

Desempeño del método cromatográfico para el estudio de estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado empleando acetato de quitosana

Performance of chromatographic method for the stability study of microencapsulated shark liver oil using chitosan acetate

Caridad García¹, Mirna Fernández², Mirta Castiñeira², Vivian Martínez³, Orestes López⁴, Antonio Nogueira³

1. Master en Tecnología y Control de Medicamentos. Investigador Auxiliar. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)

2. DraC. Ciencias Farmacéuticas. Profesora Titular, IFAL

3. Técnico. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)

4. DrC. Ciencias Técnicas. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador

Artículo original
Original Article

Correspondencia
Correspondence

DraC. Mirna Fernández Cervera
BInstituto de Farmacia y Alimentos
(IFAL). Universidad de la Habana
Calle 23 No. 21425 e/ 214 y 222,
La Habana. Cuba.
7271-4075, 7271-9534
mirnafc@ifal.uh.cu
mirnafc@yahoo.com

Financiación
Fundings

Sin financiación

Conflicto de interés
Competing interest

Los autores declaran que no existe
conflicto de interés.

Received: 29.10.2015
Accepted: 29.09.2016

RESUMEN

<http://dx.doi.org/10.30827.ars.v57i3.5328>

Objetivo: Evaluar el desempeño del método para la cuantificación de la vitamina A en el aceite microencapsulado, empleando acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, así como estudiar la estabilidad del aceite microencapsulado.

Materiales y métodos: Los parámetros evaluados se correspondieron con lo establecido internacionalmente para este estudio: especificidad, exactitud y precisión. El estudio de estabilidad se realizó durante 12 meses a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) y 70 ± 5 % de humedad relativa, evaluándose en el tiempo la eficiencia de encapsulación, aceite superficial, pérdidas por desecación, contenido de vitamina A y conteo microbiológico.

Resultados: Se demostró que el método evaluado fue específico, preciso y exacto para la determinación del contenido de vitamina A en la mezcla de aceite microencapsulado. Los resultados demuestran que el aceite microencapsulado tiene un comportamiento estable en cuanto a los indicadores evaluados, evidenciándose la protección ofrecida por los componentes de la pared de las microcápsulas. Conclusiones: El método empleado en la cuantificación de la vitamina A en el aceite microencapsulado resultó específico, exacto y preciso, demostrándose su aplicabilidad para el control de calidad y estudio de estabilidad. El aceite microencapsulado con acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, es estable física, química y microbiológicamente, durante 12 meses.

Palabras claves: vitamina A; método cromatográfico; acetato de quitosana; aceite de hígado de tiburón microencapsulado; estabilidad.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the performance of the method for the quantification of vitamin A in the microencapsulated oil using chitosan acetate and maltodextrin as encapsulating agents, and to study the stability of microencapsulated oil.

Materials and methods: The evaluated parameters were in accordance with international standards among those that we can mention: specificity, accuracy and precision. The stability study was carried out for 12 months at room temperature (30 ± 2 °C) and 70 ± 5 % relative humidity, the following parameters were evaluated: capsulation efficiency, loss on drying, superficial oil, vitamin-A content and microbiological count.

Results: It was demonstrated that the evaluated method was specific, precise and accurate for the determination of vitamin A in the microencapsulated oil. The results demonstrate that the microencapsulated oil has a stable behavior in terms of evaluated parameters, showing the protection provided by the components of the wall material. Conclusions: The method used in the quantification of vitamin A in the microencapsulated oil was specific, accurate and precise, for what can be an employee in the

quality control and stability study. The microencapsulated oil with chitosan acetate and maltodextrin as encapsulating agents turned out to be physically, chemically and microbiologically stable for a period of 12 months.

Key words: vitamin A; chromatographic method; chitosan acetate; microencapsulated shark liver oil; stability.

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación es una técnica que se ha aplicado para preservar y/o proteger numerosos ingredientes. Puede considerarse una forma especial de empacar materiales sólidos, líquidos y gaseosos en miniatura. El material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente, de la reacción con otros compuestos o para impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno. Permite proteger del ambiente a sustancias sólidas o líquidas, divididas en pequeñas partículas o gotas (fase interna), recubriéndolas con una película de carbohidratos u otro material polimérico (pared)¹⁻².

El secado por aspersión se basa en atomizar la solución que va a ser secada, en forma de gotas muy finas, en el seno de una corriente de gas caliente que generalmente es aire. Este método se puede utilizar en operaciones de recubrimiento de sólidos y líquidos porque a medida que se evapora el disolvente, el material de recubrimiento envuelve las partículas, lo que puede ser útil para enmascarar olores y sabores, mejorar la estabilidad y modificar la entrega de fármacos³. Otra utilidad es la microencapsulación de gotas de líquidos oleosos, lo que se logra emulsificándolos en agua con ayuda de goma arábiga o almidón, y luego se someten al proceso de secado por aspersión⁴.

A pesar de la existencia de otros métodos de microencapsulación, el secado por aspersión ha sido utilizado, al igual que el sistema de agentes encapsulantes maltodextrina y goma arábiga, para microencapsular numerosos compuestos como el aceite de hígado de bacalao⁵. Esta combinación de polímeros ha sido empleada como encapsulante de sustancias de naturaleza lipídica como aceites fijos, aceites volátiles y vitaminas, lo que indica es adecuada para la encapsulación de aceites, por su garantía en la protección de estos⁴.

Con la finalidad de lograr mayor estabilidad de las vitaminas presentes en la mezcla de aceite de hígado de tiburones costeros de Cuba, se realizó su microencapsulación empleando goma arábiga y maltodextrina como agentes encapsulantes, a través del método de secado por aspersión. El estudio de estabilidad realizado al aceite demostró que era estable durante seis meses, lográndose aumentar la estabilidad de la vitamina A presente en el aceite microen-

capsulado de 6 a 12 meses⁶, empleando para ello un método cromatográfico validado⁷.

Con iguales propósitos, se realizó el proceso de microencapsulación del aceite empleando otro polímero, el acetato de quitosana, sal obtenida a partir de quitosana derivada de quitina de langosta⁸, el cual por sus características presenta un comportamiento similar al de la goma arábiga.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el desempeño del método para la cuantificación de la vitamina A en el aceite microencapsulado, empleando acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, así como estudiar la estabilidad del aceite microencapsulado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Productos químicos y reactivos

Mezcla de aceite de hígado de tiburón suministrado por el Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP, Cuba). La sustancia de referencia química de vitamina A acetato fue suministrada por el Grupo de Sustancias de referencias del CIDEM, Cuba. El resto de los reactivos y soluciones fueron de calidad analítica (Merck, Alemania).

Microencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón

Para la microencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón, a través de un proceso de secado por aspersión, se emplearon como agentes encapsulantes la combinación de acetato de quitosana (CIDEM, Cuba) y maltodextrina DE 16 (Panreac, España) en las proporciones fijadas. Con el empleo de un electroagitador (Heidolph, Alemania) se realizó la disolución de la maltodextrina y el acetato de quitosana en agua desionizada. Posteriormente se adicionó el aceite manteniendo la agitación constante hasta lograr su homogeneización (Ika Ultraturrax T25, Alemania). Se empleó un secador por aspersión de laboratorio (Büchi B-191, Suiza) manteniendo una temperatura de entrada de 150 ± 2 °C y de salida de 90 ± 2 °C. Las microcápsulas obtenidas presentaron un tamaño medio de partículas de 254 nm.

Técnica cromatográfica empleada

Las muestras de aceite de hígado de tiburón microencapsulado con acetato de quitosana y maltodextrina, y la sustancia de referencia química de vitamina A acetato, fueron procesadas según la metodología descrita en la Figura 1⁶⁻⁷.

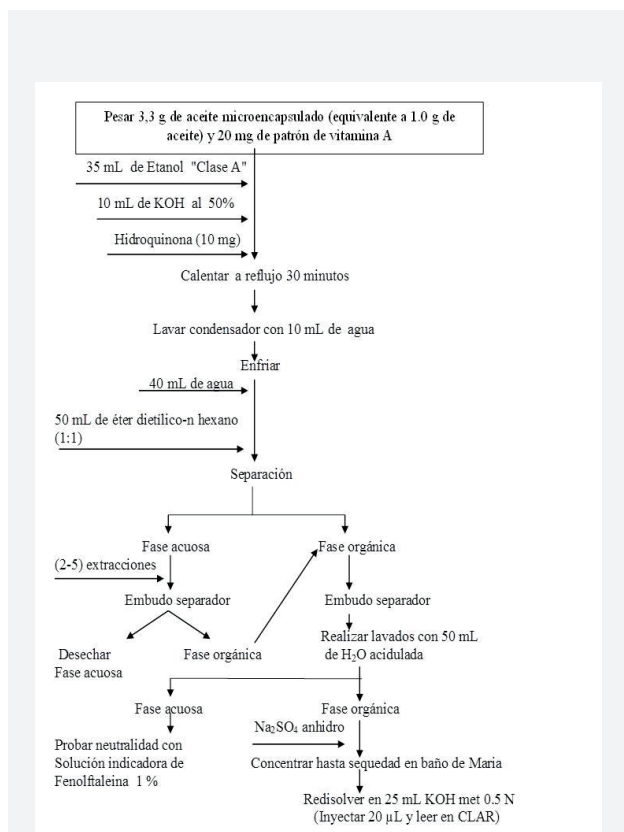


Figura 1. Procesamiento de las microcápsulas y la sustancia de referencia química (vitamina A)

Las condiciones cromatográficas empleadas fueron⁶⁻⁷: columna: Lichrosorb RP-18 (5 µm) 250 – 4 mm (Merck, Alemania), fase móvil: metanol - agua (90:10) v/v y velocidad de flujo de 1,0 mL/min. La longitud de onda empleada para determinar la vitamina A fue 325 nm. El procedimiento fue realizado en un cromatógrafo líquido de alta resolución (Merck); integrador Shimadzu modelo CRD 8AV; detector UV (longitud de onda variable) KANUER; bomba KANUER K-1001; INTERFACE BOX KANUER.

Evaluación del desempeño

Para la evaluación del desempeño del método se evaluaron los parámetros de especificidad, precisión y exactitud⁹⁻¹⁰:

Exactitud

El estudio de exactitud se realizó empleando el modelo de tres réplicas para tres concentraciones diferentes: 80, 100 y 120 %, determinando el porcentaje de recuperación (R), la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV). Además se aplicó la prueba de Gochran (G) con vistas a comprobar si la variación de la concentración producía diferencias significativas en los resultados, y la prueba de Student (t) para determinar diferencias significativas entre la recuperación media y el 100 %.

Precisión

Repetibilidad

Para la repetibilidad se evaluaron seis muestras con la concentración equivalente al 100 %. Se calculó el CV y se comparó con el criterio establecido ($\leq 2,0$ %). Las determinaciones las realizó el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo.

Precisión intermedia

Participaron dos analistas, en dos días diferentes, en el mismo laboratorio. Se analizaron seis réplicas en cada caso de muestras equivalentes al 100 %, y se comparó con el criterio establecido ($CV_T \leq 2,0$ %). La prueba de Fisher (F) se utilizó para determinar si existían diferencias significativas entre los resultados de los analistas que emplearon el mismo método y entre los días en que se realizaron los análisis.

La prueba t de Student se utilizó para comprobar si los valores medios obtenidos entre los analistas, que emplearon igual método, y los dos días en que se realizaron los análisis eran homogéneos, para un nivel de confianza del 95 %.

Especificidad

Para el estudio de especificidad se analizaron: la sustancia de referencia de vitamina A, el placebo y las muestras de aceite microencapsulado. No deben obtenerse señales del placebo en la zona de elusión del principio activo a cuantificar. Las áreas bajo las curvas del patrón y del principio activo a cuantificar, en el producto terminado, deben ser similares.

Estudio de estabilidad

Se emplearon tres lotes del aceite microencapsulado almacenados a temperatura ambiente (30 ± 2 °C; 70 ± 5 % de humedad relativa); valorándose al inicio, 3, 6, 9 y 12 meses; envasados en bolsas dobles de polietileno de baja densidad selladas y protegidas de la luz. La evaluación del aceite microencapsulado incluyó los siguientes parámetros físico-químicos^{6,11}:

Pérdidas por desecación: Se pesó la muestra en un pesafiltro de 15 mL en una balanza analítica Sartorius R 200 D (Alemania), secando en un horno Heraeus UT 6060 (China) a 105 °C hasta peso constante. El procedimiento se realizó hasta que la diferencia de peso entre las dos últimas pesadas tuviera la exactitud requerida ($\leq 0,0002$ g), indicando peso constante¹⁰⁻¹².

Contenido de aceite libre o superficial: Se realizó por el método de Soxhlet, empleando éter de petróleo de calidad para análisis (p.a) (Merck, Alemania) con un intervalo de ebullición de 60 a 80°C. Se pesó la cápsula de extracción vacía y el dedal de celulosa con la muestra en balanza ana-

lítica. El proceso de extracción se realizó a una temperatura de 100 °C, pasando por las etapas de pre-extracción en disolvente caliente, enjuague y recuperación del disolvente. Posteriormente se secó a 96°C durante 30 min en el horno. Se enfrió hasta temperatura ambiente en una desecadora con sílica gel e indicador de humedad, y se pesó en balanza analítica. El procedimiento se realizó por triplicado. Para el cálculo se empleó la expresión siguiente¹¹⁻¹²:

$$\text{Aceite libre (\%)} = \left[\frac{A-B}{C} \cdot 100 \right]$$

Donde: A: masa de la cápsula con el aceite superficial después del proceso de extracción (g); B: masa de la cápsula vacía (g); C: masa de la muestra pesada en el dedal antes del proceso de extracción (g).

Eficiencia de encapsulación: Se calculó a partir del contenido de aceite total teórico y los datos de la determinación del aceite superficial, según la expresión siguiente¹¹⁻¹²:

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \left[\frac{(\% \text{ Total} - \% \text{ Libre})}{\% \text{ Total}} \right] \cdot 100$$

Contenido de la vitamina A: Se determinó a través del método de cromatografía líquida de alta resolución previamente descrito (Figura 1).

La estabilidad microbiológica del aceite microencapsulado fue determinada a través del conteo diferencial de bacterias (CB) y hongos (CH) al inicio y a los 12 meses, empleando el método general de conteo microbiano para productos no estériles^{10,13}.

Para evaluar la influencia de los agentes encapsulantes en la estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado, por el método de secado por aspersión, los resultados del contenido de vitamina A, pérdidas por desecación, eficiencia de encapsulación y aceite superficial, a tiempo inicial, seis y 12 meses, fueron analizados estadísticamente, a través del estadígrafo t-Student, con el objetivo de determinar si existían diferencias significativas entre las medias obtenidas por cada sistema de encapsulación en cada uno de los tiempos estudiados.

RESULTADOS

Los resultados experimentales de la exactitud del método se muestran en la Tabla 1, mientras que los de la repetibilidad aparecen en la Tabla 2. A través del procesamiento estadístico realizado se demostró el cumplimiento de los parámetros para la exactitud y repetibilidad del método.

Tabla 1. Exactitud del método

| Niveles | Recuperación (%) | Resultados | Límites |
|---------|------------------|---|--|
| 80 % | 99,84 | R media = 99,89 % CV _{80 %} = 0,13 % CV _{100 %} = 0,04 % CV _{1200 %} = 0,07 % t exp. = 1,99 t tab. = 2,30 G exp. = 0,591 G tab. = 0,797 | 98,0 - 102,0 % CV ≤ 2,0 % t exp. ≤ t tab. G exp. ≤ G tab. |
| | 100,01 | | |
| | 99,68 | | |
| 100 % | 100,02 | | |
| | 99,97 | | |
| | 99,92 | | |
| 120 % | 99,78 | | |
| | 99,95 | | |
| | 99,85 | | |

R: porciento de recuperación, CV: coeficiente de variación, t: t de Student, G: prueba de Gochran

Tabla 2. Precisión del método

| Contenido de Vitamina A (µg/g) | | | |
|--------------------------------|--------|---------------------------|---|
| Analista 1 | | Analista 2 | |
| Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 |
| 200,45 | 200,87 | 200,87 | 200,67 |
| 200,57 | 200,74 | 200,13 | 200,58 |
| 200,77 | 200,64 | 200,35 | 200,49 |
| 200,28 | 200,53 | 200,67 | 200,19 |
| 200,53 | 200,67 | 200,59 | 200,28 |
| 200,67 | 200,41 | 200,37 | 200,32 |
| Coeficientes de variación | | Coeficientes de variación | |
| 0,09 % | 0,08 % | 0,13 % | 0,09 % |
| Analistas | | Días | Valores tabulados |
| F = 1,27 t = 0,86 | | F = 1,30 t = 0,15 | F tabulado (5/5; 0,05) = 5,05 t tabulado (11; 0,05) = 2,20 |

F: prueba de Fisher, t: t de Student

Se demostró que el método fue específico para la cuantificación de la vitamina A, bajo las condiciones en que se realizó el estudio (Figura 2).

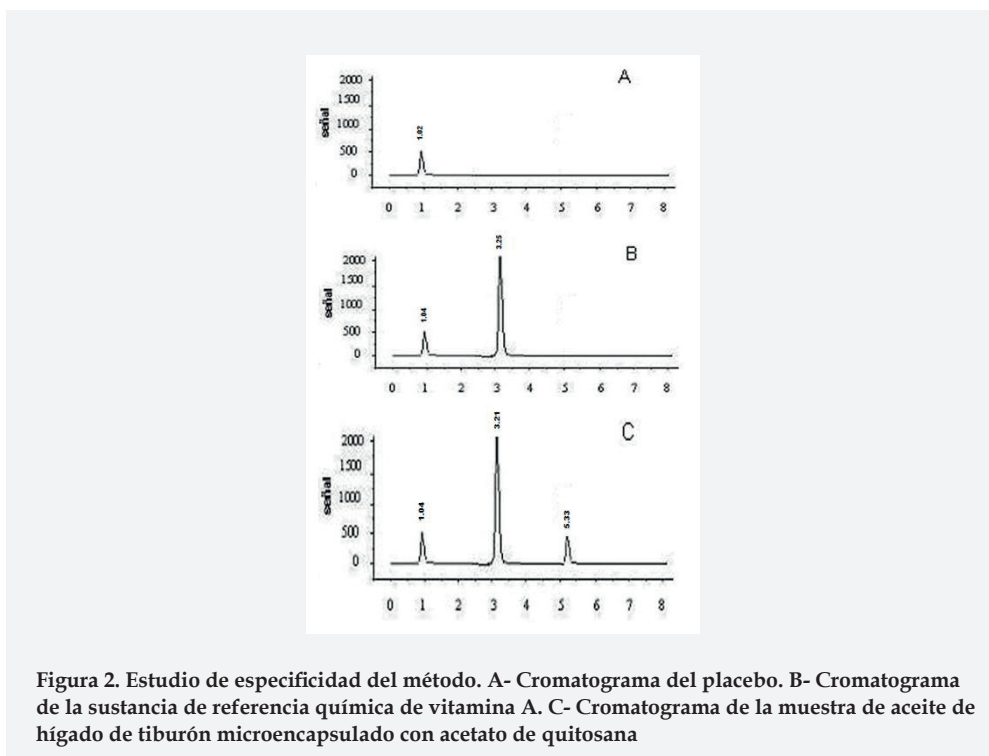


Figura 2. Estudio de especificidad del método. A- Cromatograma del placebo. B- Cromatograma de la sustancia de referencia química de vitamina A. C- Cromatograma de la muestra de aceite de hígado de tiburón microencapsulado con acetato de quitosana

En la Tabla 3 se muestran los resultados del estudio de estabilidad del aceite microencapsulado durante 12 meses y en la Tabla 4 se evidencian los resultados de la influencia de los agentes encapsulantes en la estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado por el método de secado por aspersión.

Tabla 3. Estudio de estabilidad del aceite microencapsulado

| Parámetros | Tiempo (meses) | Lotes | | | Límites |
|--------------------------------|----------------|----------|----------|----------|---|
| | | 13001 | 13002 | 13003 | |
| Características organolépticas | 0 | Responde | Responde | Responde | Sólido de color carmelita claro sin partículas extrañas |
| | 3 | Responde | Responde | Responde | |
| | 6 | Responde | Responde | Responde | |
| | 9 | Responde | Responde | Responde | |
| | 12 | Responde | Responde | Responde | |
| Pérdida por desecación | 0 | 4,1 | 4,2 | 4,1 | Menos de 10,0 % |
| | 3 | 4,2 | 4,2 | 4,3 | |
| | 6 | 4,4 | 4,5 | 4,4 | |
| | 9 | 4,5 | 4,6 | 4,7 | |
| | 12 | 4,7 | 4,9 | 4,9 | |
| Eficiencia de encapsulación | 0 | 84,03 | 83,60 | 84,23 | No menos de 70,0 % |
| | 3 | 83,73 | 83,23 | 83,73 | |
| | 6 | 83,57 | 82,97 | 83,50 | |
| | 9 | 83,27 | 82,70 | 83,03 | |
| | 12 | 83,03 | 82,43 | 82,70 | |
| Aceite superficial | 0 | 4,79 | 4,92 | 4,73 | No más del 15,0 % |
| | 3 | 4,88 | 5,03 | 4,88 | |
| | 6 | 4,93 | 5,11 | 4,95 | |
| | 9 | 5,02 | 5,19 | 5,09 | |
| | 12 | 5,09 | 5,27 | 5,19 | |
| Contenido de vitamina A | 0 | 200,8 | 200,4 | 201,3 | No menos de 31,49 µg/g |
| | 3 | 200,1 | 199,3 | 200,1 | |
| | 6 | 198,1 | 197,5 | 198,3 | |
| | 9 | 196,9 | 196,4 | 196,2 | |
| | 12 | 195,2 | 195,1 | 194,7 | |
| Conteo microbiológico | 0 | Cumple | Cumple | Cumple | CB: ≤ 10 ⁴ UFC/g CH: ≤ 10 ³ UFC/g Ausencia de patógenos |
| | 12 | Cumple | Cumple | Cumple | |

Los resultados del estudio de estabilidad realizado al aceite microencapsulado, empleando la combinación de acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, envasado en bolsas dobles de polietileno de baja densidad selladas, protegidas de la luz y almacenadas a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) y 70 ± 5 % de humedad relativa, se encuentran dentro de los límites establecidos.

Tabla 4. Influencia de los agentes encapsulantes en la estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado por el método de secado por aspersión

| Parámetros | Tiempo (mes) | t calc aceite microencapsulado con goma arábiga y maltodextrina | t calc aceite microencapsulado con acetato de quitosana y maltodextrina | t calc comparación entre variantes de encapsulación |
|-----------------------------|--------------|---|---|---|
| Contenido de vitamina A | Inicial | | | 0,96 |
| | 6 | 6,22 | 9,64 | 1,67 |
| | 12 | 14,36 | 17,28 | 1,44 |
| Pérdidas por desecación | Inicial | | | 1,73 |
| | 6 | 1,73 | 4,24 | 1,41 |
| | 12 | 4,63 | 6,57 | 1,22 |
| Eficiencia de encapsulación | Inicial | | | 17,96 |
| | 6 | 0,45 | 1,05 | 17,60 |
| | 12 | 1,32 | 2,23 | 19,18 |
| Aceite superficial | Inicial | | | 5,78 |
| | 6 | 0,05 | 0,33 | 5,26 |
| | 12 | 0,11 | 0,74 | 4,70 |
| t tab (11; 0,05) = 2,20 | | | | |

DISCUSIÓN

Los porcentos de recobro obtenidos en el estudio de exactitud, estuvieron dentro de los límites establecidos para los métodos cromatográficos (98-102 %), así como los valores del coeficiente de variación para cada uno de los niveles de concentración estudiados (≤ 2 %). Al aplicar la prueba de Cochran se obtuvo que la G experimental fue menor que la G tabulada para un 95 % de confianza, por lo tanto, las varianzas de las concentraciones estudiadas fueron equivalentes indicando que la concentración no influyó en la variabilidad de estos resultados⁹⁻¹⁰.

En el estudio de la repetibilidad realizado a una misma muestra, por el mismo analista, el mismo día, se alcanzó un coeficiente de variación inferior al límite establecido (2,0 %). Los valores obtenidos de las pruebas de Fisher y t de Student, en la evaluación de la precisión intermedia, fueron también satisfactorios demostrando que no existen diferencias significativas entre las dispersiones, ni las medias alcanzadas por los analistas, en diferentes días. Además, se obtuvo un CV total acorde con el criterio de aceptación: $CV_T \leq 2,0$ %, de manera que errores aleatorios no repercutieron significativamente en el método desarrollado. El conjunto de estos resultados permite asegurar la precisión del método en estudio⁹⁻¹⁰.

Como se observa en el cromatograma correspondiente a la muestra placebo (A), no hay ninguna señal en la zona de interés, al ser comparado con la obtenida para la sustancia de referencia química (B) y la muestra del aceite microencapsulado (C), lo cual indica que los excipientes empleados en la microencapsulación del aceite no interfieren en la determinación de la vitamina.

Los resultados obtenidos del estudio de especificidad se corresponden con los obtenidos para el aceite de hígado de tiburón microencapsulado con goma arábiga-maltodextrina, donde se evidenció que no existían interferencias de estos excipientes en la determinación de la vitamina A⁷. Además, se aprecia una similitud en los tiempos de retención de la vitamina A, para ambos sistemas de microencapsulación.

Por lo tanto, se comprobó la especificidad del método al no existir interferencias de picos adicionales en la determinación del principio activo, no se evidenciaron interferencias de los excipientes empleados como agentes encapsulantes, demostrándose la aplicabilidad del método desarrollado para la cuantificación de la vitamina A en el aceite microencapsulado.

Los resultados del estudio de estabilidad realizado al aceite microencapsulado, empleando la combinación de acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, se encuentran dentro de los límites establecidos. La disminución del contenido de vitamina A en el tiempo fue inferior al 5 %¹³ demostrándose la mayor estabilidad del aceite microencapsulado respecto al no encapsulado. Estos resultados se encuentran en correspondencia con los obtenidos en el estudio de estabilidad del aceite microencapsulado empleando goma arábica y maltodextrina⁶, por lo que se puede afirmar que la microencapsulación, mediante el método de secado por aspersión, favoreció la estabilidad de la vitamina A, mejorando además las características organolépticas del aceite.

Las pérdidas por desecación estuvieron por debajo del 10 % considerándose satisfactorios los resultados¹⁰, sin manifestaciones de deterioro en el tiempo estudiado, lo que es de gran importancia para una materia prima natural para uso farmacéutico.

Los valores de eficiencia de encapsulación se mantuvieron por encima del 80 %, denotando un comportamiento estable en el período evaluado, lo cual es una medida de la integridad de la estructura de las microcápsulas. Igualmente los valores de aceite superficial demuestran que la envoltura lograda por la combinación de los polímeros utilizados impide la exudación del aceite hacia el exterior denotando la integridad de la estructura de las microcápsulas.

Desde el punto de vista de la calidad química, como la disminución del contenido de vitamina A en el tiempo fue inferior al 5 %¹³, y se encuentra en el límite establecido, se considera que es estable en las condiciones de envase y almacenamiento estudiadas.

Con vistas a analizar la influencia de los agentes encapsulantes en la estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado, por el método de secado por aspersión, se analizaron estadísticamente los resultados del contenido de vitamina A, pérdidas por desecación, eficiencia de encapsulación y aceite libre. Como se observa, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las variantes de encapsulación, para cada uno de los tiempos evaluados (inicial, 6 y 12 meses) para los parámetros contenido de vitamina A y pérdidas por desecación, ya que los valores de t calculados fueron inferiores al valor de t tabulada, para un 95 % de confianza. De manera que se puede plantear, que independientemente del sistema de agentes encapsulantes que se emplee en el proceso de microencapsulación, se logra proteger a la vitamina A, objetivo por el cual se utilizó este procedimiento. El comportamiento para las pérdidas

por desecación fue similar con ambos sistemas encapsulantes.

Nótese, sin embargo, que para el sistema de encapsulación compuesto por acetato de quitosana/maltodextrina los valores de t experimentales fueron menores que los t tabulados al comparar los valores a los 6 y 12 meses, respectivamente, tanto para el contenido de vitamina como para las pérdidas por desecación. En el caso de la variante con goma arábica/maltodextrina las diferencias estadísticamente significativas se alcanzaron a los 12 meses para las pérdidas por desecación y a los 6 y 12 meses para el contenido de vitamina A. Sin embargo, como se había planteado anteriormente, la disminución del contenido de vitamina A en el tiempo fue inferior al 5 %¹³, y se encuentra en el límite establecido, y las pérdidas por desecación estuvieron por debajo del 10 %. Por lo tanto, es posible afirmar que con las dos variantes de encapsulación el aceite microencapsulado mantiene un comportamiento estable. Se demuestra que microencapsular el aceite con el acetato de quitosana es una alternativa al uso tradicional de la goma arábica.

En cuanto a la eficiencia de encapsulación y aceite superficial se evidenciaron diferencias significativas entre ambos sistemas encapsulantes, porque los valores de t calculados fueron superiores al valor de t-tabulada, para un 95 % de confianza, a tiempo inicial, 6 y 12 meses, respectivamente. Evidentemente cuanto menor es el contenido de aceite superficial más elevado será la eficiencia de encapsulación, lo que se corresponde con los resultados para la combinación de acetato de quitosana y maltodextrina. No obstante, para un mismo sistema de encapsulación (goma arábica/maltodextrina) los valores de t experimentales fueron menores que los de t tabulados al comparar los valores de los 6 y 12 meses, respectivamente, tanto para la eficiencia de encapsulación (mayor del 70 %)⁶ como para el aceite superficial. Cuando se empleó la combinación de acetato de quitosana/maltodextrina las diferencias estadísticamente significativas se alcanzaron a los 12 meses para la eficiencia de encapsulación solamente, aunque se mantuvo por encima del 80 %. Analizando el comportamiento del parámetro de eficiencia de encapsulación para las variantes ensayadas, se corrobora que el incremento de las pérdidas por desecación observadas no afectó la permeabilidad de las microcápsulas.

Los resultados demuestran que el aceite microencapsulado tiene un comportamiento estable en cuanto a los indicadores evaluados, evidenciándose la protección ofrecida por los componentes de la pared de las microcápsulas. Se demuestra que microencapsular el aceite con el acetato de quitosana es una alternativa al empleo que tradicionalmente ha tenido la goma arábica con esta finalidad.

CONCLUSIÓN

El método empleado en la cuantificación de la vitamina A en el aceite microencapsulado resultó específico, exacto y preciso, siendo aplicable para el control de calidad y estudio de estabilidad. Se demostró la estabilidad del aceite microencapsulado con acetato de quitosana y maltodextrina como agentes encapsulantes, durante 12 meses, envasado en bolsas dobles de polietileno de baja densidad selladas, protegido de la luz y almacenado a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) y 70 ± 5 % de humedad relativa. Los resultados demuestran que el aceite microencapsulado tiene un comportamiento estable en cuanto a los indicadores evaluados, evidenciándose la protección ofrecida por los componentes de la pared de las microcápsulas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yoshi H, Furuta T, Soottitantawat A. Microencapsulation of food flavors by spray drying. *Inno. Food Sci Emerg Technol* 2001; 2: 55-61.
2. Ré MI. Microencapsulação em busca do produtos inteligentes. *Ciência Hoje* 2000; 27(162): 25-9.
3. Das SK, Nakka SR, Rajabalaya R, Mukhopadhyay HK, Halder T, Palanisamy M, Khanam J, Nanda A. Microencapsulation techniques and its practice. *Int J Pharm Sci Tech* 2011; 6(2): 1-23.
4. López OD. Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Rev Cub Farm* 2010. versión Online ISSN 1561-2988.
5. Pedroza R, Macías S, Vernon E. Oil thermo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. *Rev Mex Ing Quím* 2002; 1: 37-44.
6. García CM, Fernández M, Castiñeira M, Buendía C, Martínez B, López O, Nogueira A. Estabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado vs pool de aceite. *Rev Colomb Cien Quím Farm* 2015; 44 (1): 34-46.
7. García CM, Fernández M, Castiñeira M, Martínez V, López OD, Nogueira A. Validación de un método cromatográfico aplicable al control de calidad y estudio de estabilidad del pool de aceite hígado de tiburón microencapsulado. *Ars Pharm* 2014; 55(2): 18-24.
8. Cervera MF, Heinämäki J, de la Paz N, López O, Maunu SL, Virtanen T, Hatanpää T, Antikainen O, Nogueira A, Fundora J, Yliruusi J. Effects of spray drying on physicochemical properties of chitosan acid salts. *AAPS PharmSciTech* 2011; 12(2): 637-49.
9. Anexo I. Buenas Prácticas de Laboratorio: Validación de Métodos Analíticos. MINSAP. Cuba. 2013: 3-25.
10. United State Pharmacopeia (USP 35). United States Pharmacopoeia (USP 35/2012 NF 30). US Pharmacopoeia Convention, Inc. Washington DC. P. 2012: 967-971.
11. López OD, Márquez T, Mayo O, Toledo C, Pérez E. Características del aceite de semillas de cucurbita pepo L. microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábiga. *Lat Am J Pharm* 2009; 28(4): 628-32.
12. Bringas M, Expósito I, López OD, Pino J. Influence of spray - dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Dry Technol* 2011; 29: 520-26.
13. Regulación No. 23 CECMED. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. MINSAP. Cuba. 2000: 5-22.