-CARRAGENINA LIOFILIZABLES**”, presentada por:

MARTÍN FRANCISCO ZAMARRÓN PULE

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos parciales para la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

14/12/17
Fecha




DR. PAUL ZAVALA RIVERA

14/12/17



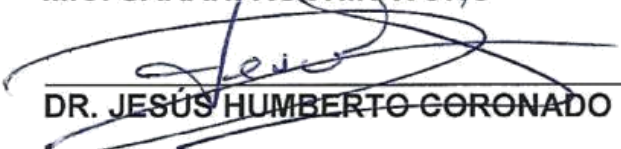
DR. EDUARDO LARIOS RODRÍGUEZ

14/12/17



M.C. SARAH ROCHIN WONG

14/12/17



DR. JESÚS HUMBERTO CORONADO LÓPEZ

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Paul Zavala Rivera, mi director de Tesis. Gracias por permitirme ser parte de un proyecto de investigación como lo fue éste, por su ayuda y asesoramiento. De igual manera, agradezco al Dr. Aarón de Jesús Rosas Durazo por su disponibilidad y paciencia al brindarme su apoyo. A Perla Saucedo, M.C. Sarahí Rochín y Anya por su amabilidad y disposición al brindarme su ayuda y apoyo en todo momento.

Agradezco a la Universidad de Sonora por los conocimientos y aptitudes que me otorgó a través de los profesores del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia; así mismo, a la empresa Rubio Pharma en especial a NICDET por permitirme desarrollar este trabajo en sus instalaciones.

DEDICATORIA

A mis padres por su gran amor y total apoyo.

A todas aquellas personas que han estado a mi lado y me han brindado su apoyo a través de esta gran etapa de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO	1
I.1. Justificación	2
I.2. Objetivo general.....	3
I.3. Objetivos Particulares	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
II.1. Biomateriales	5
II.1.1. Biomateriales metálicos	5
II.1.2. Biomateriales cerámicos	6
II.1.3. Biomateriales poliméricos	7
II.2. Bionanomateriales	8
II.2.1. Basados en carbono	9
II.2.2. Basados en metales.....	9
II.2.3. Dendrímeros	9
II.2.4. Compuestos	9
II.3. Biopolímero.....	9
II.4. Carragenina	10
II.4.1. Funciones de las carrageninas	11
II.4.2. Propiedades de las carrageninas	11

II.5. Surfactante	12
II.6. Cloruro de Dodeciltrimetilamonio (DTAC).....	15
II.7. Nanoemulsión (NE).....	15
II.8. Vesículas	16
II.9. Nanocápsulas (NCs).....	17
II.10. Liofilización	18
II.11. Crioprotector	18
II.11.1. Crioprotectores permeables	19
II.11.2. Crioprotectores no permeables	19
II.12. Sucrosa.....	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
III.1. Materiales	22
III.2. Metodología	22
III.2.1. Síntesis de nanoemulsión.	22
III.2.2. Preparación de NE	23
III.2.3. Preparación de solución 5mL de κ -carragenina al 0.05%	26
III.2.4. Recubrimiento de nanoemulsión con κ -carragenina	26
III.2.5. Adición de Sucrosa	28
III.3. Métodos de caracterización	29
III.3.1. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)	29
III.3.2. Potencial Zeta (ξ)	30
III.3.3. Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
IV.1. Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y Potencial Z (ξ).....	34
IV.2. Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	42

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
V.1. Conclusiones.....	47
V.II. Recomendaciones.....	47
VI. BIBLIOGRAFÍA	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de las carrageninas.	11
Figura 2. Surfactante aniónico.....	13
Figura 3. Surfactante no iónico.....	14
Figura 4. Surfactante catiónico.....	14
Figura 5. Surfactante Anfótero.	15
Figura 6. Estructura molecular del DTAC.....	15
Figura 7. Formación de una Emulsión.....	16
Figura 8. Estructura de una vesícula.....	17
Figura 9. Estructura de una nanocápsula con núcleo oleoso.	17
Figura 10. Diagrama de Fase del Agua.....	18
Figura 11. Molécula de Sucrosa.....	20
Figura 12. Métodos para la preparación de NE.....	23
Figura 13. Diagrama de flujo para la elaboración de una NE.....	25
Figura 14. Diagrama de flujo para la elaboración de NCs.....	27
Figura 15. Efecto tamaño en recubrimiento de NE.....	34
Figura 16. Efecto carga en NE.	35
Figura 17. Efecto sucrosa en tamaño de NCs.....	36
Figura 18. Efecto sucrosa en carga de NCs.....	37
Figura 19. Efecto tamaño en NE y NCs rehidratadas.....	38
Figura 20. Efecto carga en NE y NCs rehidratadas.....	39
Figura 21. Efecto sucrosa en tamaño de NCs rehidratadas.....	40
Figura 22. Efecto sucrosa en carga de NCs rehidratadas.....	41
Figura 23. Espectro FTIR de los componentes de la NCs.	42

Figura 24. Espectro FTIR de NCs con sucrosa..... 44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidades utilizadas en las diferentes fases para preparar una NE.	23
Tabla 2. Cantidades para recubrimiento de NE.....	27
Tabla 3. Cantidades por añadir de sucrosa a cada muestra.	28
Tabla 4. Condiciones para liofilizar.....	28

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis y liofilización de nanocápsulas (NCs) a partir de nanoemulsiones compuestas de una fase orgánica y una acuosa, estabilizadas con un surfactante DTAC (Cloruro de dodeciltrimetilamonio) contando con un núcleo oleoso de aceite de oliva, las cuales se recubrieron con un biopolímero a base de κ -carragenina.

Las muestras obtenidas fueron caracterizadas mediante las técnicas de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) en la cual se obtuvo un tamaño de nanocápsula de 270 nm, evidenciando de esta manera, con la técnica de Potencial Zeta (ξ), la función del biopolímero al otorgar estabilidad coloidal al sistema y la carga negativa que la κ -carragenina presenta. Dichas muestras se liofilizaron y se observó que los tamaños de las NCs se vieron alterados, rebasando los 1400 nm. Por lo tanto, se procedió a añadirle sucrosa, como medio de crioprotección a las NCs, lo cual fue de gran utilidad ya que las muestras presentaron un tamaño más cercano al original, sin embargo, las cargas de las NCs se vieron afectadas por la sucrosa, ya que dicha sustancia tiene una carga negativa al igual que el biopolímero utilizado.

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

I.1. Justificación

Los sistemas nanoencapsulados han atraído un gran interés en los últimos años, debido a la facilidad en su síntesis y las cualidades intrínsecas como medio para atrapar y liberar agentes a través de su membrana [1]. Además, contribuyen a la estabilidad y absorción mejoradas del fármaco en el interior, proporcionando una liberación sostenida gracias a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. En este contexto las nanocápsulas representan una alternativa válida para la vehiculización de fármacos [2], [3]. La encapsulación de dichos fármacos en el núcleo oleoso del nano sistema, ofrece una mayor solubilización y protección frente a la degradación en los fluidos biológicos de agentes hidrofóbicos [4].

Para este tipo de aplicaciones, la estabilidad del sistema fármaco-aceite, debe considerarse ya que dicho sistema se encuentra disperso en un medio acuoso lo que hace que no sea química ni físicamente estable. Por lo tanto, se han ido desarrollando técnicas que logran la estabilidad del sistema e inclusive logran prolongar su tiempo de vida de anaquel; una de ellas es la liofilización, un proceso de conservación que consiste en deshidratar una muestra sometiéndola a una rápida congelación, posteriormente se elimina el hielo mediante un ligero calentamiento al vacío que lo transforma en vapor, obteniéndose finalmente un sólido. Pero, desafortunadamente, las nanocápsulas no sobreviven a este proceso, ya que se ocasiona su deformación o ruptura. Sin embargo, se ha descubierto que, con la adición suficiente de algún azúcar a este tipo de sistemas, la integridad estructural de las nanocápsulas puede conservarse durante el proceso de liofilización ya que ésta mantiene las propiedades de la nanocápsula, actuando

como una barrera protectora, además de no interactuar químicamente con ella. Se ha concluido que los azúcares presentan propiedades de estabilización y protección. [5]

I.2. Objetivo general

Diseñar un sistema nanoencapsulado con potencial de liberar el fármaco intercelularmente. Sintetizando nanocápsulas de núcleo oleoso compuestas de aceite de oliva y surfactante DTAC, recubriéndolas con κ -carragenina. Probando el efecto de la sucrosa en la criopreservación de las NCs antes y después del proceso de liofilización.

I.3. Objetivos Particulares

Para lograr tal objetivo se plantean los siguientes objetivos particulares:

- Sintetizar nanoemulsión a base de aceite de oliva y DTAC por el método de nanoprecipitación.
- Recubrir la nanoemulsión con solución de κ -carragenina.
- Evaluar el efecto de la sucrosa en el proceso de liofilización de las NCs.
- Caracterizar físicamente el sistema por medio de DLS y Potencial Zeta.
- Caracterizar químicamente el sistema por medio de FTIR.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. Biomateriales

Los biomateriales constituyen uno de los avances más importantes en la medicina actual: mejoran la calidad de vida de los pacientes y reducen el tiempo de curación y convalecencia de enfermedades y traumatismos.

Estos pueden ser de tipo metálico, cerámico o polimérico. La única condición que debe cumplir es que sea biocompatible, esto es, que no produzca rechazo por parte del sistema inmunitario humano. Por otra parte, sus propiedades mecánicas deben ser compatibles con el órgano al que se incorporan. A todo esto, hay que añadir que sea fácil de esterilizar, manipular y colocar. [6]

II.1.1. Biomateriales metálicos

Los metales y aleaciones se emplean básicamente como componentes estructurales, a fin de reemplazar determinadas partes del cuerpo humano. De forma más precisa, puede afirmarse que los materiales metálicos son imprescindibles, hoy por hoy, para aquellas aplicaciones clínicas que requieran soportar carga y eso es debido a dos razones básicas: sus propiedades mecánicas y su resistencia a la corrosión en el organismo humano. Además, pueden ser conformados, o sea, darle diversas formas, por medio de una gran variedad de técnicas. Todo esto explica su frecuente empleo como biomateriales. En efecto, los metales y las aleaciones encuentran múltiples aplicaciones en ortopedia, especialmente como materiales estructurales en dispositivos para la fijación de fracturas y en sustitución total o parcial de articulaciones; pero también para la fabricación de instrumental. También suelen emplearse en cirugía para prótesis vasculares y en válvulas cardíacas e injertos vasculares, y en algunos casos como hilo de suturas en cirugía.

Los materiales metálicos más utilizados en la actualidad para la fabricación de implantes son los aceros inoxidable, las aleaciones cobalto-cromo y el titanio puro o aleado con otros metales. Como puede observarse, si bien las aplicaciones de los biomateriales metálicos son múltiples, el número aleaciones metálicas que pueden soportar ese medio tan agresivo que es el organismo humano es muy reducido. Pero, además los implantes realizados con estos materiales tampoco son

enteramente satisfactorios, ya que en muchos casos se producen alteraciones tras su aplicación tales como desgaste, corrosión, liberación de especies químicas al organismo, pérdida de la unión con los tejidos óseos y de la transmisión de esfuerzos a los tejidos circundantes. Dentro de las técnicas que tienden a mejorar su comportamiento en ese sentido, existen algunas expectativas interesantes por la vía de los tratamientos superficiales, e incluso se dispone de tecnologías que hacen que la superficie del sustrato metálico sea bioactiva, lo que posibilita su unión con los tejidos circundantes. [7]

II.1.2. Biomateriales cerámicos

Las cerámicas son materiales compuestos por elementos metálicos y no metálicos que se mantienen unidos por enlaces iónicos y/o covalentes. Al igual que en los metales, los enlaces interatómicos en las cerámicas producen un arreglo tridimensional con estructuras cristalinas definidas. En contraste con los enlaces metálicos, los electrones en los enlaces iónicos y covalentes están localizados entre los iones/átomos que los constituyen, y por ese motivo las cerámicas son malos conductores de la electricidad y del calor. La fuerza de los enlaces iónicos y covalentes hacen de las cerámicas unos materiales duros y frágiles, y que se rompen con muy baja deformación plástica (eventualmente ninguna), y son sensibles a la presencia de defectos o fisuras en ellas. La naturaleza iónica y/o covalente de las cerámicas determina su comportamiento químico.

Aunque las cerámicas y los vidrios no sufren corrosión, presentan alguna forma de degradación cuando son expuestas al medio biológico, siendo el mecanismo de la degradación dependiente del tipo particular de material considerado. Aun las cerámicas consideradas inertes químicamente (alúmina, por ejemplo) experimentan una degradación de sus propiedades mecánicas como consecuencia del contacto con la solución salina del medio biológico. La mayor desventaja de las cerámicas y los vidrios es su fragilidad y pobres propiedades mecánicas: aunque pueden soportar grandes cargas en compresión, fallan cuando son cargadas en tracción o en flexión; pero son empleados donde la resistencia al desgaste es de vital importancia y se utilizan, generalmente, para reparar o reemplazar tejido conectivo

duro del esqueleto. Sin embargo, hay que destacar que el éxito de la aplicación depende de lograr una unión estable entre estos biomateriales y el tejido conectivo.

Las cerámicas inertes más frecuentemente empleadas son la alúmina (Al_2O_3), la zirconia (ZrO_2) y nitruro de silicio (Si_3N_4). Estos tres materiales tienen la característica de que presentan una alta resistencia a la compresión, una excelente resistencia al desgaste y una inercia química casi total. [7]

II.1.3. Biomateriales poliméricos

A diferencia de los metales y las cerámicas, los polímeros sintéticos hicieron su aparición mucho más recientemente. Los polímeros sintéticos son materiales orgánicos que se obtienen a partir del petróleo y se caracterizan por su poca resistencia a la temperatura. Cuando se someten a altas temperaturas los termoplásticos se derriten mientras que los plásticos termorresistentes solo se chamuscan o se queman.

Los polímeros son mucho más blandos que los metales. En cuanto a su conductividad térmica, son mejores aislantes que las cerámicas. Tanto sus propiedades de aislamiento eléctrico como de aislamiento térmico están limitadas por su poca resistencia a la temperatura. A bajas temperaturas el mejor aislante será un polímero, pero a altas temperaturas, las cerámicas siempre serán la mejor opción. En todos aquellos casos en que no es necesaria resistencia a altas temperaturas los polímeros han logrado introducirse en todos los ámbitos, desplazando muchas veces a otros materiales más consolidados.

Los biomateriales poliméricos, ampliamente utilizados en clínica, deben su éxito a las enormes posibilidades que presentan, tanto en variedad de compuestos como en la posibilidad de fabricarlos de muy distintas formas con características bien determinadas y con facilidad de conformarlos en fibras, tejidos, películas o bloques. Pueden ser tanto naturales como sintéticos y, en cualquier caso, se pueden encontrar formulaciones bioestables (con carácter permanente y particularmente útiles para sustituir de forma parcial o total tejidos u órganos lesionados o destruidos), biodegradables (con carácter temporal, con una funcionalidad

adecuada durante un tiempo limitado, el necesario mientras el problema subsista). Existen aplicaciones de polímeros tanto en implantes quirúrgicos como en membranas protectoras o en sistemas de dosificación de fármacos y tienen, particular importancia, los cementos óseos acrílicos que han encontrado importantes campos de aplicación, en particular, en odontología y traumatología dadas las ventajas que presentan frente a otros cementos, como son su fácil aplicación y su rápida polimerización. Sin embargo, por desgracia presentan desventajas, tales como el calor que se desprende durante la polimerización que conduce en muchos casos a problemas de toxicidad y a la contracción que sufre una vez endurecido lo que origina movilidad de la prótesis fijada. Sin embargo, pese a estos problemas, su utilización hoy por hoy es, prácticamente, insustituible. [7]

II.2. Bionanomateriales

Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas más pequeñas que un micrómetro en al menos una dimensión. A pesar del hecho de que no hay consenso sobre el tamaño mínimo o máximo de un nanomaterial, algunos autores restringen su tamaño de 1 a 100 nm; una definición lógica situaría la nanoescala entre la microescala (1 micrómetro) y la escala atómica/molecular (alrededor de 0.2 nanómetros).

La idea es sencilla, muchas de las propiedades de los materiales dependen de cómo se comporten los electrones que se mueven en su seno o de cómo estén ordenados los átomos en la materia. En un material nanométrico, el movimiento de los electrones está muy limitado por las dimensiones del propio material. Además, la proporción de átomos en la superficie con respecto al interior es mucho más alta que en materiales de tamaño más elevado. Por consiguiente, si se reducen las dimensiones de un material, se modifican sus propiedades y en consecuencia se pueden diseñar materiales con propiedades a la carta.

La Agencia del Medio Ambiente (EPA) de EUA ha clasificado los nanomateriales actuales en cuatro tipos [8]:

II.2.1. Basados en carbono

Estos nanomateriales están compuestos mayoritariamente por carbono y suelen adoptar formas como esferas huecas, elipsoides o tubos. Los nanomateriales de carbono con forma elipsoidal o esférica se conocen como fullerenos, mientras que los cilíndricos reciben el nombre de nanotubos. Estas partículas tienen muchas aplicaciones posibles, incluido el desarrollo de recubrimientos y películas mejoradas, materiales más ligeros y resistentes, y diversas aplicaciones en el campo de la electrónica. [8]

II.2.2. Basados en metales

Estos nanomateriales incluyen puntos cuánticos, nanopartículas (NPs) de oro, plata y óxidos metálicos como el dióxido de titanio. [8]

II.2.3. Dendrímeros

Estos nanomateriales son polímeros de tamaño nanométrico contruidos a partir de unidades ramificadas. La superficie de un dendrímero tiene numerosos extremos de cadena, que se pueden adaptar para desempeñar funciones químicas específicas. Esta propiedad se podría utilizar también para la catálisis. Además, debido a que los dendrímeros tridimensionales contienen cavidades interiores en las que se pueden introducir otras moléculas, pueden ser útiles para la administración de fármacos. [8]

II.2.4. Compuestos

Los compuestos combinan las NPs con otras NPs o con materiales de mayor tamaño. Las nanopartículas, como arcilla a nanoescala, ya se están añadiendo a numerosos productos, desde piezas de automóviles a materiales de empaquetado, para mejorar sus propiedades mecánicas, térmicas, protectoras, etc. [8]

II.3. Biopolímero

Los biopolímeros tienen propiedades fisicoquímicas y termoplásticas iguales a las de los polímeros fabricados a partir de petróleo, con la diferencia que una vez desechados, se biodegradan. De aquí se derivan las grandes ventajas de sustituir el uso de petróleo y de reemplazar los polímeros actuales por polímeros

biodegradables, lo que disminuiría notablemente la contaminación del medio ambiente. Los biopolímeros naturales provienen de cuatro fuentes: origen animal (colágeno/gelatina), origen marino (quitina/quitosana), origen agrícola (lípidos y grasas e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico (PLA) y polihidroxialcanoatos (PHA)). Por sus altas tasas de biodegradabilidad y sus excelentes propiedades físico-mecánicas los PHA y los PLA han resultado ser los de más amplia aplicación en la actualidad.

Los biopolímeros se generan por sistemas biológicos, o pueden ser sintetizados químicamente a partir de materiales de origen renovable; por lo que una característica fundamental de los biopolímeros es que su degradación se presenta en lapsos de tiempo cortos, desde semanas a pocos meses. [9]

II.4. Carragenina

La carragenina está ubicada en la pared de las células y en la matriz intercelular del tejido de las algas. Es un polisacárido de alto peso molecular con contenido de éster sulfato de 15% a 40%, formado por unidades alternadas de D-galactosa y 3,6-anhidro-galactosa (3,6-AG) unidas por enlaces glucosídicos α -1,3 y β -1,4.

La posición y el número de grupos de éster sulfato, así como el contenido de 3,6-AG determinan las diferencias primarias entre los tipos de carragenina kappa, iota y lambda:

- La carragenina tipo kappa contiene de 25% a 30% de éster sulfato y de 28% a 35% de 3,6-AG.
- La carragenina tipo iota contiene de 28% a 35% de éster sulfato y de 25% a 30% de 3,6-AG.
- La carragenina tipo lambda contiene de 32% a 39% de éster sulfato y no contiene 3,6-AG.

Los mayores niveles de éster sulfato implican en una menor fuerza de gelificación y baja temperatura de solubilización. [10]

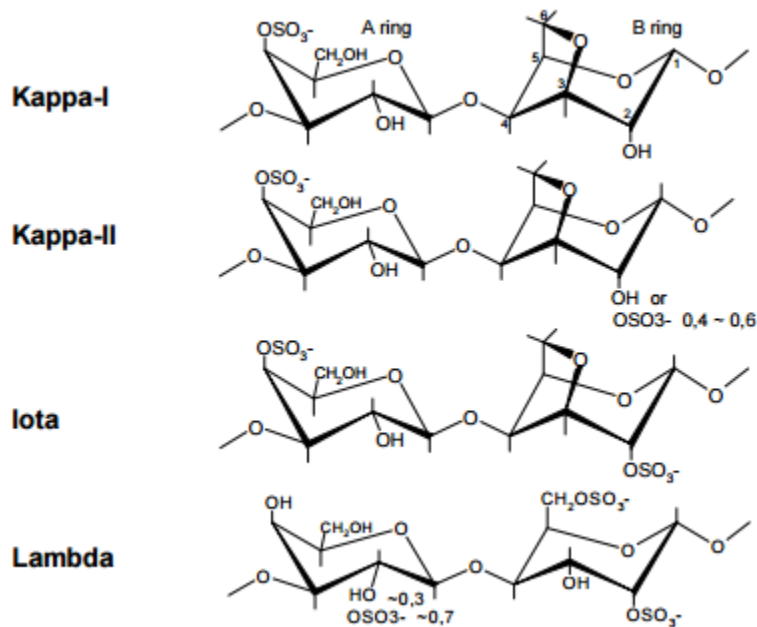


Figura 1. Estructura química de las carrageninas.

II.4.1. Funciones de las carrageninas

- Poseen la capacidad para formar complejos con las proteínas para obtener geles, suspensión, floculación, estabilización y precipitación de partículas.
- Capacidad para formar geles termorreversibles a temperatura ambiente, transparentes, de texturas rígidas a elásticas, con distintos grados de retención de agua.
- Capacidad de determinar diferentes propiedades reológicas con el fin de espesar, suspender partículas insolubles y/o de gran tamaño. [10]

II.4.2. Propiedades de las carrageninas

Dentro de las propiedades más relevantes de las carrageninas se puede mencionar:

Viscosidad. Las carrageninas, cuando están sometidas a altas temperaturas, dan soluciones con bajas viscosidades y a medida que la temperatura del sistema disminuye la viscosidad aumenta, pudiendo pasar posteriormente a un estado de gel según el tipo de carragenina.

La viscosidad está dada, principalmente, por la estructura macromolecular lineal altamente ramificada y por la naturaleza polielectrolítica de las carrageninas. Debido

a su estructura y a su carácter hidrofílico, la carragenina se mantiene rodeada de moléculas de agua lo que opone una resistencia al flujo modificando las propiedades reológicas y determinando varios grados de viscosidad. [11]

Gelificación. Las soluciones calientes de carragenina kappa e iota poseen la habilidad de formar geles termorreversibles a través de su enfriamiento. Este fenómeno ocurre debido a la formación de una estructura de doble hélice por los polímeros de la carragenina. A temperaturas superiores a la temperatura de fusión del gel, los polímeros de la carragenina existen en la solución como espirales aleatorias. Durante el enfriamiento de la solución, una red tridimensional de polímeros es formada, en la cual las hélices dobles constituyen los puntos de unión de las cadenas de polímero. El enfriamiento adicional causa la agregación de los puntos de unión para formar la estructura de gel tridimensional. La presencia de asas en la cadena, así como el número, tipo y posición de los grupos de éster sulfato tienen efectos importantes en las propiedades de gelificación. Ese mecanismo de gelificación es básico para las soluciones de carrageninas tipo kappa e iota. Las sales de potasio o calcio son necesarias para la obtención del gel en agua, pero no son necesarias en leche. [10]

Solubilidad. *Agua Caliente:* Todos los tipos de carragenina son solubles en agua caliente a temperaturas superiores a la temperatura de fusión del gel. El intervalo normal de temperaturas es de 40° a 70°C, dependiendo de la concentración y de la presencia de cationes.

Agua Fría: En agua fría, solamente son solubles la carragenina tipo lambda y las sales de sodio de los tipos kappa e iota. Las sales de potasio y calcio de las carrageninas kappa e iota no son solubles en agua fría, pero exhiben expansión por hidratación considerable en función de la concentración, tipos de cationes presentes, temperatura del agua y condiciones de dispersión. [1]

II.5. Surfactante

Un surfactante es una sustancia química que, posee una estructura molecular constituida por una parte hidrofílica (polar) y una lipofílica (apolar), lo que le confiere

doble afinidad. Tiene actividad interfacial y se adsorbe a la interfase agua/aceite en forma orientada, disminuyendo la tensión interfacial entre estos dos líquidos. La parte apolar de los surfactantes está constituida, generalmente, por cadenas carbonadas lineales (usualmente en el rango C_8-C_{18}), en ocasiones asociados a anillos aromáticos. La parte polar en la estructura de estos compuestos la conforman grupos con carga eléctrica neta, tales como los radicales carboxilato ($-COO^-$) y amonio primario ($-NH_3^+$) o cadenas de condensación de polióxido de etileno [$-O-(CH_2CH_2CH_2O)_n-H$] entre otros. [12]

De acuerdo a la forma de disociación en el agua los surfactantes se clasifican en:

Surfactantes aniónicos: se disocian en un anión anfífilo y un catión, el cual es en general un metal alcalino o un amonio cuaternario. A este grupo pertenecen los detergentes sintéticos como los alquil benceno sulfonatos, los jabones (sales de ácidos grasos), los agentes espumantes como el lauril sulfato, los humectantes del tipo sulfosuccinato y los dispersantes del tipo lignosulfonatos, entre otros. [12]

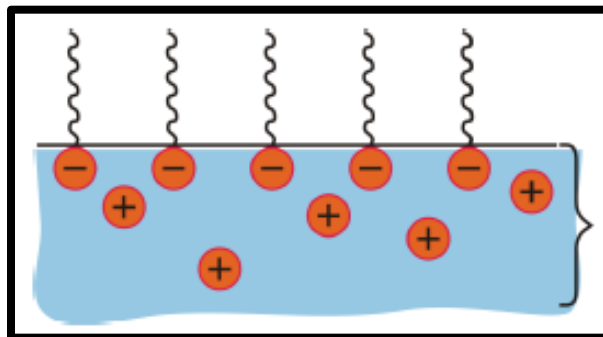


Figura 2. Surfactante aniónico.

Surfactantes no iónicos: no se ionizan en solución acuosa, debido a que poseen grupos hidrófilos del tipo alcohol, fenol, éter o amida. El grupo hidrófobo es generalmente un radical alquilo o alquil benceno y a veces una estructura natural como un ácido graso. [12]

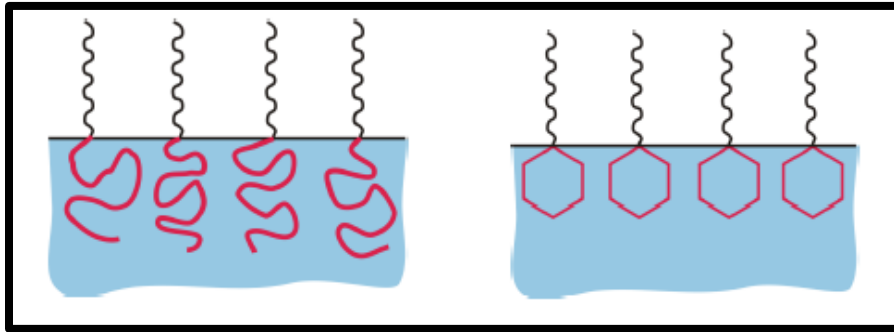


Figura 3. Surfactante no iónico.

Surfactantes catiónicos: se disocian en solución acuosa en un catión orgánico anfífilo y un anión generalmente del tipo halogenuro. La gran mayoría de estos surfactantes son compuestos nitrogenados, del tipo sal de amina grasa o amonio cuaternario. [12]

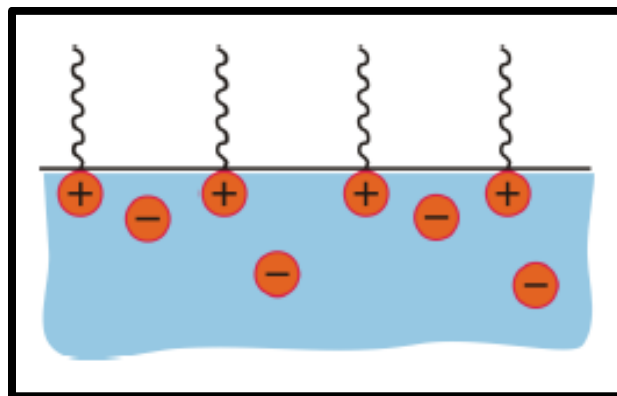


Figura 4. Surfactante catiónico.

Otros surfactantes: existe gran variedad de surfactantes adicionales a los ya mencionados, como los anfóteros, poliméricos, siliconados y fluorados, entre otros. [12]

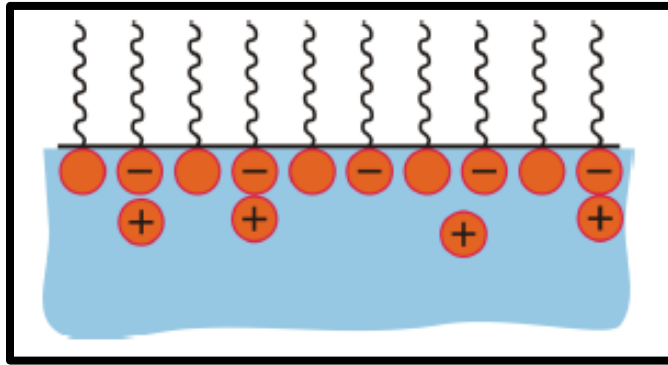


Figura 5. Surfactante Anfótero.

II.6. Cloruro de Dodeciltrimetilamonio (DTAC)

El DTAC es un surfactante catiónico, el cual posee dos propiedades importantes: Se absorben sobre una superficie cargada negativamente y muchos de ellos tienen propiedades bactericidas. En su carácter catiónico, tiene la característica de disminuir la tensión superficial y además tiene la capacidad de formar micelas en medios acuosos y no acuosos. En la siguiente figura se muestra la estructura molecular del DTAC. [13]

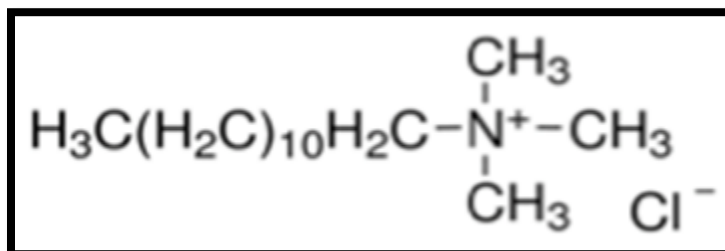


Figura 6. Estructura molecular del DTAC.

II.7. Nanoemulsión (NE)

Una emulsión es un sistema que contiene dos fases líquidas inmiscibles, una de las cuales está dispersa en la otra, y cuya estructura es estabilizada por un agente surfactante llamado emulsionante. En la mayoría de los casos en los cuales se hace una emulsión con dos líquidos inmiscibles, uno de los líquidos es una fase acuosa y el otro una fase aceite. Si la emulsión contiene gotas de aceite (O) dispersadas en

agua (W), se llama emulsión O/W; si es el caso contrario, gotas de agua dispersadas en aceite, se llama W/O. En la Figura 7 podemos observar el proceso de formación de una nanoemulsión, donde se muestran en el inciso a) dos líquidos inmiscibles formando una separación de fases, b) la agregación de un surfactante que rompe la tensión superficial, c) la formación de gotas a escala nanométrica cubiertas de surfactante y d) la obtención final de una sola fase dispersa.

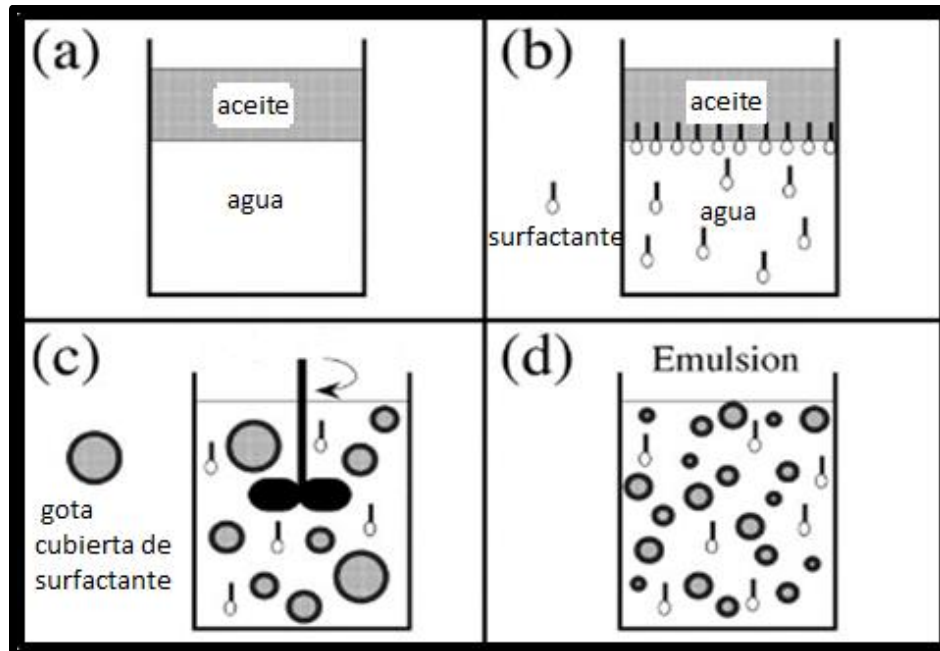


Figura 7. Formación de una Emulsión.

La obtención de emulsiones finas y estables es, entre otros, uno de los objetivos de la formulación de sistemas surfactante-aceite-agua. Estas emulsiones llamadas miniemulsiones o nanoemulsiones se caracterizan por tener un tamaño de gota entre 50 y 500nm, apariencia translúcida y alta estabilidad cinética; debido a esto, son sistemas que tienen una diversidad de aplicaciones en la industria química, farmacéutica, alimenticia y cosmética. [12]

II.8. Vesículas

Son estructuras altamente organizadas constituidas por bicapas concéntricas que encierran un interior acuoso. La ampliación de sus aplicaciones es debido a que son

capaces de incorporar a su estructura moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas y también las de carácter anfifílico. [14]

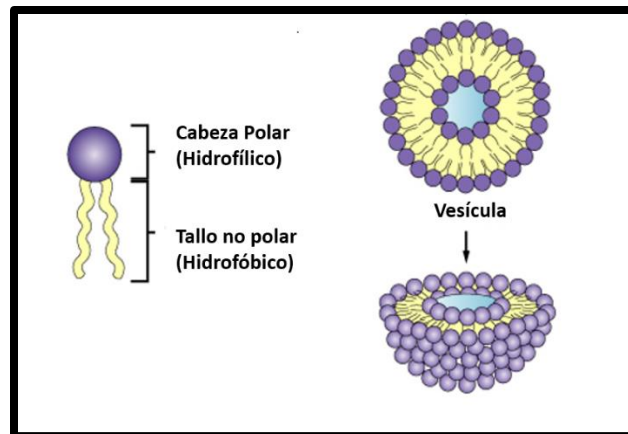


Figura 8. Estructura de una vesícula

II.9. Nanocápsulas (NCs)

Son sistemas nano métricos vesiculares formados por un reservorio interno, que puede estar constituido por agua o aceite, rodeado de una cubierta polimérica. El núcleo tiene la función de favorecer la encapsulación del fármaco y protegerlo del entorno fisiológico. La cubierta polimérica, además de aportar estabilidad al sistema dentro y fuera del organismo, puede tener distintas funciones: interactuar con membranas celulares y favorecer el transporte del fármaco y/o controlar su liberación (del fármaco). [15], [16]

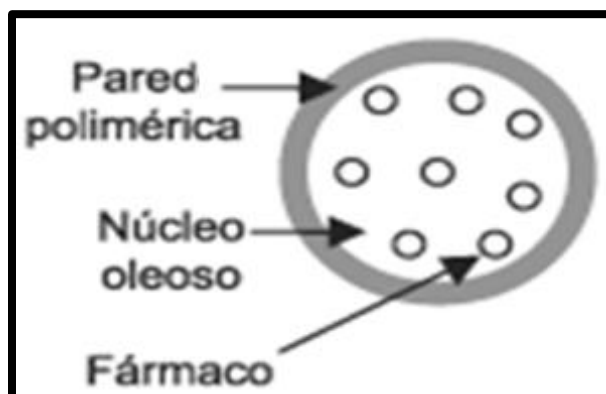


Figura 9. Estructura de una nanocápsula con núcleo oleoso.

II.10. Liofilización

La liofilización es un proceso de conservación mediante sublimación utilizado con el fin de reducir las pérdidas de los componentes volátiles o termo-sensibles. Es el más noble proceso de conservación de productos biológico conocido, ya que combina los dos métodos más fiables de conservación: la congelación y la deshidratación. Sin conservantes o productos químicos, es el proceso más adecuado para preservar células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, derivados sanguíneos y alimentos en general. En este proceso de secado los productos obtenidos no se ven alterados en sus propiedades y se rehidratan fácilmente. [17] En la siguiente figura podemos observar el diagrama de fase del agua.

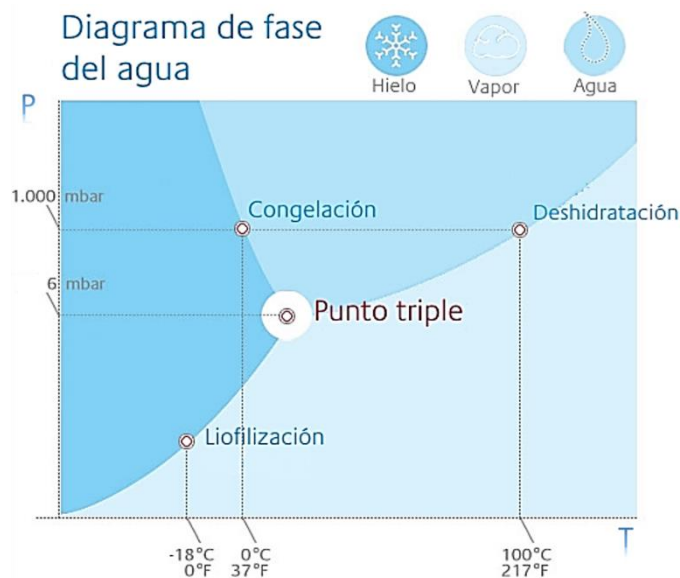


Figura 10. Diagrama de Fase del Agua.

II.11. Crioprotector

Los crioprotectores (CP) son sustancias utilizadas para la protección de células o tejidos del daño que se produce durante el proceso de congelación y descongelación debido principalmente a la formación de hielo. Los CP alteran las propiedades físico-químicas de las soluciones. Son moléculas hidrosolubles y de baja toxicidad que actúan disminuyendo el punto eutéctico de las soluciones (disminuyen la temperatura a la que se produce la transición del agua de estado

líquido a sólido), interactuando con las moléculas de agua al reducir su capacidad de formar enlaces entre ellas. También actúan estableciendo puentes de hidrógeno con otras moléculas biológicas evitando que pierdan su estructura fisiológica original y por lo tanto su viabilidad.

Existen dos tipos de CP: permeables o no permeables, según tengan o no capacidad para atravesar la membrana celular. [18]

II.11.1. Crioprotectores permeables

Los CP permeables, debido a que tienen un bajo peso molecular, son capaces de atravesar la membrana plasmática de forma activa o pasiva. Entre estos se encuentra el glicerol, el dimetilsulfóxido (DMSO), el 1-2 propanodiol, etilenglicol (EG), el propilenglicol, el polietilenglicol, el etanol y otros alcoholes; todos estos compuestos deshidratan la célula penetrando a ésta para ayudar a proteger el citoplasma. [18]

II.11.2. Crioprotectores no permeables

Los CP no permeables o extracelulares, son compuestos de alto peso molecular que normalmente se utilizan asociados a agentes CP permeables. Estos ejercen su efecto crioprotector promoviendo una rápida deshidratación celular aumentando el gradiente osmótico y ayudando indirectamente a la incorporación por parte de las células del CP permeable. Los más comúnmente utilizados son los azúcares como la sacarosa, aunque también se emplean macromoléculas como al polivinilpirrolidona (PVP), ficol, dextrano sorbitol, sucrosa, lactosa, trealosa, rafinosa y proteínas de alto peso molecular. [18]

II.12. Sucrosa

La sucrosa o sacarosa es un disacárido de 12 carbonos compuesto de unidades simples de glucosa y fructosa (monosacáridos), que están unidos entre sí por un enlace glucosídico (Figura 11, molécula de Sucrosa compuesta por una molécula de glucosa unida a una molécula de fructuosa por un enlace glucosídico). La sucrosa, glucosa y fructosa se distribuyen ampliamente en frutas y algunos vegetales, savia, miel y melaza, individualmente o unidos entre sí. La mayor

concentración de sacarosa pura se encuentra en la caña de azúcar o remolacha azucarera. Este tipo de azúcares tienen propiedades protectoras y estabilizantes en diferentes sistemas. [19]

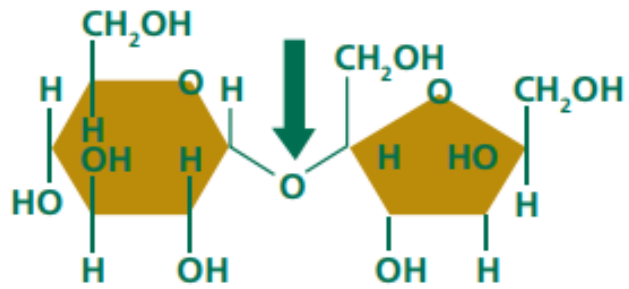


Figura 11. Molécula de Sucrosa.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Materiales

Para la síntesis de nanocápsulas se utilizaron los siguientes reactivos.

- a) Aceite de oliva purificado Sigma-Aldrich, EUA.
- b) Cloruro de dodeciltrimetilamonio (DTAC) Sigma-Aldrich, Japon.
- c) Alcohol etílico absoluto (C₂H₆O) Faga Lab.
- d) Acetona (CH₃(CO)CH₃) Faga Lab.
- e) Agua desionizada
- f) κ-carragenina Sigma-Aldrich.
- g) Sucrosa Sigma-Aldrich.

III.2. Metodología

III.2.1. Síntesis de nanoemulsión.

Generalmente, existen diferentes métodos para la preparación de nanoemulsión, como lo son: nanoprecipitación, Emulsificación-Difusión, Emulsificación-Coacervación, Doble Emulsificación, Recubrimiento de Polímero y Capa por Capa [13], como se muestra en la Figura 12.

El método utilizado en este trabajo para sintetizar la NE fue el de nanoprecipitación.

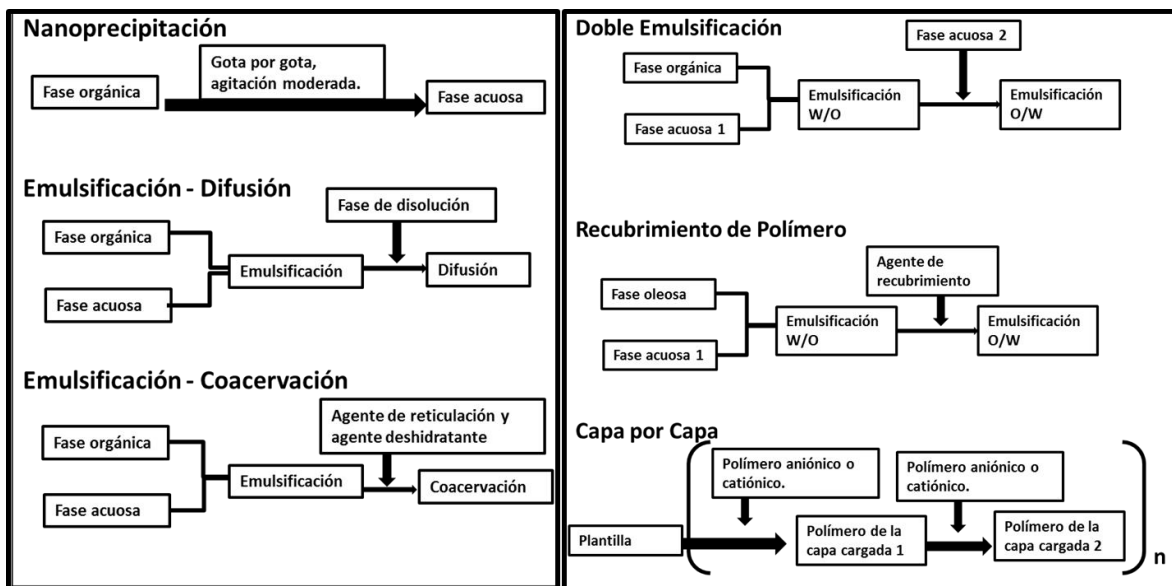


Figura 12. Métodos para la preparación de NE.

III.2.2. Preparación de NE

Se preparó una nanoemulsión, la cual consta de una fase orgánica y una fase acuosa. Las cantidades utilizadas para cada fase se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Cantidades utilizadas en las diferentes fases para preparar una NE.

Fase	Reactivo	Cantidad
Orgánica	DTAC	0.15834 g
	Etanol	500 µL
	Aceite de Oliva	125 µL
	Acetona	9.5 mL
Acuosa	Agua deionizada	20 mL

A continuación, se detallan los pasos para la obtención de NE

- Pesamos los gramos de DTAC en un Eppendorf y le agregamos los microlitros de etanol. Se agita para homogeneizar.
- Vertemos las cantidades de aceite y acetona en un tubo de 15 mL. Posteriormente, le agregamos la solución obtenida de DTAC con etanol. Se agita para homogeneizar.

- En un vaso de precipitado vertemos el agua desionizada y lo colocamos en una placa magnética, agitando lentamente sin calentar.
- Mientras se agita el agua, agregamos cuidadosamente la solución obtenida en el tubo de 15 mL. Observamos cómo se forma la NE de manera espontánea con la turbidez que la caracteriza, formándose nano gotas de aceite o nanopartículas.
- En un tubo de 50 mL, vertemos la mezcla obtenida (30 mL aproximadamente).
- Finalmente, eliminamos los volátiles y parte del agua por rotaevaporación a 80 RPM con una temperatura de 40°C, obteniéndose 10 mL de volumen final, observando el aspecto blanquecino característico de este sistema.

El diagrama de flujo para la elaboración de la NE se puede observar en la Figura 13.

Una vez preparada la NE, se deja reposar por un lapso de 24 horas para que la mezcla se estabilice. Pasado ese tiempo, se llevan a cabo mediciones de DLS y Potencial Z para determinar el tamaño y carga de las nanopartículas.

Después, se efectúa el proceso de recubrimiento de NE; para este caso se utilizó una solución al 0.05% de biopolímero κ -carragenina.

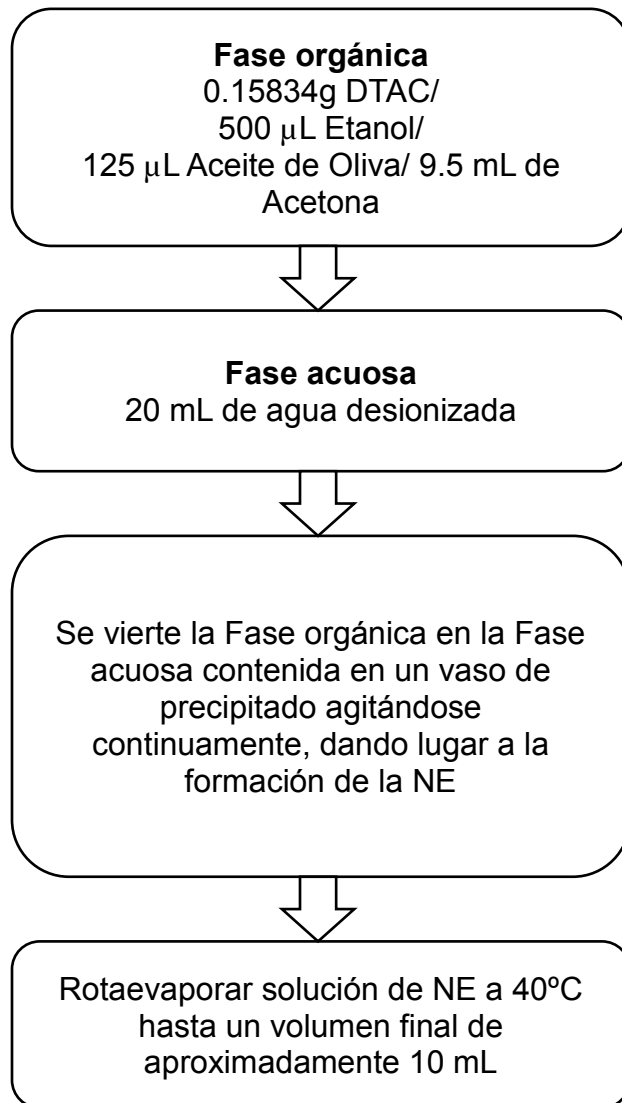


Figura 13. Diagrama de flujo para la elaboración de una NE

III.2.3. Preparación de solución 5mL de κ-carragenina al 0.05%

Para recubrir la NE con el biopolímero κ-carragenina se preparó una solución de 5 mL al 0.05%.

Para determinar los gramos del biopolímero a utilizar se llevó a cabo la siguiente ecuación:

$$(5) \left(\frac{0.05\%}{100\%} \right) = 0.0025g \text{ de } \kappa\text{-carragenina}$$

donde el número 5 nos indica los mililitros que se desean preparar de solución.

Añadimos los gramos de biopolímero en un vial tipo frasco y aforamos con agua desionizada hasta llegar a los 5mL, posteriormente, se agita la solución en una placa magnética a baño María a una temperatura de 60°C hasta homogeneizar. Posteriormente, dejamos enfriar.

III.2.4. Recubrimiento de nanoemulsión con κ-carragenina

Para recubrir la NE con el biopolímero llevamos a cabo:

- (1) Una dilución 1:100 de NE, 10 microlitros de NE en 990 microlitros de agua.
- (2) Después, en un tubo de 15mL vertemos 38.46 microlitros de la solución del biopolímero κ-carragenina para luego añadirle 961.53 microlitros de la NE previamente diluida.
- (3) Mezclamos, con la ayuda de una micropipeta, y sonicamos 5 minutos aproximadamente, dando lugar al recubrimiento, obteniéndose las NCs.

Tabla 2. Cantidades para recubrimiento de NE.

Recubrimiento de NE	
Reactivo	Cantidad (microlitros)
NE diluida	961.53
Biopolímero κ-carragenina	38.46

El diagrama de flujo para el recubrimiento de NE se muestra en la Figura 14. Finalmente, se hacen mediciones de tamaño de NCs (DLS) y carga (Potencial Z). La carga de las NCs debe resultar negativa puesto que ese es el valor que presenta la κ-carragenina y de esta manera se sabe que el recubrimiento fue un éxito.

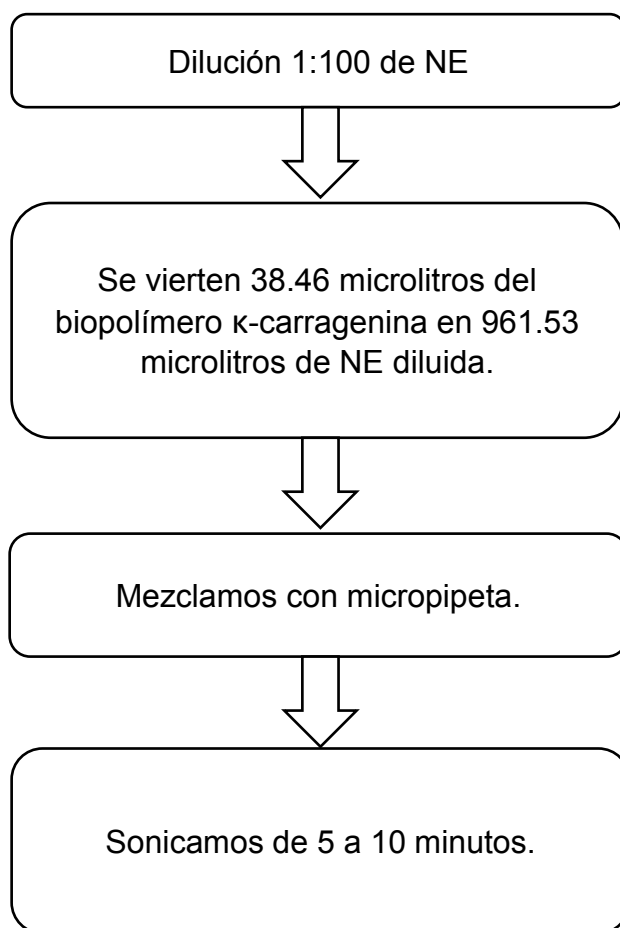


Figura 14. Diagrama de flujo para la elaboración de NCs.

III.2.5. Adición de Sucrosa

Preparamos 4 muestras de NCs a las cuales, posteriormente, agregamos una cantidad diferente de sucrosa (como se muestra en la Tabla 3), para estudiar el efecto de ésta en las NCs, ya que se ha encontrado que el mecanismo de crioprotección de la sucrosa sobre las nanocápsulas puede deberse a la habilidad que tiene este azúcar en reemplazar las moléculas de agua que rodean a la nanocápsula actuando como una barrera que evita que las NCs se destruyan durante el congelamiento en el método de liofilización. [5]

Tabla 3. Cantidades por añadir de sucrosa a cada muestra.

Muestras	Sucrosa (g)
Tubo 1	Sin sucrosa
Tubo 2	0.0016
Tubo 3	0.004
Tubo 4	0.016

Caracterizamos las muestras mediante DLS y Potencial Z. Observamos si los valores de tamaño y carga varían con respecto a los ya obtenidos de las NCs sin sucrosa para determinar su efecto sobre éstas. Posteriormente, se lleva a cabo el proceso de liofilización de las muestras a las condiciones que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4. Condiciones para liofilizar.

Condiciones para liofilizar	
Temperatura trampa fría (°C)	-55
Presión (Pa)	1 - 100

Caracterizamos las muestras por medio de FTIR para observar si hubo alguna alteración química en los componentes, finalmente, se rehidratan las NCs y, una vez más, las caracterizamos por medio de DLS y Potencial Z para ver si el tamaño y la carga no se vieron afectados por este proceso.

III.3. Métodos de caracterización

III.3.1. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

La técnica de Dispersión de Luz Dinámica, es también conocida como Espectroscopia de Fotocorrelación (PCS), la cual es de especial importancia para la caracterización de nanopartículas y macromoléculas en solución. La cual puede proveer información acerca del peso molecular, tamaño y polidispersidad de las partículas. Las partículas en suspensión se rigen bajo el movimiento Browniano. Esto debido a que su constante movimiento provoca que la luz dispersada en ellas se torne en fluctuaciones dependientes del tiempo. La intensidad de la luz dispersada es una función del tamaño de partícula y de su habilidad para dispersar la luz. El análisis de la intensidad de las fluctuaciones permite determinar el coeficiente de difusión, D , el cual es una propiedad del material que relaciona el flujo de la materia con el gradiente de concentración. Una vez establecido el D , el radio hidrodinámico (R_H) de las partículas se puede derivar mediante la ecuación Stokes-Einstein:

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi n_0 D}$$

Dónde: R_H es el radio hidrodinámico: es el radio de la esfera que se difunde a la misma velocidad que la partícula dada, k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta y n_0 es la viscosidad de la suspensión. [20]

La muestra de NE debe tener un aspecto turbio, no opaco o completamente claro. Sin embargo, las muestras de NCs presentan una apariencia clara debido a que se

encuentran en un medio muy diluido. Estas muestras, las de NE como las de NCs, deben estar a temperatura ambiente (25°C).

Se utilizó un kit de celdas y tapón de poliestireno con dimensiones 10x10x45 mm de la marca Malvern. Donde colocamos un mililitro de la muestra a caracterizar para después ser insertada en el equipo y proceder a su caracterización.

El equipo empleado fue un ZetaSizer Nano ZS marca Malvern con el cual se determinó el tamaño y la distribución de la NE y NCs.

III.3.2. Potencial Zeta (ξ)

El valor del Potencial Zeta de partículas puede ser determinado a partir de mediciones de movilidad electroforética. Cuando un campo eléctrico es aplicado a través de una celda de medición llena con un electrolito, las partículas cargadas suspendidas en el medio comienzan a moverse hacia el electrodo de la carga opuesta. La viscosidad del medio tiende a oponerse a este movimiento. Las partículas en un campo eléctrico se mueven a una velocidad constante cuando ocurre un equilibrio entre las fuerzas eléctrica y viscosa. La movilidad electroforética (velocidad por unidad de campo) de una partícula depende de su constante dieléctrica, viscosidad del medio y el potencial zeta, la cual está relacionada con la movilidad electroforética de las ecuaciones de Henry y Smoluchowski:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\xi f(ka)}{3\eta}$$

La ecuación Henry referente a la movilidad electroforética en donde: U_E es la movilidad electroforética, ξ es el potencial zeta, ε es la constante dialéctrica, η es la

viscosidad y $f(ka)$ es la función de Henry. La unidad de k , se refiere a la longitud de Debye, la cual es recíproca a la longitud k^{-1} la cual refleja el grosor de la doble capa eléctrica. $f(ka)$ se toma como un valor estándar de 1.5, el cual se refiere a una aproximación de Smoluchowski. Por lo tanto, el cálculo del potencial zeta a partir de la movilidad está ligado directamente al modelo Smoluchowski. [20]

Tanto las muestras de NE como las de NCs deben estar completamente claras. Se utilizaron celdas capilares desechables ZetaSizer Nano Series de la marca Malvern, donde se caracterizó un mililitro de cada muestra.

El equipo utilizado fue un ZetaSizer Nano ZS en donde la temperatura con la que se operó fue de 37°C.

III.3.3. Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica proporciona un espectro de reflexión de las bandas de los grupos funcionales de las sustancias inorgánicas y orgánicas, por lo cual es posible realizar una identificación de los materiales. El equipo dotado de una sonda con fibra óptica permite el análisis directo de la superficie del objeto de estudio. [21]

Existen modos vibracionales que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de Espectroscopia Infrarroja (IR). Esto produce un intercambio de energía entre el haz y las moléculas constituyentes. Existe un comportamiento característico para un enlace con un tipo atómico, un entorno químico y una concentración de enlaces determinadas. Se puede decir entonces, que en un espectro infrarrojo se pueden manifestar bandas asociadas a prácticamente todos los compuestos moleculares. Cada una de estas bandas

correspondería a un movimiento de vibración de uno de los enlaces dentro de la molécula. Se sostiene entonces que el conjunto constituye la huella dactilar del compuesto. Cada compuesto tendrá entonces un comportamiento particular frente a un haz de infrarrojos, en esto se basa la eficacia de la IR. [22]

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y Potencial Z (ξ)

En la Figura 15 se muestra el efecto en el tamaño del recubrimiento de NE, donde se puede observar que el tamaño disminuye al hacer el recubrimiento con el biopolímero, pasando de aproximadamente 405 nm a 265 nm, esto debido a que el biopolímero le da una mayor estabilidad a la NE y por lo tanto al llevarse a cabo la medición el radio hidrodinámico de ésta disminuye, lo cual no implica un reducimiento en el tamaño de las NCs.

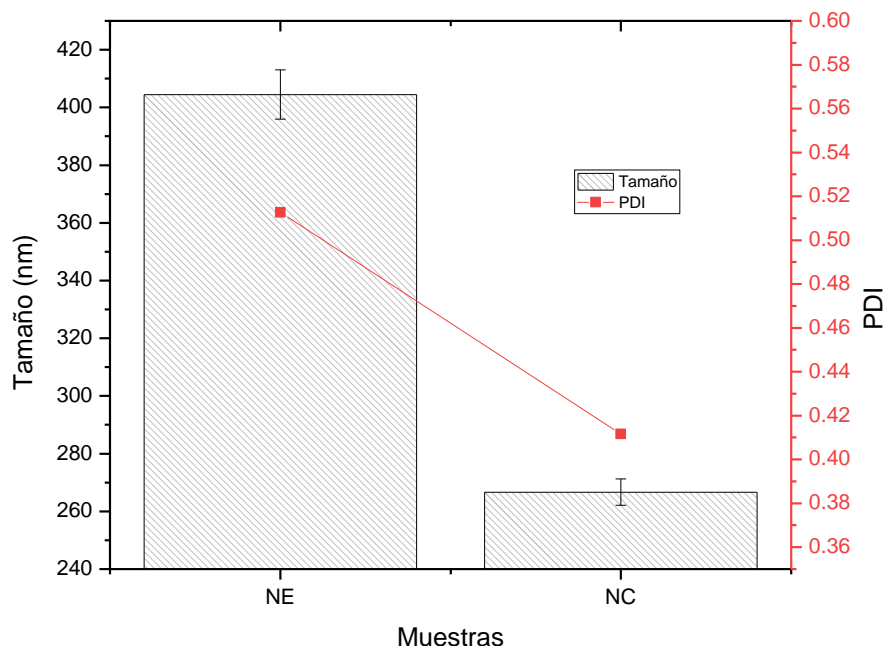


Figura 15. Efecto tamaño en recubrimiento de NE.

La Figura 16 muestra los resultados del Potencial Z de la NE y NCs, donde se evidencia el éxito del recubrimiento en la NE puesto que presenta la carga negativa característica del biopolímero. La NE sin recubrir tiene una carga positiva de alrededor de 35 mV y las NCs de -40 mV.

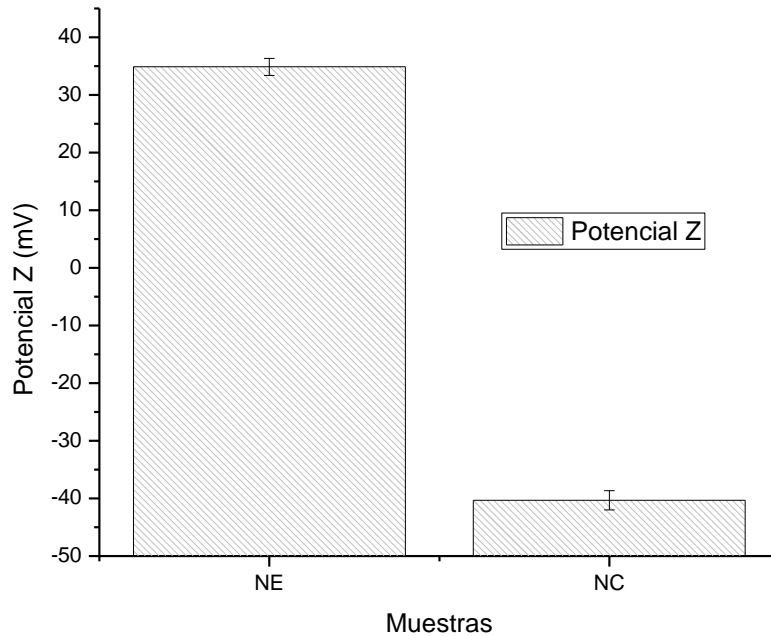


Figura 16. Efecto carga en NE.

Para determinar el efecto de la sucrosa sobre las NCs se procedió a caracterizar los tamaños y cargas de las muestras preparadas en el apartado **III.2.5**. En la siguiente figura se muestran los resultados de tamaño de las NCs donde podemos ver un incremento de éste en las muestras con sucrosa en comparación a la muestra a la que no se le adicionó el crioprotector, aumentando el tamaño de 265 nm en el caso de las NCs solas a 410 nm para la muestra con 1.64 mg de sucrosa. Las muestras con 4 y 16 mg de sucrosa presentaron un tamaño menor a la de 1.64 mg, de 360 nm y 370 nm, respetivamente.

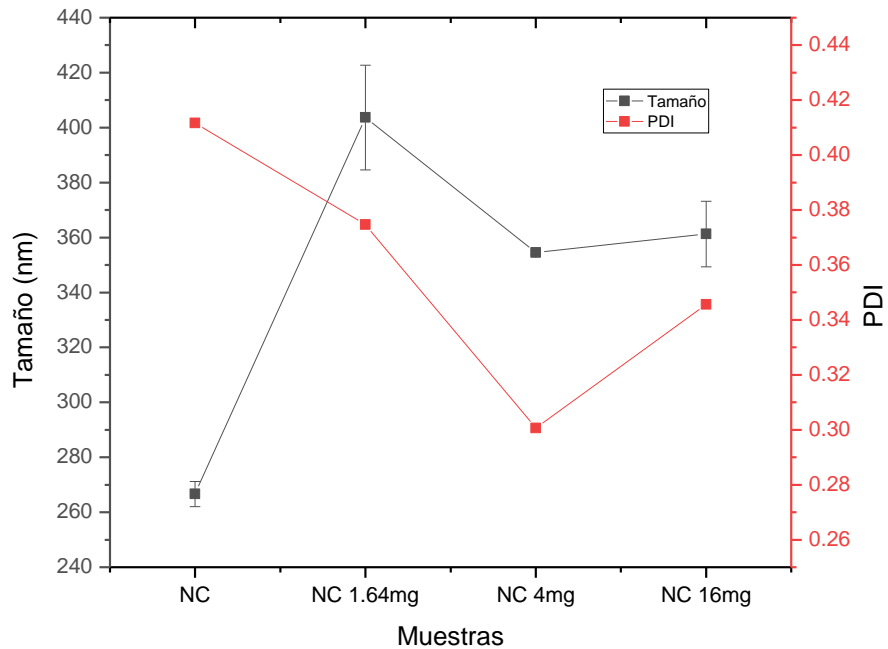


Figura 17. Efecto sucrosa en tamaño de NCs.

En cuanto al Potencial Z, se notó que la carga de las muestras con sucrosa aumentó en comparación con la muestra sin sucrosa, pasando de -40 mV en el caso de las NCs solas a -30 mV para la muestra con 1.64 mg de sucrosa, -32 mV para la muestra con 4 mg de sucrosa y -28 mV para la de 16 mg de sucrosa, como se muestra en la Figura 18.

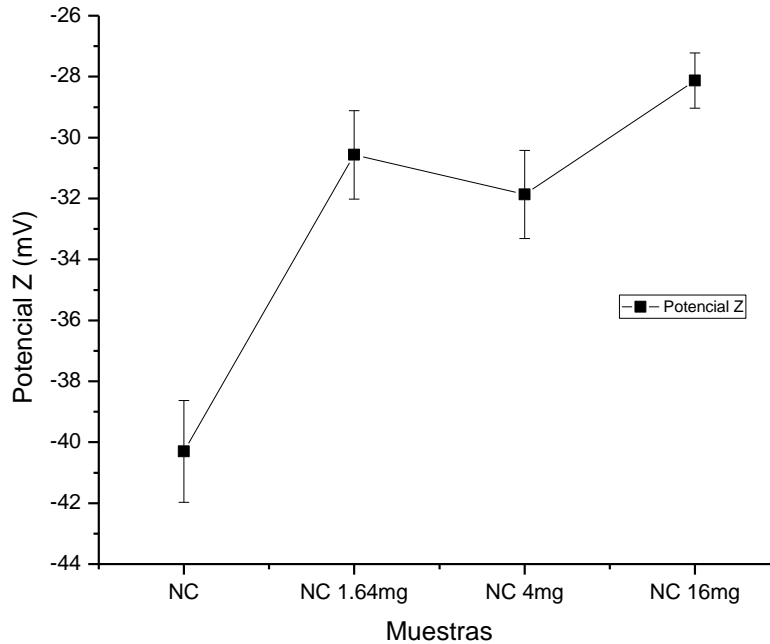


Figura 18. Efecto sucrosa en carga de NCs.

Una vez observados los resultados de las diferentes muestras se procedió a caracterizar aquellas que se sometieron al proceso de liofilización, las cuales fueron rehidratadas antes de sus mediciones.

En la Figura 19 se muestran los tamaños que presentaron la NE y las NCs al ser rehidratadas. Podemos observar un incremento muy significativo en comparación a los tamaños reportados en la Figura 13, sobrepasando los 1400 nm, esto debido a que las muestras se vieron afectadas por las bajas temperaturas del proceso de liofilización, ocasionando la deformación y ruptura de las NCs.

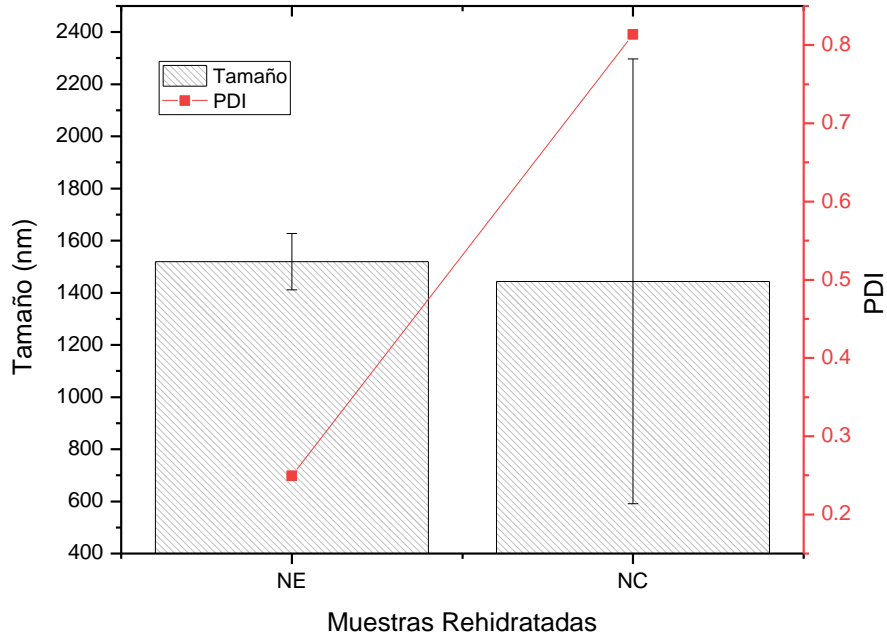


Figura 19. Efecto tamaño en NE y NCs rehidratadas.

En la siguiente figura se reportan los resultados de Potencial Z de la NE y NC rehidratadas, donde de igual manera que en los resultados de tamaño, se observa una gran variación con respecto a los presentados anteriormente a excepción de la carga de la NC la cual se mantuvo relativamente igual. La carga de la NE disminuyó de 35 mV a 5 mV.

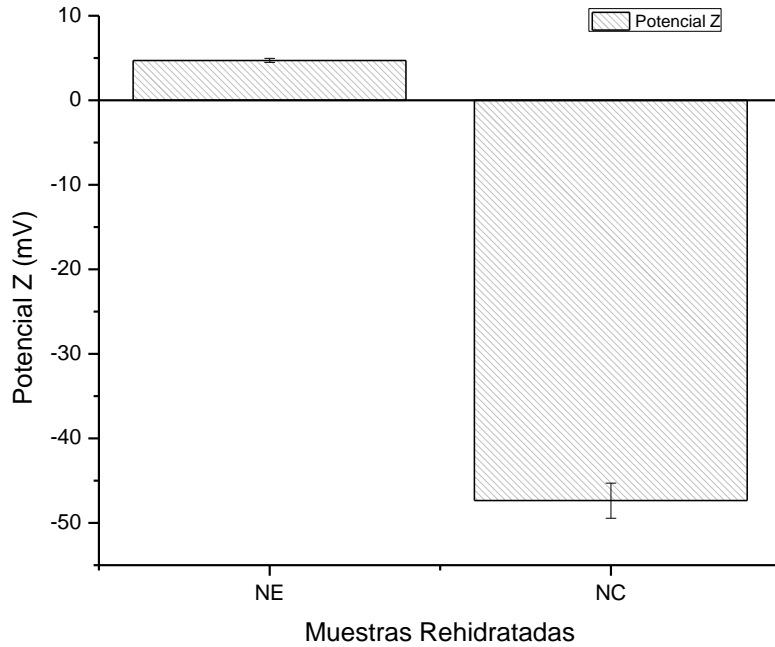


Figura 20. Efecto carga en NE y NCs rehidratadas.

Los resultados de tamaño de las muestras con sucrosa rehidratadas no presentan un cambio altamente significativo como en el caso de la muestra sin sucrosa. En la Figura 21 se reportan los valores de tamaño de las muestras, donde podemos comprobar la función de la sucrosa como crioprotector sobre las NCs.

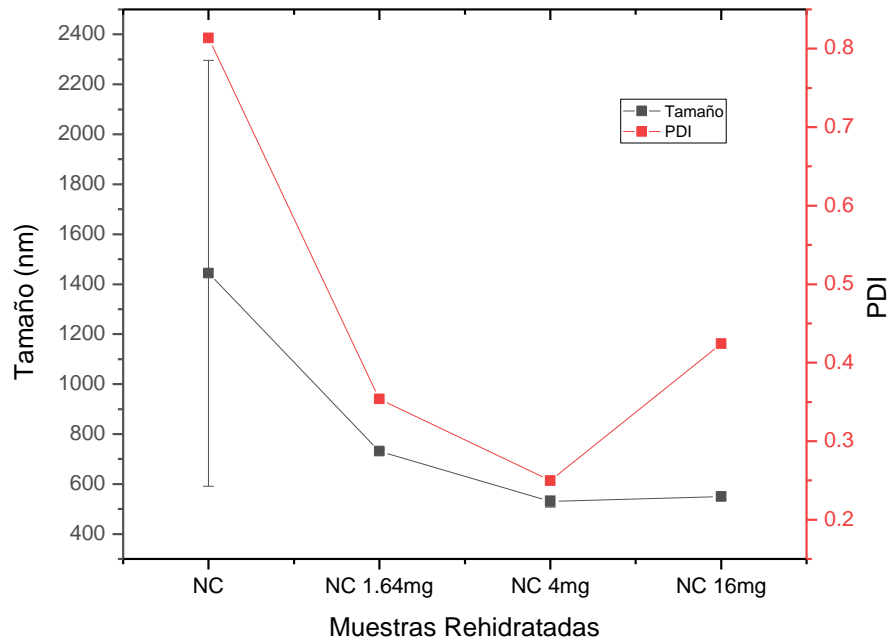


Figura 21. Efecto sucrosa en tamaño de NCs rehidratadas.

En la siguiente figura se muestran los resultados de Potencial Z de las muestras con sucrosa rehidratadas donde podemos observar que la carga de las NCs se vio alterada significativamente puesto que ésta tuvo un gran aumento en todas las muestras a excepción de aquella sin sucrosa en comparación a los reportados anteriormente.

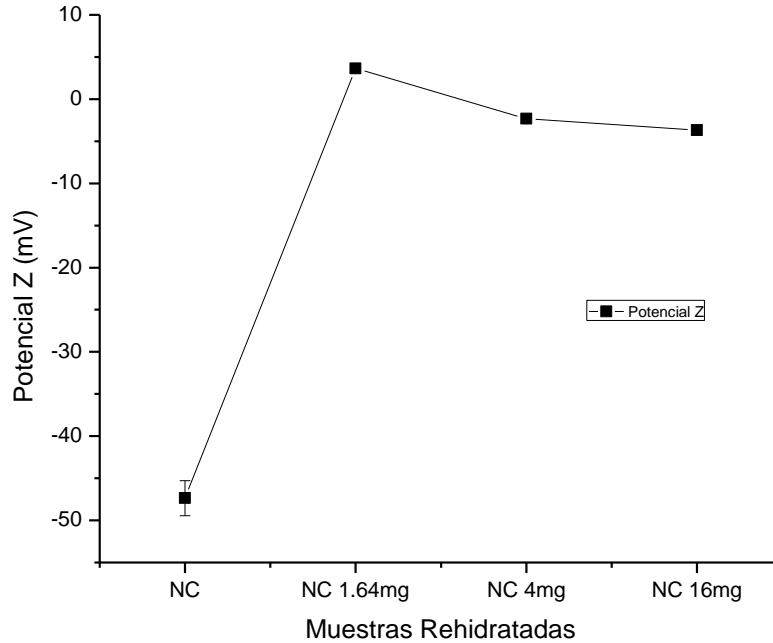


Figura 22. Efecto sucrosa en carga de NCs rehidratadas.

Los resultados mostrados en esta sección nos indican que los valores de tamaño de las NCs no se ven alterados significativamente por la adición de sucrosa e inclusive parece no verse modificado tras el proceso de liofilización, sin embargo, no podemos decir lo mismo acerca de los valores de las cargas, ya que estos se vieron sumamente afectados por dicho proceso. Esto puede deberse a la carga negativa que presenta la sucrosa, ya que al darnos cuenta del cambio en las cargas de las NCs se procedió a medir el Potencial Z de la sucrosa, obteniéndose un valor experimental promedio de -9.05 mV.

IV.2. Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 23 se muestran los espectros FTIR del Aceite de Oliva, DTAC y k-carragenina, componentes de las NCs, para evidenciar de esta manera la presencia de estos en las NCs y comprobar que no hubo interacciones químicas entre sus componentes.

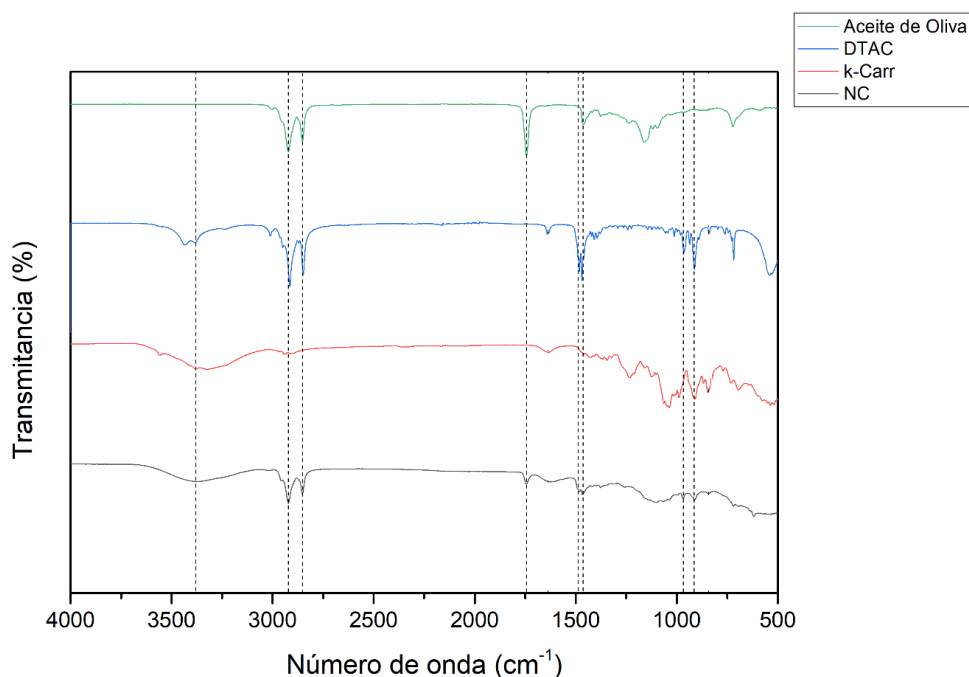


Figura 23. Espectro FTIR de los componentes de la NCs.

En el espectro del aceite de oliva podemos observar la presencia del grupo metilo (-CH₂) con una vibración de estiramiento asimétrica y simétricamente en la frecuencia de 2924 y 2852 cm⁻¹, respectivamente, debido a su parte alifática, como ocurre también en la frecuencia de 1465 cm⁻¹ donde la vibración es tipo doblamiento en los enlaces CH₂ y CH₃ [23]. En el número de onda 1743 cm⁻¹ nos encontramos con el grupo funcional éster carbonilo presente en los triglicéridos [23], donde se encuentran los ácidos oleico, palmítico y linoleico. En el 1417 cm⁻¹ nos encontramos

con vibraciones tipo mecedora de los enlaces CH de las olefinas [23]. Así como en las frecuencias de 1117 y 1098 cm^{-1} encontramos vibraciones de estiramiento del grupo éster C-O [23].

Para el espectro del DTAC observamos el grupo funcional hidroxilo en el número de onda 3320 cm^{-1} presentando una vibración de estiramiento [24]. Al igual que en el espectro del aceite de oliva, nos encontramos con una vibración de estiramiento asimétrica y simétricamente en la frecuencia de 2924 y 2852 cm^{-1} debido a los hidrocarburos presentes en la estructura química de este material [23]. En el número de onda de 1490 y 1480 cm^{-1} nos encontramos con un tipo de onda de estiramiento asimétrica del grupo $\text{CH}_3\text{-N}^+$ característico de su estructura [25]. Para la frecuencia de 950 cm^{-1} encontramos una vibración de doblamiento del grupo funcional -CH=CH_2 [24].

En el espectro de la κ -carragenina observamos el grupo funcional hidroxilo en el número de onda 3320 cm^{-1} presentando una vibración de estiramiento, al igual que en el DTAC [24]. En la frecuencia de 1625 cm^{-1} encontramos una vibración de estiramiento del grupo funcional -C=O con carga positiva (+) [24]. En 1240 cm^{-1} tenemos un tipo de vibración de estiramiento del grupo funcional S=O con carga positiva (+), característico de la estructura química de este material [26]. Podemos observar el enlace C-O de 3,6-anhidro-D-galactosa en el número de onda de 930 cm^{-1} con carga positiva (+), el cual es muy característico de este tipo de carragenina [26]. En 845 cm^{-1} encontramos en el enlace C-O-S del sulfato secundario axial en C-4 de la galactosa con carga positiva (+) [26]. Y en la frecuencia de 820 cm^{-1} encontramos el enlace C-O-S del grupo sulfato primario con carga negativa (-) [26].

En el espectro de las nanocápsulas podemos observar similitudes entre los picos de sus componentes, lo que nos indica que existe la presencia de éstos en las NCs. Comprobándolo en las frecuencias de 3320, 2924, 2852, 1743, 1490, 1465 y 845 cm^{-1} .

En la Figura 24 se muestran los espectros FTIR de la sucrosa y NCs a las que se le añadieron sucrosa para compararlas con las NCs solas.

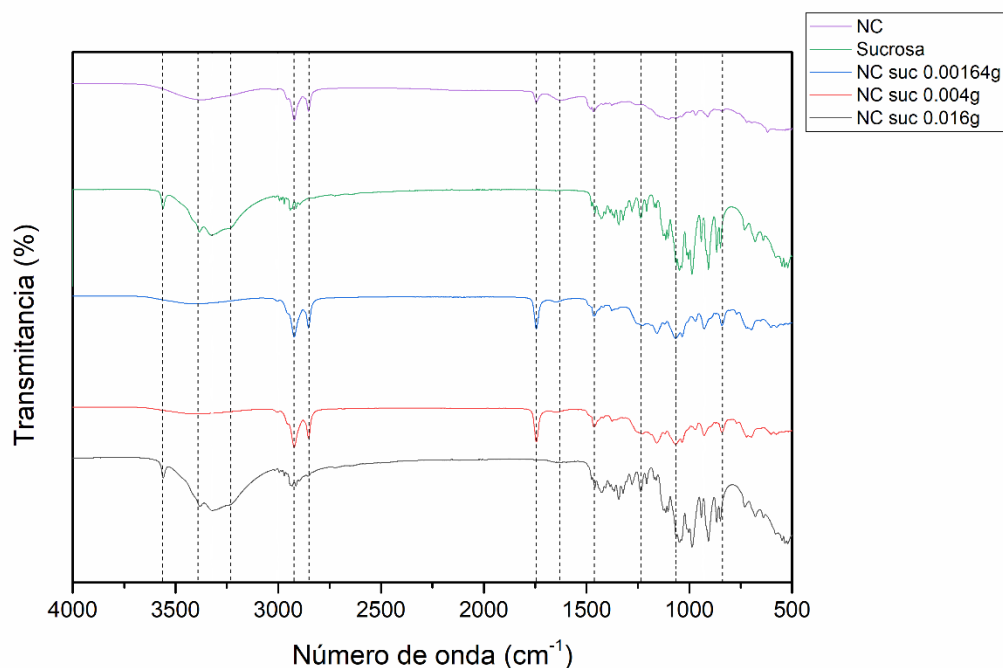


Figura 24. Espectro FTIR de NCs con sucrosa.

El espectro de la sucrosa nos muestra en el número de onda 3600, 3300 y 3200 cm^{-1} el grupo funcional O-H con una vibración de tipo estiramiento [27]. En la frecuencia de 1350 y 1250 cm^{-1} se encuentra el grupo C-O con una vibración de tipo estiramiento [28]. En el número de onda 1050 cm^{-1} encontramos el grupo $-\text{CH}=\text{CH}_2$

con una vibración de tipo dobléz. [24]. En el 750 cm^{-1} encontramos el grupo esquelético C-O-C y en el número de onda 650 cm^{-1} observamos el grupo C-H con una vibración de tipo mecedora [28].

Comparando los espectros de las NCs solas y la sucrosa contra las NCs con sucrosa podemos observar que se mantuvieron los componentes iniciales de las NCs, como lo son el aceite de oliva, DTAC y κ -carragenina añadiéndose de manera física los compuestos de la sucrosa, evidenciándose su función como crioprotector. El resultado de las NCs con 16 mg de sucrosa se vio opacada por este crioprotector, ya que el espectro entre ella y la sucrosa son idénticos, esto quiere decir que hubo un exceso de sucrosa en la muestra lo cual no permitió que se distinguieran los componentes base de las NCs.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

V.1. Conclusiones

- Se desarrolló un sistema de nanocápsulas a base de aceite de oliva recubiertas con un biopolímero κ -carragenina.
- Se comprobó el efecto estabilizante del biopolímero al reducirse el tamaño de la NE.
- Se evidenció mediante el Potencial Z que la NE fue recubierta con éxito dando como resultado una carga negativa (-).
- Se demostró que la sucrosa posee propiedades protectoras ante las condiciones que presenta el proceso de liofilización en los tamaños de NCs reportados en la sección de resultados, donde éstos no se ven afectados de manera significativa.
- Se reafirmó mediante los espectros FTIR que los componentes de las NCs no interaccionaron químicamente al igual que la sucrosa. Además de evidenciar la presencia de estos en las NCs.

V.II. Recomendaciones

- Dar seguimiento a este tipo de investigaciones implementando la adición de fármaco al núcleo de las NCs.
- Buscar otro tipo de azúcar con una carga positiva (+) para estudiarla en este tipo de sistemas donde la NC presenta una carga superficial negativa (-).

VI. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. F. NAVARRO, "CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO SURFACTANTE EN NANOCÁPSULAS DE K-CARRAGENINA CON NÚCLEO DE ÁCIDO OLEICO.," UNIVERSIDAD DE SONORA, 2015.
- [2] S. YAO, H. LIU, S. YU, Y. LI, X. WANG, AND L. WANG, "DRUG-NANOENCAPSULATED PLGA MICROSPHERES PREPARED BY EMULSION ELECTROSPRAY WITH CONTROLLED RELEASE BEHAVIOR," PP. 1–9, 2016.
- [3] G. ORIVE, R. M. HERNÁNDEZ, A. R. GASCÓN, A. DOMÍNGUEZ-GIL, AND J. L. PEDRAZ, "DRUG DELIVERY IN BIOTECHNOLOGY: PRESENT AND FUTURE," *CURR. OPIN. BIOTECHNOL.*, VOL. 14, NO. 6, PP. 659–664, 2003.
- [4] R. CRUZ-MORFIN *ET AL.*, "DRUG DELIVERY IN BIOTECHNOLOGY: PRESENT AND FUTURE," *CURR. OPIN. BIOTECHNOL.*, VOL. 7, NO. 6, P. 43, 2012.
- [5] G. STRAUSS, P. SCHURTENBERGER, AND H. HAUSER, "THE INTERACTION OF SACCHARIDES WITH LIPID BILAYER VESICLES: STABILIZATION DURING FREEZE-THAWING AND FREEZE-DRYING," *BBA - BIOMEMBR.*, VOL. 858, NO. 1, PP. 169–180, 1986.
- [6] I. DE CIENCIAS DE LOS MATERIALES DE ARAGON, "BIOMATERIALES," P. 8.
- [7] G. DUFFO, "MATERIALES Y MATERIAS PRIMAS," *MATER. Y MATER.*

PRIMAS, P. 43, 2011.

- [8] F. D. D. C. RODRÍGUEZ, "INTRODUCCIÓN A LOS NANOMATERIALES.," *LECT. INGERÍA 20*, P. 79, 2012.
- [9] R. CRUZ-MORFIN, R. MARTÍNEZ-TENORIO, AND A. LÓPEZ-MALO, "BIOPOLÍMEROS Y SU INTEGRACIÓN CON POLÍMEROS CONVENCIONALES COMO ALTERNATIVA DE EMPAQUE DE ALIMENTOS," *TEMAS SELECCIÓN ING. ALIMENT.*, PP. 42–52, 2013.
- [10] S. ALARCON, "EVALUACIÓN DEL USO DE LA CARRAGENINA EN BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS," *UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE*, P. 23.
- [11] I. MARÍA AND S. BRAVO, "ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES FINALES DE EXTRACTOS DE CARRAGENINA K-I / K-II UTILIZANDO DISTINTAS ALGAS PRODUCTORAS DE CARRAGENINA K-II," 2007.
- [12] C. H. M., "FORMACIÓN DE NANOEMULSIONES O/W MEDIANTE EL CAMBIO EN LA COMPOSICIÓN-FORMULACIÓN POR DILUCIÓN CON AGUA DE SISTEMAS PRÓXIMOS A LA FORMULACIÓN ÓPTIMA," *ULA*, P. 96, 2004.
- [13] L. M. LEON, "FORMACIÓN Y ESTABILIDAD DE UN SISTEMA DE NANOCÁPSULAS A BASE DEL BIOPOLÍMERO KAPPA-CARRAGENINA.," UNIVERSIDAD DE SONORA, 2016.

- [14] M. R. ALDEA, "FABRICACIÓN DE LIPOSOMAS Y DE CÁPSULAS POLIMÉRICAS," P. 359, 2013.
- [15] G. LOLLO, "NANOCÁPSULAS DE POLIAMINOÁCIDOS PARA LA LIBERACIÓN SELECTIVA DE FÁRMACOS ANTITUMORALES," P. 346, 2012.
- [16] M. NURUZZAMAN, M. M. RAHMAN, Y. LIU, AND R. NAIDU, "NANOENCAPSULATION, NANO-GUARD FOR PESTICIDES: A NEW WINDOW FOR SAFE APPLICATION," *J. AGRIC. FOOD CHEM.*, VOL. 64, NO. 7, PP. 1447–1483, 2016.
- [17] J. SEBASTIÁN AND R. NAVAS, "LIOFILIZACIÓN."
- [18] A. DEL R. GIL, "EFECTO DEL MÉTODO DE CRIOPRESERVACIÓN Y DE LA BLASTOCELECTOMÍA SOBRE EL DESARROLLO IN VITRO DE BLASTOCITOS BOVINOS," UNIVERSIDAD VERACRUZANA, 2011.
- [19] "SUGAR CANE AND SUGAR BEET CROPS AS A SOURCE OF SUPPLY."
- [20] "ZETASIZER NANO SERIES USER MANUAL," VOL. 2, PP. 0–0.
- [21] "ANDREAH." [ONLINE]. AVAILABLE:
[HTTP://WWW.FISICA.UNAM.MX/ANDREAH/TECNICAS_EQUIPOS/FTIR.HTML](http://www.fisica.unam.mx/andreaH/tecnicas_equipos/ftir.html). [ACCESSED: 01-AUG-2017].
- [22] C. Y. CEMENTO VOL, "USO DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) EN EL ESTUDIO DE LA HIDRATACIÓN DEL CEMENTO," VOL. 3, PP. 62–71, 2012.

- [23] A. ROHMAN AND Y. B. C. MAN, "FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY FOR ANALYSIS OF EXTRA VIRGIN OLIVE OIL ADULTERATED WITH PALM OIL," *FOOD RES. INT.*, VOL. 43, NO. 3, PP. 886–892, APR. 2010.
- [24] J. S. GAFFNEY, N. A. MARLEY, AND D. E. JONES, "FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY," *CHARACT. MATER.*, PP. 1104–1135, 2012.
- [25] D. R. SCHEUING AND J. G. WEERS, "A FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPIC STUDY OF DODECYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE/SODIUM DODECYL SULFATE SURFACTANT MIXTURES," *LANGMUIR*, VOL. 6, NO. 3, PP. 665–671, MAR. 1990.
- [26] T. CHOPIN AND E. WHALEN, "A NEW AND RAPID METHOD FOR CARRAGEENAN IDENTIFICATION BY FT IR DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY DIRECTLY ON DRIED, GROUND ALGAL MATERIAL," *CARBOHYDR. RES.*, VOL. 246, NO. 1, PP. 51–59, AUG. 1993.
- [27] A. E. SEGNEANU, I. GOZESCU, A. DABICI, P. SFIRLOAGA, AND Z. SZABADAI, "ORGANIC COMPOUNDS FT-IR SPECTROSCOPY."
- [28] *FOREST PATHOLOGY = JOURNAL DE PATHOLOGIE FORESTIÈRE = ZEITSCHRIFT FÜR FORSTPATHOLOGIE.* BLACKWELL WISSENSCHAFTS-VERLAG.

