

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA

Estudios con Reconocimiento de Validez Oficial por Decreto Presidencial del 3 de abril de 1981



"MICROENCAPSULACIÓN DE COENZIMA Q_{10} EN POLIETILENGLICOL Y ÁCIDO POLI(L-LÁCTICO) MEDIANTE LA TÉCNICA DE EXPANSIÓN RÁPIDA DE SOLUCIONES SUPERCRÍTICAS"

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

Presenta

MARÍA DEL SOCORRO VERGARA MENDOZA

Director

DR. CIRO HUMBERTO ORTIZ ESTRADA

Lectores

DR. JESÚS ALBERTO QUEZADA GALLO

DR. CESAR PÉREZ ALONSO

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la microencapsulación de coenzima Q_{10} (coQ_{10}) en polietilenglicol (PEG) y ácido poliláctico (PLA) con el uso de tecnología supercrítica mediante la técnica de expansión rápida de soluciones supercríticas (RESS, por sus siglas en inglés), la cual ha sido empleada en la industria farmacéutica con la finalidad de proteger los medicamentos de degradación, así como para obtener una liberación controlada del mismo.

Previo a aplicar la técnica RESS es necesario conocer el equilibrio del sistema en juego, por lo tanto, como primera etapa de este proyecto se determinó experimentalmente el comportamiento de fases de los sistemas encapsulante/ coQ_{10} con un fluido supercrítico y un cosolvente. Con base a los resultados obtenidos del equilibrio de fases se definieron las condiciones de operación para la elaboración de las microcápsulas, analizando la relación encapsulante/ coQ_{10} y cosolvente (etanol y acetona) en las propiedades de éstas.

Se llevó a cabo la caracterización de las microcápsulas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) para el estudio de morfología, encontrando morfologías muy similares a la coenzima cuando se usan concentraciones iguales de material encapsulante y coenzima, así mismo se encontró un incremento en el diámetro de partícula a medida que la concentración de ambos materiales es mayor. Para una misma relación PEG/ coQ_{10} el diámetro de partícula es menor con el uso de etanol, respecto al uso de acetona.

A través de espectrofotometría infrarroja (IR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) se corroboró que no existen interacciones químicas entre la coQ_{10} y el encapsulante después de aplicar la técnica RESS, lo cual es importante ya que dichas interacciones podrían alterar las propiedades de la coQ_{10} . Ambos estudios muestran un indicio de que la relación encapsulante/ coQ_{10} tiene un efecto ligeramente mayor al efecto cosolvente en las

propiedades de las microcápsulas.

Los resultados de las cinéticas de solubilidad en etanol mostraron una mayor liberación de la coenzima cuando la concentración del material encapsulante fue mayor, respecto a la concentración de la coenzima. Para una misma relación PEG/*coQ*₁₀ se presentó mayor solubilidad con el uso de etanol como cosolvente, respecto al uso de acetona, lo cual se le atribuye al diámetro de partícula menor. Comparando el uso de PLA con el uso de PEG, se muestra mayor solubilidad de la *coQ*₁₀ con el uso de PLA, en este caso, nuevamente coincide con un diámetro menor de las microcápsulas PLA/*coQ*₁₀, respecto a las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	I
1. Introducción	1
1.1. Objetivos	4
1.2. Hipótesis	4
1.3. Estructura general de la obra	4
2. Aspectos generales	5
2.1. Microencapsulación	5
2.2. Fluidos supercríticos	7
2.2.1. Antecedentes	7
2.2.2. Principios termodinámicos	8
2.3. Formación de partículas con fluidos supercríticos	10
2.3.1. Fluido supercrítico como solvente (RESS)	11
2.3.2. Aplicaciones de RESS en la industria farmacéutica	12
2.3.3. Fluido supercrítico como antisolvente	15
2.3.4. Aplicaciones de técnicas usando el fluido supercrítico como antisolvente en la industria farmacéutica	19
2.4. Coenzima Q_{10}	20
2.5. Materiales de recubrimiento	22
2.5.1. Polietilenglicol (PEG)	23
2.5.2. Ácido Poliláctico (PLA)	24
2.6. Caracterización de las microcápsulas	24
2.7. Referencias	26
3. Metodología y desarrollo experimental	30
3.1. Variables del proceso	32

3.2. Materiales y equipo	37
3.3. Determinación del equilibrio	40
3.4. Elaboración de los micronizados y microcápsulas	41
3.5. Caracterización de las microcápsulas	43
3.5.1. Morfología de partícula	43
3.5.2. Tamaño de partícula	43
3.5.3. Interacciones encapsulante- <i>coQ</i> ₁₀	43
3.5.4. Cinéticas de solubilidad	44
3.6. Referencias	45
4. Análisis y discusión de resultados	46
4.1. Equilibrio de fases	46
4.1.1. Sistemas ternarios	46
4.1.2. Sistemas cuaternarios	55
4.2. Micronización	57
4.2.1. Efecto de las variables del proceso en la morfología y tamaño de partícula	59
4.3. Microencapsulación	64
4.3.1. Efecto de las variables del proceso en la morfología y tamaño de partícula	65
4.4. Espectrofotometría Infrarroja	71
4.5. Calorimetría diferencial de barrido	80
4.6. Cinéticas de solubilidad	83
4.7. Referencias	87
5. Conclusiones	90

ÍNDICE DE FIGURAS

2.1. Morfología de diferentes tipos de microcápsulas	5
2.2. Diagrama de fases	9
2.3. Diagrama de fases P-T y P-T	9
2.4. Diagrama esquemático del proceso RESS	12
2.5. Principio básico de técnicas usando el FSC como antisolvente	16
2.6. Diagrama esquemático del proceso GAS	17
2.7. Diagrama esquemático del proceso SAS	18
2.8. Diagrama esquemático del proceso SEDS	19
2.9. Estructura química de la coQ_{10}	21
2.10. Estructura química del PEG	23
2.11. Estructura química del PLA	25
3.1. Diagrama del equipo de alta presión	39
3.2. Equipo experimental de alta presión	39
3.3. Curva de calibración	45
4.1. Solubilidad de la coQ_{10} con 23.6 % mol de cosolventes a 35°C.	48
4.2. Solubilidad de la coQ_{10} con 15.2 % mol de cosolventes a 35°C.	49
4.3. Solubilidad de la coQ_{10} con 15.2 % mol de acetona a 35, 45 y 55°C.	49
4.4. Solubilidad del PEG con 29 % mol de etanol y 33.5 % mol de acetona a 35°C	52
4.5. Solubilidad del PEG con 19.2 % mol de etanol y 24.5 % mol de acetona a 35°C	52
4.6. Solubilidad del PEG con 29 % mol de etanol a 35, 45 y 55 °C	53
4.7. Solubilidad del PLA con 25.8 % mol de diclorometano a 35, 45 y 55 °C	54
4.8. Micrografías de la micronización de A) coQ_{10} , B) PEG y C) PLA	58
4.9. Micropartículas de coQ_{10} A) Micronizada con etanol, A) Micronizada con acetona	60
4.10. Micropartículas de PEG A) Micronizado con etanol, B) Micronizado con acetona	60
4.11. Efecto de la concentración de PEG en el tamaño de partícula	62

4.12. Efecto de la concentración de cosolvente en el tamaño de partícula	62
4.13. Micropartículas de PEG A) 1 %w PEG, B) 5 %w PEG, ambos CO_2 /etanol 50/50, C) 1 %w PEG, D) 5 %w PEG, ambos CO_2 /etanol 80/20	63
4.14. Micropartículas de PLA con DCM como cosolvente.	63
4.15. Microcápsulas PEG/ coQ_{10} , con acetona como cosolvente. Relación PEG/ coQ_{10} A y B) 1/1, C) 0.5/0.5, D) 2/1, E y F) 1/0.5	66
4.16. Microcápsulas PEG/ coQ_{10} , con etanol como cosolvente. Relación PEG/ coQ_{10} A y B) 1/1, C) 0.5/0.5, D) 2/1, E y F) 1/.5	66
4.17. Distribución de tamaño de microcápsulas PEG/ coQ_{10} , con acetona como cosolvente	68
4.18. Distribución de tamaño de microcápsulas PEG/ coQ_{10} , con etanol como cosolvente	68
4.19. Microcápsulas comparativas A) PLA/ coQ_{10} , B)PLA/fitosterol ¹⁶	69
4.20. Microcápsulas de PLA/ coQ_{10} . Relación PLA/ coQ_{10} 2/1	69
4.21. Distribución de tamaño de microcápsulas PLA/ coQ_{10}	69
4.22. Efecto del cosolvente en el tamaño de partícula	70
4.23. Espectros IR: coQ_{10} micronizada y comercial	72
4.24. Espectros IR: PEG micronizado y comercial	72
4.25. Espectros IR: PLA micronizado y comercial	73
4.26. Espectros IR: coQ_{10} micronizada, PEG/ coQ_{10} 2/1 y PEG micronizado, con ace- tona como cosolvente	75
4.27. Espectros IR: coQ_{10} micronizada, PEG/ coQ_{10} 1/1 y PEG micronizado, con etanol como cosolvente	76
4.28. Espectros IR de microencápsulas PEG/ coQ_{10} , con etanol como cosolvente	77
4.29. Espectros IR de microcápsulas PEG/ coQ_{10} 2/1, con ambos cosolventes	77
4.30. Espectros IR: coQ_{10} micronizada, PLA/ coQ_{10} 1/1 y PLA micronizado	78
4.31. Espectros IR de microcápsulas PLA/ coQ_{10}	79
4.32. Estructura química del PEG, coQ_{10} y PLA con las uniones presentes en las inte- racciones PEG- coQ_{10} y PLA- coQ_{10}	79
4.33. Termogramas de microcápsulas PEG/ coQ_{10} y materiales comerciales	81
4.34. Termogramas de microcápsulas PEG/ coQ_{10} con ambos cosolventes	81
4.35. Termogramas de microcápsulas PLA/ coQ_{10} y materiales comerciales	82
4.36. Efecto de la relación PEG/ coQ_{10} en la liberación de la coQ_{10}	84
4.37. Efecto del cosolvente en la liberación de la coQ_{10}	85

4.38. Efecto de la relación PLA/ coQ_{10} en la liberación de la coQ_{10}	85
4.39. Efecto del material encapsulante en la liberación de la coQ_{10}	86

ÍNDICE DE CUADROS

3.1. Pruebas de solubilidad de coQ_{10} en CO_2SC -cosolvente	34
3.2. Pruebas de solubilidad de PEG en CO_2SC -cosolvente	35
3.3. Pruebas de solubilidad de PLA en CO_2SC -cosolvente	36
3.4. Pruebas de solubilidad de los sistemas encapsulante/ coQ_{10} en CO_2SC /cosolvente a $35^\circ C$	37
3.5. Experimentos realizados de micronización de coQ_{10} , PEG y PLA a $35^\circ C$	41
3.6. Experimentos realizados de microencapsulación a $35^\circ C$	42
4.1. Punto de nube del sistema $coQ_{10}-CO_2$ -cosolvente a $35^\circ C$	48
4.2. Punto de nube del sistema PEG- CO_2 -cosolvente a $35^\circ C$	51
4.3. Equilibrio de fases de los sistemas encapsulante- $coQ_{10}-CO_2$ -cosolvente a $35^\circ C$	56
4.4. Resultados obtenidos de la micronización de coQ_{10} , PEG y PLA a $35^\circ C$	58
4.5. Resultados obtenidos de la microencapsulación a $35^\circ C$	64
4.6. Grupos y uniones de la coQ_{10} con sus respectivas longitudes de onda	73
4.7. Grupos y uniones del PEG y del PLA con sus respectivas longitudes de onda	74

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación ha sido definida como la tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos en pequeñas cápsulas que liberan su contenido en forma controlada bajo condiciones específicas. El ingrediente que se encapsula es conocido como material, núcleo o componente activo mientras que el material que rodea a éste se conoce como material de pared o agente encapsulante.¹

La tecnología de microencapsulación ha sido usada por más de 70 años con varios campos de aplicación, siendo uno de los más importantes la industria farmacéutica, la cual emplea la técnica con la finalidad de proteger al componente activo de degradación, prevenir los efectos secundarios de los agentes terapéuticos y para la liberación controlada de medicamentos, éste último ha sido un tema de gran interés científico en las últimas dos décadas, para lo cual es deseable la producción de partículas globulares de aproximadamente 10 μm de diámetro.^{2,3} Mientras que los procesos convencionales de cobertura por lechos fluidizados y secado por aspersión están limitados a la producción de partículas mayores de 100 μm de diámetro debido a la coalescencia y adhesión de partículas; los métodos de coacervación y polimerización *in situ* pueden ser usados para micropartículas menores de 100 μm , sin embargo tienen la desventaja del uso de solventes orgánicos tóxicos, la alteración de la estructura del agente terapéutico y la dificultad de controlar el tamaño de la cápsula.²⁻⁵

Recientemente la industria farmacéutica ha realizado un gran esfuerzo con sus obligaciones sociales respecto a la reducción de cantidades de solventes orgánicos tóxicos arrojados al medio ambiente y en la producción de microcápsulas libres de residuos tóxicos lo cual ha sido posible

mediante fluidos supercríticos, específicamente el dióxido de carbono es el fluido supercrítico ampliamente usado debido a su temperatura crítica relativamente baja y su presión crítica moderada, además no es tóxico, no inflamable y tiene un costo bajo. Se han desarrollado varios métodos para la producción de partículas basados en fluidos supercríticos, los dos principales son expansión rápida de soluciones supercríticas (RESS, por sus siglas en inglés), donde el fluido se emplea como solvente y antisolvente supercrítico (SAS, por sus siglas en inglés).²⁻⁶

Estos dos métodos han tenido un gran progreso en los últimos años gracias a las investigaciones de una amplia variedad de materiales orgánicos e inorgánicos que han sido procesados en forma de partículas, sin embargo, aun no se tienen claros algunos aspectos importantes del proceso, como son la influencia de los parámetros de operación en las características de las partículas producidas (morfología y tamaño), el fenómeno de nucleación y la aglomeración de partículas, entre otros,⁷ debido a esto es importante continuar con la investigación con materiales que requieran ser microencapsulados para tener una liberación controlada y para protegerse de degradación, es por ello que en este trabajo se llevó a cabo la microencapsulación de coenzima Q_{10} (coQ_{10}) en polietilenglicol (PEG) y ácido poli(L-láctico) (PLA).

La coQ_{10} es una sustancia de color anaranjado que está presente en todas y cada una de las células del cuerpo humano cumpliendo un papel esencial en la producción de adenosín trifosfato (ATP) que es la energía pura que la célula utiliza para llevar a cabo múltiples reacciones químicas necesarias para la vida. La producción de ATP tiene lugar mediante una cadena de reacciones químicas en las que electrones y protones son transportados de unas moléculas a otras. La coQ_{10} que es soluble en grasas, puede penetrar a través de las membranas celulares, jugando un papel único e insustituible en ese transporte de electrones y protones, actuando como mensajero entre varias de las enzimas catalizadoras de la cadena de reacciones químicas que ocurren en la mitocondria.

En la actualidad los niveles de coQ_{10} tanto en la sangre como en los diferentes tejidos están perfectamente establecidos, y se ha observado que la aparición de diversas enfermedades viene siempre acompañada por una deficiencia en tales niveles. Esta disminución puede ser causada por una ingesta insuficiente de coQ_{10} en la dieta, por problemas o dificultades en su biosíntesis o por un excesivo consumo celular.^{8,9}

El cuerpo humano sintetiza la coQ_{10} partiendo de los aminoácidos tirosina y fenilalanina a través de una compleja cadena de reacciones que consta de 17 pasos y para lo cual se requiere la presencia de al menos 7 vitaminas (vitamina B2(riboflavina), B3 (niacinamida), B6, ácido fólico, B12, vitamina C y ácido pantoténico) y también varios oligoelementos. Sin embargo, al igual que otras sustancias vitales, los niveles corporales van disminuyendo a medida que envejecemos, siendo especialmente bajos en personas con problemas cardiacos. Si bien la coQ_{10} esta presente en una amplia gama de alimentos, se estima que por término medio, la cantidad de coQ_{10} ingerida diaria es de 5 miligramos, lo cual es totalmente insuficiente para atender las necesidades del organismo, por lo tanto tambien se requiere ingerir cantidades adecuadas de sus precursores, es decir, alimentos ricos en éstos.⁹

Tras varios estudios e investigaciones se descubrieron muchas de las cualidades de la coQ_{10} , se ha usado en varios tratamientos médicos, como en la prevención y cura del cáncer, enfermedades de las encias, para combatir obesidad y diabetes, así como en enfermedades neurodegenerativas, entre otras.

Sin embargo su baja solubilidad en agua limita su biodisponibilidad requiriendo de altas concentraciones para una absorción mínima por el organismo. Por esta razón en este trabajo se propuso aumentar la biodisponibilidad encapsulandola en PEG y L-PLA mediante la técnica RESS (usando un cosolvente para aumentar la solubilidad del sistema supercrítico), así mismo protegerla de degradación por factores ambientales como luz y oxígeno.

Para llevar a cabo el presente trabajo, primeramente se realizaron pruebas de solubilidad de los sistemas cuaternarios coQ_{10} -PEG- CO_2SC -etanol, coQ_{10} -PEG- CO_2SC -acetona y coQ_{10} -PLA- CO_2SC -DCM con base a los resultados obtenidos se definieron las condiciones de elaboración de las microcápsulas, las cuales fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), espectrofotometría infrarrojo (IR), calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) y cinéticas de solubilidad.

1.1. *Objetivos*

General:

Analizar la relación encapsulante/ coQ_{10} y cosolvente en las propiedades de las microcápsulas elaboradas mediante la técnica RESS

Específicos:

1. Determinar experimentalmente el equilibrio de los sistemas coQ_{10} -PEG- CO_2SC -etanol, coQ_{10} -PEG- CO_2SC -acetona y coQ_{10} -PLA- CO_2SC -DCM.
2. Elaborar microcápsulas de PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} mediante la técnica RESS.
3. Caracterizar las microcápsulas obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectrofotometría infrarroja (IR), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y cinéticas de solubilidad.

1.2. *Hipótesis*

La relación encapsulante/ coQ_{10} y cosolvente son dos variables que influyen en las características y propiedades de las microcápsulas.

1.3. *Estructura general de la obra*

En el primer capítulo se presenta la introducción así como los objetivos general y específicos del proyecto. En el segundo capítulo se describe la microencapsulación aplicando varias técnicas con fluidos supercríticos, de las cuales se detalla más la técnica RESS, por ser la empleada en este proyecto, se presentan las generalidades de la coQ_{10} , del PEG y del PLA, y por último sobre la caracterización de las microcápsulas. En el capítulo tres se especifica la metodología y desarrollo experimental para la elaboración y caracterización de las microcápsulas. En el cuarto capítulo se muestra el análisis y discusión de resultados. Finalmente en el quinto las conclusiones.

CAPÍTULO 2

ASPECTOS GENERALES

2.1. Microencapsulación

La microencapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas conocidas como material, núcleo o componente activo son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de evitar que sufran reacciones de oxidación debido a la luz u oxígeno, así mismo para tener una liberación controlada del componente activo bajo condiciones específicas.^{1,10}

Las microcápsulas formadas pueden tener una variedad de estructuras, algunas tienen una membrana simple con una geometría esférica o irregular, estructuras de multiparedes con la misma o diferente concentración en cada pared y estructuras con varios núcleos ya sea aglomerados o separados en una cápsula de material pared continuo. La figura 2.1 muestra las diferentes estructuras de las cápsulas, las cuales se obtienen dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del núcleo, composición de la pared y la técnica usada para microencapsular.¹¹

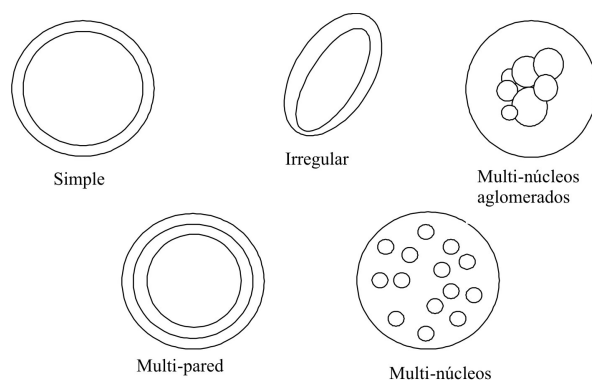


Figura 2.1: Morfología de diferentes tipos de microcápsulas

Inicialmente, las microcápsulas fueron producidas principalmente en un intervalo de 5 μm a 2 mm, sin embargo alrededor de 1980 fueron desarrollados una segunda generación de productos de dimensiones mucho más pequeñas, los cuales incluían nanopartículas algunas de 10 a 100 nm de diámetro y de 1 a 10 μm . En la actualidad no existe un intervalo de tamaño universal para clasificar a las microcápsulas, sin embargo, generalmente se clasifican en nanocápsulas aquellas menores a 1 μm y en macrocápsulas mayores a 1000 μm .¹²

La microencapsulación se lleva a cabo por varias técnicas, las cuales pueden ser clasificadas en: a) procesos químicos: inclusión de complejos, polimerización interfacial e incompatibilidad polimérica; b) procesos fisicoquímicos: coacervación y atrapamiento en liposomas y c) procesos físicos: secado por aspersion, aspersion por enfriamiento, extrusión y cobertura por lecho fluidizado.¹⁰

Una de las primeras industrias que empleó la técnica de microencapsulación fue la industria del papel. Concretamente se desarrollaron microcápsulas cuyo principio activo permitía obtener un papel autocopiante sin necesidad de emplear carbón. Actualmente las microcápsulas tienen un gran campo de aplicación, principalmente en la industria de los alimentos y farmacéutica.¹⁰

En la industria de los alimentos son usadas para proteger al material encapsulado de degradación por reacciones con el medio ambiente (calor, luz, aire), para el control de sabor, color y textura, así como la adición de ingredientes benéficos para la salud principalmente los probióticos.¹³

En cuanto a la industria farmacéutica, las micropartículas se han empleado principalmente para tener una liberación controlada del medicamento, de esta forma obtener una liberación rápida para medicamentos con baja solubilidad en agua y una liberación lenta para medicamentos muy solubles en agua. Para la liberación controlada de medicamentos en el cuerpo se requieren de partículas aproximadamente de 10 μm de diámetro. Los métodos de cobertura por lecho fluidizado y secado por aspersion son convenientes solo para partículas mayores a 100 μm de diámetro debido a la coalescencia y adhesión de partículas. Para micropartículas menores de 100 μm , puede usarse métodos como coacervación y polimerización interfacial, sin embargo, estos métodos tienen grandes desventajas, como el uso de solventes orgánicos tóxicos y dificultad

para controlar el tamaño de partícula.⁵

Una alternativa para eliminar estas desventajas es con el uso de fluidos supercríticos, los cuales tienen una baja viscosidad y difusividad, similar a la de un gas, así como la ausencia de tensión superficial, lo que les confiere excelentes propiedades de transferencia de masa. Tal como se ha descrito, el dióxido de carbono es el fluido supercrítico ampliamente usado por sus características mencionadas. Los métodos principales para la micronización y microencapsulación de ingredientes han sido RESS y SAS, métodos que se describirán más adelante con mayor detalle.

2.2. Fluidos supercríticos

2.2.1. Antecedentes

El primer registro del uso de fluidos en estado supercrítico (FSC) data del año 1822, cuando el Baron Cagniard de la Tour observó la presencia de la fase supercrítica al incrementar la temperatura de una sustancia pura en un recipiente sellado de tal modo que ambas fases, gas y líquido, formaban una sola fase visible. Aproximadamente medio siglo después, T. Andrews llevó a cabo el primer estudio riguroso sobre dióxido de carbono en condiciones supercríticas, introdujo el término punto crítico y describió la naturaleza del estado supercrítico.

En 1879, en una reunión de la Royal Society, llevada a cabo en Londres, dos investigadores, J. B. Hannay y J. Hogart, reportaron que los fluidos en estado supercrítico tienen una capacidad disolvente que depende de la presión, a mayor presión, mayor poder disolvente. Los investigadores describieron su trabajo y recapitularon sus investigaciones de la siguiente forma: "Tenemos el fenómeno de un sólido disolviéndose en un gas, cuando los sólidos se precipitan al reducir la presión, esto se observa como nieve en el gas". Cabe mencionar que se refirieron a los fluidos en estado supercrítico como gases. Al presentar los resultados de su investigación se crearon serias controversias, una de ellas, externada por miembros de la Royal Society, se basaba en el siguiente argumento: "Los gases no pueden disolver compuestos sólidos. Los investigadores seguramente cometieron un error y lo que descubrieron fue en realidad la solubilidad en líquidos súper calentados". En respuesta, el par de investigadores sustentaron sus descubrimientos previos mediante experimentos cuidadosamente planeados y ejecutados demostrando que, por

ejemplo, el cloruro de cobalto (II), el cloruro férrico y el cloruro de potasio son solubles en etano en estado supercrítico.

El poder disolvente descubierto por Hannay y Hogarth no fue explotado sino hasta varios años después con la investigación de distintas técnicas de extracción usando fluidos supercríticos, destacando como punto de partida la extracción de productos naturales llevada a cabo en el Max Planck Institute por Kurt Zosel a principios de la década de 1960. Después de varios años de investigación se llevó a cabo el primer proceso a escala industrial, el cual fue de la extracción de cafeína del café entre 1975 y 1985.¹⁴

El interés en los fluidos supercríticos ha incrementado significativamente en las últimas décadas debido a las ventajas que ofrece en el mejoramiento de los procesos. Las propiedades de estos fluidos se pueden ajustar cambiando la densidad entre la de líquidos y gases, se han explorado como: a) solventes alternativos para procesos clásicos de separación como extracción, absorción, cromatografía y cristalización, b) como medio de reacción en una polimerización y c) en la producción de partículas y fibras. Algunos procesos de extracción como la descafeinización y algunos procesos de polimerización han llegado a ser comerciales. Lo más probable es que la próxima gran aplicación comercial sea la formación de partículas.¹⁵

2.2.2. Principios termodinámicos

Un fluido supercrítico (FSC) es cualquier sustancia que se encuentre en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico. Poseen propiedades tanto de líquido como de gas. Los FSC se caracterizan por el amplio intervalo de densidades que pueden adoptar. Por encima de las condiciones críticas, pequeños cambios en la presión y la temperatura producen grandes cambios en la densidad.

En un diagrama de fases clásico, (figura 2.2) las curvas de fusión, sublimación y vaporización muestran las zonas de coexistencia de dos fases. Tan solo hay un punto de coexistencia de tres fases, el llamado punto triple (PT). El cambio de fase se asocia a un cambio brusco de entalpía y densidad. Pero por encima del punto crítico (P_C) este cambio no se produce, por tanto, podríamos definir este punto como aquel por encima del cual no se produce licuefacción al

presurizar, ni gasificación al calentar; y por ende un fluido supercrítico es aquel que se encuentra por encima de dicho punto.^{16,17}

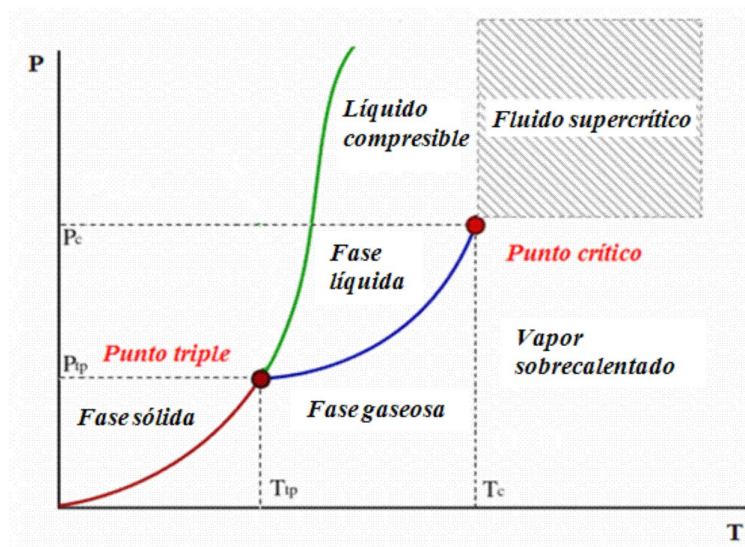


Figura 2.2: Diagrama de fases

En la figura 2.3 se observan diagramas de fase P-T y P-V para un componente en las cuales se define la región supercrítica y las isothermas e isobaras críticas. En la región supercrítica la compresibilidad isotérmica resulta infinita además de que es fácil manipular la densidad modificando la presión o la temperatura. La temperatura crítica y la presión crítica son características de cada fluido.

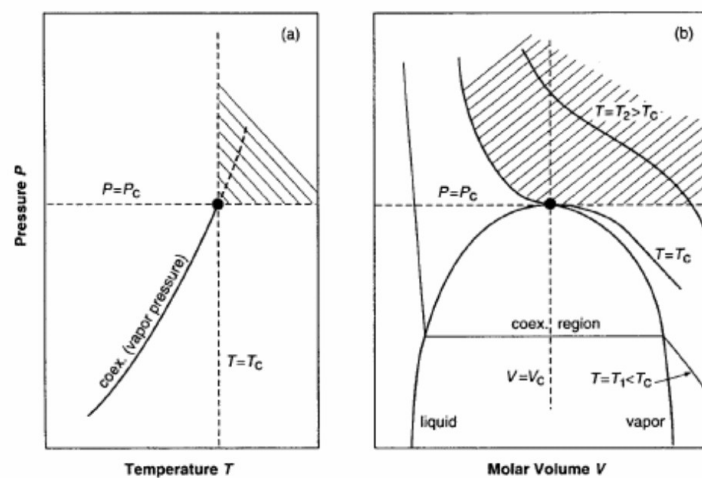


Figura 2.3: Diagrama de fases P-T y P-T

Dentro de las propiedades más importantes de los fluidos supercríticos se encuentran:

- ◇ No existe interfase gas-líquido.
- ◇ La compresibilidad isotérmica se hace infinitamente positiva
- ◇ El coeficiente de expansión térmica es infinito y positivo
- ◇ La entalpía de vaporización es cero
- ◇ Si la densidad se mantiene constante e igual a la densidad crítica la capacidad calorífica a volumen constante tiende al infinito
- ◇ La densidad por encima del punto crítico depende básicamente de la presión y la temperatura, pero en cualquier caso está más cercana a la de los líquidos que a la de los gases. La densidad aumenta al incrementar la presión a temperatura constante y al disminuir la temperatura a presión constante.
- ◇ La viscosidad es mucho más baja que la de los líquidos, lo que le confiere propiedades hidrodinámicas muy favorables
- ◇ La baja tensión superficial permite una alta penetrabilidad a través de sólidos porosos y lechos empacados.
- ◇ Mayores coeficientes de difusión (difusividad) que en líquidos por lo que la transferencia de materia es más favorable.

2.3. Formación de partículas con fluidos supercríticos

Una de las principales aplicaciones de los fluidos supercríticos es la producción de partículas, una gran cantidad de materiales orgánicos e inorgánicos han sido procesados en forma de partículas para ser usados en varios productos incluyendo farmacéutica, cosméticos, alimentos y fertilizantes.

Existen varios métodos para la formación de partículas, los cuales pueden ser divididos dependiendo el papel que desempeña el FSC:

- 1) Solvente
 - a) Rapid expansion of supercritical solutions (RESS)

- 2) Anti-solvente
 - a) Gas antisolvent process (GAS)
 - b) Supercritical antisolvent process (SAS)
 - c) Aerosol Solvent Extraction System (ASES)
 - d) Solution enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS)

2.3.1. Fluido supercrítico como solvente (RESS)

El proceso RESS consiste principalmente en dos etapas, la primera es la solvatación de un soluto en un FSC seguido de una despresurización rápida a través de una boquilla,¹⁸ con la despresurización, la solubilidad disminuye en varios órdenes de magnitud, como consecuencia se produce una supersaturación y esto a su vez conlleva a una nucleación de las partículas, que se debe a la perturbación mecánica que se propaga a la velocidad del sonido que crea condiciones muy uniformes y por lo tanto una cerrada distribución de tamaño de partículas. Una vez llevada a cabo la nucleación, las partículas crecen mediante dos mecanismos: coagulación, que es el crecimiento ocasionado por la colisión de partículas durante la expansión y condensación que es la disposición de moléculas en la superficie de las partículas.^{7,18} Tanto la nucleación como el crecimiento son dos fenómenos importantes que gobiernan el tamaño y morfología de partícula en el proceso RESS.

Las técnicas de formación de partícula basados en fluidos supercríticos para la producción de microesferas de polímero compuestos emplean la metodología básica de coprecipitación o recubrimiento de partículas. La coprecipitación del polímero y del ingrediente activo pueden lograrse en RESS cuando ambos componentes son solubles en un fluidos supercrítico. La figura 2.4 muestra el proceso, el cual toma lugar cuando el material de pared y el ingrediente activo

se disuelven en un solvente comprimido (cámara de extracción) que se encuentra en el estado líquido o cerca del punto crítico. La solución resultante se calienta hasta la temperatura de operación deseada y se expande desde una alta presión a través de una boquilla de diámetro micrométrico a la presión ambiente (cámara de precipitación), las micropartículas son producidas por una precipitación simultánea del material activo y del material de pared, este último forma una película alrededor del material activo debido a la desolvatación causada por la caída de presión. Si la nucleación y el crecimiento de las partículas de polímero se llevan a cabo antes que el ingrediente activo es poco probable que se formen partículas de polímero que contengan ingrediente activo. En los procesos de recubrimiento de partículas, el material de pared es precipitado como una película delgada donde se encuentran partículas del material activo, también es posible producir primero partículas del material de pared las cuales son luego impregnadas con el material activo. En ambos casos la morfología del material obtenido dependen tanto de la estructura del material como de los parámetros del proceso, como son temperatura, presión, diámetro de boquilla, entre otros.^{11,19}

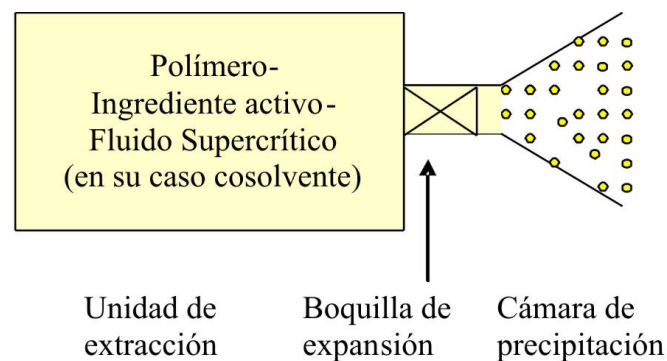


Figura 2.4: Diagrama esquemático del proceso RESS

2.3.2. Aplicaciones de RESS en la industria farmacéutica

Las primeras investigaciones de esta técnica fueron con una sola sustancia, con la finalidad de obtener partículas muy finas (de 0.5 a 20 μm) con una distribución de diámetro pequeña. El éxito de la producción de estas microesferas fue la motivación para la generación de partículas

de polímeros que contienen un ingrediente activo, el cual puede ser usado para aplicaciones de liberación controlada.¹⁵

Los compuestos farmacéuticos han sido los ingredientes activos más estudiados en los experimentos de coprecipitación. Entre los primeros trabajos se encuentran el de Tom et al.,1993 (citado por Kim, J.H. et al,²⁰), el cual consistió en la microencapsulación de pireno ($C_{16}H_{10}$) con ácido poly(L-láctico)(L-PLA), obteniendo como resultado una distribución uniforme del pireno en PLA, indicando buen mezclado. En el caso de Tom y Debenedetti, 1994 (citado por Kim, J.H. et al,²⁰); que trabajaron con lovastatin (un fármaco) y ácido poly(D,L-láctico) las micrografías mostraron una precipitación independiente. En estos dos estudios, los componentes fueron disueltos por separado y las soluciones supercríticas fueron mezcladas hasta la unidad de precipitación.

Kim, J.H. et al,²⁰ trabajaron con naproxeno y L-PLA e hicieron una modificación a los dos trabajos anteriores, mezclando el material activo y material de pared desde la unidad de extracción usando solamente un tubo capilar; en este trabajo se analizaron variables que afectan la morfología de las micropartículas, específicamente se estudiaron la temperatura de pre-expansión, la presión de expansión y la relación longitud-diámetro de la boquilla. En la mayoría de las condiciones usadas se presentó aglomeración de partículas y un gran intervalo de distribución de tamaño, sin embargo analizando la composición, los resultados muestran que las micropartículas obtenidas están formadas por el naproxeno rodeado del L-PLA. Por lo tanto, con una buena combinación de presión-temperatura que son las variables fuertemente ligadas a la morfología es posible obtener microcápsulas mediante la técnica RESS.

Otra variable de gran importancia generalmente investigada en los trabajos de microencapsulación es el estudio de las cinéticas de liberación del ingrediente activo, en el caso de Chiou, et al,²¹ que llevaron a cabo la micronización y microencapsulación de la felodipina(FLD) en polietilenglicol (PEG) obtuvieron una velocidad de disolución más rápida para las micropartículas FLD-PEG respecto a la FLD tanto comercial como micronizada, cumpliendo así con uno de los objetivos de la técnica de microencapsulación que consiste en incrementar la solubilidad del ingrediente activo.

Una gran limitante del proceso RESS es la baja solubilidad de muchas sustancias en CO_2 causada por su baja constante dieléctrica. Esta limitante es por supuesto más grave para las aplicaciones de coprecipitación donde tanto el material de pared como la sustancia activa deben ser solubles en CO_2 . Es posible superar la limitante de la solubilidad en CO_2 empleando solventes orgánicos supercríticos como trifluorometano o clorodifluorometano. Otra modificación al procesos RESS para eliminar esta limitante es la realizada por Mishima, et al,²² mediante el uso de un no-solvente (RESS-N). El proceso de RESS-N es exactamente igual que el de RESS con la única diferencia que en el primero interviene un cosolvente. Dentro de las características principales de esta técnica se encuentra un incremento significativo en la solubilidad con alcoholes de bajo peso molecular como cosolventes y una disminución en la aglomeración de las partículas después de la expansión, esto debido a que el cosolvente puro es un no solvente para el polímero. Mishima et al²² emplearon esta técnica para encapsular lisozima y lipasa usando cinco polímeros (polietilenglicol(PEG), polimetilmetacrilato (PMMA), ácido poli(L-láctico) (L-PLA), poli(DL-láctido-co-glicólido) (PGLA) y PEG-polipropilenglycol (PPG)) como material encapsulante. Matsuyama et al,⁵ utilizaron esta técnica para encapsular cinco medicinas de bajo peso molecular, usando los mismos polímeros a excepción del PGLA, el cual fue sustituido por etil celulosa. En ambos casos primeramente se estudió la solubilidad tanto de los materiales activos como de los materiales de pared, como era de esperarse, esta incremento con la adición de etanol como cosolvente. Al igual que en los trabajos antes mencionados, se estudiaron el efecto de las variables de presión y temperatura, sin embargo, a diferencia de estos, en el proceso RESS-N, la distribución de tamaño de las partículas depende ligeramente de estas dos variables de operación y fuertemente de la composición de alimentación del polímero. Las micropartículas obtenidas fueron de forma globular, no presentaron aglomeraciones y se obtuvo una distribución de tamaño monodispersa.

Además de la limitación de solubilidad, otro gran problema de la técnica RESS cuando se emplea en la microencapsulación es debido a la precipitación extremadamente rápida, lo que dificulta el control de la morfología y la distribución de los compuestos, una alternativa para eliminar este problema fue propuesta por Matsuyama y Mishima,²³ los cuales llevaron a cabo la microencapsulación de partículas de talco con un fluoropolímero mediante la técnica de coacervación con fluidos supercríticos; la coacervación es inducida mediante la despresurización lenta del sistema desde la presión de expansión hasta la presión atmosférica durante aproximada-

mente 30 minutos. Con la finalidad de comparar los resultados obtenidos con esta técnica, las microcápsulas también fueron elaboradas mediante la técnica RESS, por ser uno de los métodos más relevantes en la formación de microcápsulas usando fluidos supercríticos. Con ambas técnicas se emplearon las mismas condiciones de operación, 20 MPa de presión y 313 K de temperatura. Las concentraciones de alimentación del talco y del fluoropolímero fueron 1.9 y 0,19 % en peso, respectivamente. Con el objetivo de analizar si las micropartículas de talco fueron encapsuladas en el polímero, fueron tomadas una serie de micrografías del talco solo y de las microcápsulas de talco en polímero. En el caso de la técnica de coacervación, en las primeras micrografías se observaron claramente los componentes del talco, mientras que en las segundas se observaron ligeramente, por lo que se consideró que el talco fue completamente encapsulado en una capa delgada del fluoropolímero. En el caso de las micropartículas formadas por RESS, el polímero no formó una superficie lisa en las partículas del talco, se adhirió a éste en forma de pequeñas partículas, los resultados revelaron que la mayoría de talco fue microencapsulado con el polímero, sin embargo también se formaron pequeñas partículas del polímero, las cuales se adhirieron a la superficie del talco por la supersaturación y nucleación homogénea del polímero, causada por la despresurización rápida. Los resultados obtenidos muestran que es posible evitar la formación de partículas de polímero mediante una despresurización lenta. Se realizó una expansión con solo el polímero con una despresurización lenta, en la cual no se formaron partículas, por lo que se concluyó que el talco suspendido en el CO_2 supercrítico actúa como un acelerador de la precipitación de las partículas del polímero.

2.3.3. Fluido supercrítico como antisolvente

Los materiales que son insolubles en FSC o gases comprimidos pueden ser procesados con técnicas donde el FSC se usa como antisolvente; la figura 2.5 muestra el principio básico de estas técnicas, el cual consiste en permitir que una solución de un sustrato en un solvente líquido se ponga en contacto con un fluido supercrítico o gas denso. La transferencia simultánea de CO_2 y el solvente de una fase a otra conduce a la supersaturación y la precipitación del sólido, de acuerdo a este principio se han desarrollado muchas aplicaciones como es el caso de PCA: precipitation with a compressed fluid antisolvent; GAS: gas antisolvent; SAS: supercritical antisolvent; ASES: aerosol solvent extraction system; y SEDS: solution enhanced dispersion by

supercritical fluids, las cuales se diferencian unas de otras en la forma de contacto de las dos fases, en la dirección del flujo y en la modalidad del proceso (bath o semicontinuo). Estas técnicas se dividen en dos categorías (clasificación que varía de acuerdo a los autores), la primera es la que introduce el gas comprimido en la fase líquida (GAS), y la segunda, donde la fase líquida es inyectada a un continuo supercrítico (PCA, SAS, ASES, SEDS), en publicaciones recientes no hacen diferencias entre SAS, PCA y ASES; SEDS es el único proceso diferente a éstos por el sistema de inyección que usa.^{15,24} por otro lado, algunos autores no hacen diferencia entre SAS y GAS,¹⁹ o en algunos casos se dice que SAS es conocido con diferentes siglas, como es el caso de PCA, SAS, ASES y SEDS dependiendo del tipo de sistema de inyección que usan.^{4,7} De acuerdo a lo anterior, en este trabajo se clasifican a estas técnicas en tres categorías:

- a) GAS
- b) PCA, SAS, ASES
- c) SEDS

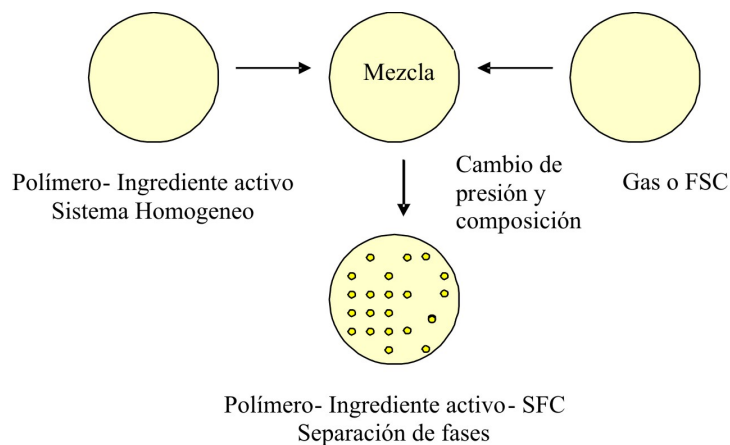


Figura 2.5: Principio básico de técnicas usando el FSC como antisolvente

a) GAS

Este proceso es usado para la cristalización de sólidos que son insolubles en fluidos supercríticos donde el polímero y el ingrediente activo son disueltos en un solvente orgánico líquido y un gas, el cual no es necesario que se encuentre en condiciones supercríticas es empleado como antisolvente. El gas es inyectado a la solución en una cámara cerrada y la precipitación de partículas

ocurre a medida que la concentración de gas aumenta con la presión, cuando se introduce el antisolvente, los límites de las fases sólido-líquido y líquido-líquido se cambian a una alta temperatura o presión respectivamente, como resultado, el sistema el cual estaba inicialmente en la región de una fase homogénea, encuentra la región de dos fases en la que sufre la separación de fases conduciendo a la formación de partículas. La figura 2.6 muestra de forma esquemática el proceso.

El proceso GAS tiene algunas ventajas con respecto a RESS, por ejemplo: 1) maneja niveles de presión menores, 2) pueden ser procesados un mayor número de componentes y 3) hay un mayor número de parámetros del proceso para controlar la morfología y tamaño de partícula; sin embargo, también presenta ciertas desventajas, como: 1) la adición progresiva de un gas comprimido provoca un radio de supersaturación variable en la fase líquida dando como resultado una distribución de tamaño más amplia, 2) generalmente con el proceso GAS se obtienen partículas de mayor tamaño que en RESS y 3) las partículas son generalmente producidas en fase líquida requiriendo una etapa adicional de secado.^{15,24}

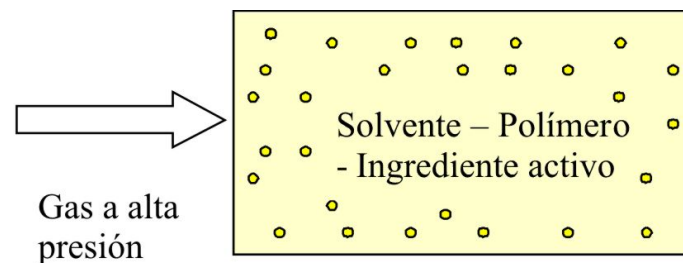


Figura 2.6: Diagrama esquemático del proceso GAS

b) PCA, SAS y ASES

En la figura 2.7 se ilustra este proceso, en el cual el polímero y el ingrediente activo se disuelven en un solvente orgánico y la solución es expandida en una cámara donde se encuentra el fluido supercrítico. Este método es factible cuando ambos componentes son solubles en un solvente orgánico, en este caso, la formación de las partículas es gobernada por el mecanismo de coprecipitación. Por otro lado, cuando el polímero es soluble y el componente activo inso-

luble en un determinado solvente orgánico, una solución del polímero que contiene la sustancia activa suspendida se pone en contacto con el antisolvente supercrítico. Con el contacto de la solución y el antisolvente, el polímero precipita en la presencia de partículas sólidas lo que causa la encapsulación del componente activo con el polímero. Este proceso es útil para encapsular proteínas debido a que son prácticamente insolubles en la mayoría de solventes orgánicos.^{15,25}

Durante el proceso la precipitación resulta de dos fenómenos: la difusión rápida del antisolvente en la fase líquida y la evaporación del solvente orgánico en la fase continua, generalmente en un estado supercrítico. Tanto la transferencia rápida como la supersaturación causan la precipitación del sustrato en forma de nano o micropartículas.

Una vez que se termina la inyección del líquido se requiere una etapa de lavado para remover el solvente orgánico y para evitar la condensación durante la despresurización, para esto se mantiene la alimentación del antisolvente puro, la presión de la cámara se reduce a la presión atmosférica y las partículas son colectadas en un filtro en el fondo o en las paredes de la cámara.

Una ventaja especial de esta técnica es que se adapta a operaciones continuas lo cual es importante para la producción de partículas a gran escala, sin embargo tiene la desventaja de que con frecuencia es necesario agregar una etapa al proceso para eliminar residuos de solvente, la dificultad aumenta conforme incrementa la afinidad con la sustancia activa, debido a que ésta puede ser extraída junto con el solvente.¹⁵

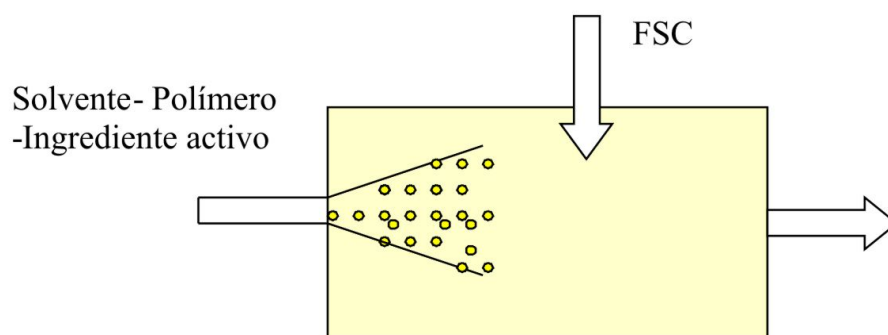


Figura 2.7: Diagrama esquemático del proceso SAS

c) SEDS

Este proceso es una versión modificada del proceso SAS (aunque algunos autores lo describen como un sinónimo de SAS⁴) en el cual la solución líquida y el fluido supercrítico son expandidos juntos usando un diseño especial de boquillas, en este caso, el polímero y el ingrediente activo son disueltos por separado en solventes diferentes y ambas soluciones se ponen en contacto simultáneamente con el antisolvente supercrítico (figura 2.8), la mezcla de las tres soluciones causa la coprecipitación del polímero y del componente activo mientras que sus solventes se agotan de los compuestos precipitados bajo la acción del antisolvente supercrítico. Empleando un solvente adicional, este método extiende la aplicación donde se emplea el fluido supercrítico como antisolvente.¹⁵

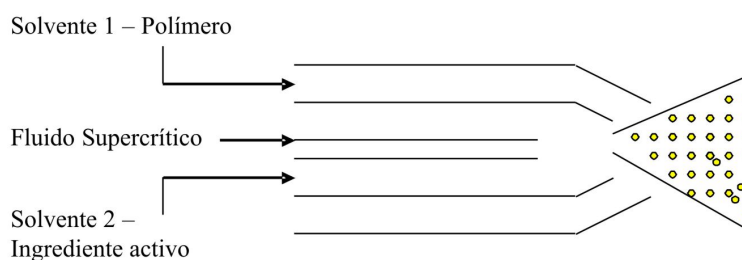


Figura 2.8: Diagrama esquemático del proceso SEDS

2.3.4. Aplicaciones de técnicas usando el fluido supercrítico como antisolvente en la industria farmacéutica

De los procesos donde el fluido supercrítico se usa como antisolvente, la técnica SAS es el más usado, los componentes farmacéuticos son las sustancias activas que más han sido encapsuladas en partículas de polímeros usando fluidos supercríticos como antisolventes, en tal caso se debe prestar especial atención en la elección del solvente, dicha elección está basada en tres requisitos, el primero es que tenga buena miscibilidad con el antisolvente (CO_2), solventes como etanol, tolueno y acetona cumplen este requisito. El segundo es la solubilidad del sólido que va a ser

procesado y la tercera que sea inerte al humano, con clasificación 3 (no tóxico).^{7,15}

La concentración inicial de la sustancia activa y del agente encapsulante, así como la afinidad entre ellos tienen influencias significativas en el porcentaje de encapsulación y en la morfología de la partícula. En la coprecipitación del β -caroteno y PEG es posible obtener diferentes morfologías como esferas huecas, partículas de β -caroteno cubierta con esferas pequeñas de PEG o partículas esféricas lisas²⁶. Otro aspecto importante en las características de las microcápsulas obtenidas es la afinidad de los materiales que serán procesados con el solvente, en algunos casos se emplea una mezcla de dos solventes con diferentes relaciones de éstos. Kalogiannis, C. G. et al³ llevaron a cabo la encapsulación de amoxicilina en ácido poly(L-láctico)(L-PLA) mediante la técnica SEDS, usaron diferentes soluciones de ambos materiales en mezclas de diclorometano (DCM) y dimetilsulfóxido (DMSO)(80/20, 50/50 y 20/80). Con la mezcla de solventes rica en DCM el proceso de coprecipitación fue controlado principalmente por la precipitación del L-PLA, por lo cual se obtuvieron porcentajes bajos de eficiencia y carga de amoxicilina, estos porcentajes incrementaron al aumentar la cantidad de DMSO, debido a que el DMSO no es buen solvente para L-PLA, lo cual conduce a una precipitación rápida del polímero. Elvassore et al (citado por Yoe, S.D. et al¹⁵) encapsularon insulina en partículas de L-PLA a través del proceso SAS, usaron una mezcla de DMSO y DCM (50/50) como solvente para tener una solución homogénea de los dos componentes, la composición de la solución inicial fue 1% de polímero y 5% de insulina, la cual fue expandida en dióxido de carbono, de acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que más del 80% de insulina fue encapsulada. Chen et al²⁷ llevaron a cabo la encapsulación de purerarina mediante la técnica SEDS, al igual que en los casos anteriores usaron el L-PLA como material encapsulante y DCM como solvente. En este caso se realizó el estudio de carga del medicamento, eficiencia de encapsulamiento y las cinéticas de liberación del ingrediente activo, así como las interacciones presentes entre la purerarina y el L-PLA mediante espectrofotometría infrarroja (IR).

2.4. *Coenzima Q₁₀*

Las coenzimas Q son una familia de moléculas brillantes (llamadas quinonas) muy abundantes en la naturaleza, pues forman parte de la cadena de reacciones que producen la energía de toda

celula viva que respira oxígeno. Los diversos tipos de coenzimas Q pueden diferenciarse por el número de isoprenos que posee su cadena lateral, en el organismo humano y en mamíferos la más frecuente es la Q_{10} , mientras que en los animales restantes y en las plantas predominan otros tipos como la Q_9 , Q_8 y Q_7 . La estructura química de la coenzima Q_{10} se muestra en la figura 2.9.

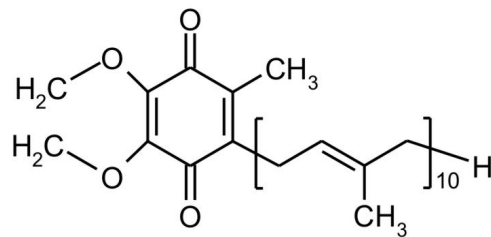


Figura 2.9: Estructura química de la coQ_{10}

La familia de las coenzimas Q fue descubierta en 1955 por el Dr. R. A. Morton en Liverpool, Inglaterra. En 1957, el Dr. Frederick Crane, de la universidad de Wisconsin, aisló la coQ_{10} (A la que Morton había denominado ubiquinona) de las mitocondrias de tejido cardiaco de vaca. Al año siguiente, el Dr. Karl Folkers y sus colegas de los laboratorios farmacéuticos Merck determinaron la estructura exacta de la coQ_{10} (2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona) y lograron sintetizarla y producirla mediante fermentación. Sin embargo fue en Japón donde se utilizó por primera vez en una enfermedad humana: el Dr. Yamamura la aplicó con éxito a mediados de la década de los 60's para tratar un fallo cardiaco. En 1966 se descubrieron sus cualidades antioxidantes y en 1977 los Drs. Karl Folkers y Gian P. Litarru documentaron definitivamente la deficiencia de coQ_{10} en todas las enfermedades cardiacas.⁹

Los estudios e investigaciones de la coQ_{10} se multiplicaron con lo que se confirmaron y concretaron algunas de sus cualidades a la vez que otras eran descubiertas. Los Drs. Emile Bliznakov de Estados Unidos y Lars Erster de Suecia, descubrieron que su importancia como antioxidante es mayor de la que inicialmente se había pensado. Se evidenció su papel determinante en la prevención y combate de cáncer. Se descubrió su influencia sobre la función cerebral y sus efectos

positivos sobre el sistema inmunológico llevaron a investigar su potencial contra el sida. Finalmente fueron difundidas sus cualidades para remediar algunos tipos de infertilidad masculina.⁹

Las aplicaciones terapéuticas de la coQ_{10} están fuertemente limitadas por su baja solubilidad en medios acuosos, su alto peso molecular y por ende su baja biodisponibilidad. Se han llevado a cabo estudios de solubilidad en CO_2 a diferentes temperaturas, presiones y concentraciones de coQ_{10} , sin embargo, los resultados obtenidos han sido muy bajos ($< 2g/l$) para la modificación de la coQ_{10} mediante tecnología supercrítica, por lo tanto es necesario la adición de un cosolvente que interactúe con el CO_2 para incrementar la solubilidad de la coQ_{10} en éste. La micronización es un método ampliamente usado para reducir el tamaño de partícula con lo cual se aumenta la biodisponibilidad, debido al incremento del área superficial. Cuando además de aumentar la solubilidad se requiere tener una liberación controlada y proteger a ingredientes altamente fotosensibles y termosensibles como es el caso de la coQ_{10} se puede emplear el microencapsulado.

2.5. *Materiales de recubrimiento*

Independientemente del método para preparar las micropartículas, el primer paso para encapsular un ingrediente es la selección de un material de recubrimiento adecuado (material de pared), el cual es diseñado para proteger al material encapsulado de factores que pueden causar su deterioro y para prevenir una interacción prematura entre el material encapsulado y otros ingredientes. La composición del agente encapsulante determina las propiedades funcionales de las micropartículas y la forma en que pueden utilizarse para mejorar el rendimiento de un determinado ingrediente. El material de recubrimiento debe cumplir varios requisitos, su biocompatibilidad y ausencia de toxicidad son las consideraciones más importantes, debe ser un medio adecuado para preservar las propiedades y actividades de la sustancia activa, además debe ser fácil de procesar con la técnica de precipitación seleccionada. Generalmente son usados biopolímeros naturales o sintéticos como materiales encapsulante, aunque también se pueden usar otros materiales como grasas, azúcares y gomas.^{1,25}

Los polímeros sintéticos biodegradables pueden ser usados sin causar efectos indeseables, además

su permeabilidad y difusividad pueden ser modificados y controladas por lo que son comunmente usados como materiales para sistemas de liberación controlada. Los polímeros biodegradables como el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliglicólico (PGA) fueron los primeros materiales poliméricos usados con éxito en suturas con una degradación que no produce productos tóxicos, estos materiales fueron después usados en la administración oral de liberación controlada y administración parental. Algunos polímeros no biodegradables pero biocompatibles también pueden ser usados en sistemas de liberación de medicamentos, entre estos polímeros se encuentra el polietileno, polietilenglicol (PEG) y algunos polímeros acrílicos.

2.5.1. Polietilenglicol (PEG)

El PEG, aunque no es un polímero biodegradable, es elegido para un gran número de aplicaciones biomédicas en la liberación controlada de medicamentos debido a su biocompatibilidad. En la figura 2.10 se muestra su estructura química, donde n es igual o mayor de 4, su nombre generalmente aparece asociado a un número que hace referencia a su masa molecular, los compuestos con pesos moleculares entre 200 y 700 son líquidos mientras que los de pesos superiores a 1000 son sólidos, entre los más comunes se encuentran el PEG2000, PEG4000 y PEG6000. Los polietilenglicoles son estables, hidrofílicos y no irritan la piel, se pueden utilizar para mejorar la solubilidad acuosa o características de disolución de los compuestos poco solubles, tienen una amplia gama de aplicaciones dependiendo de su peso molecular.

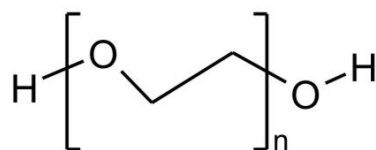


Figura 2.10: Estructura química del PEG

Se han realizado varios estudios del PEG usando tecnología supercrítica, tanto de solubilidad como de encapsulamiento de medicamentos. Byun, H.²⁸ reportó el comportamiento de fases del PEG de diferentes pesos moleculares en CO_2SC en un intervalo de temperatura de 35 a 195°C , el punto de nube o cloud-point (presión a la cual el sistema supercrítico pasa de una

sola fase a dos o viceversa a una temperatura constante) es muy elevado (>500 bar), por lo cual es necesario la adición de un cosolvente para aumentar su solubilidad. Matsuyama, K. et al⁵ y Mishima et al²² llevaron a cabo la encapsulación de cinco medicamentos y algunas proteínas en PEG y otros polímero con la adición de etanol como cosolvente para incrementar la solubilidad del sistema supercrítico.

2.5.2. Ácido Poliláctico (PLA)

El PLA, cuya estructura química se muestra en la figura 2.11 es un biopolímero termoplástico cuya molécula precursora es el ácido láctico, el cual es producido por el organismo humano durante el metabolismo normal; de esta forma, el PLA puede ser absorbido por el organismo humano después de su degradación a sus unidades monoméricas; razón por la cual ha sido aprobado junto con el PGA y sus copolímeros por las administraciones de medicamentos y alimentos Americana y Europea.

Debido a su biodegradabilidad, propiedades de barrera y biocompatibilidad, este biopolímero ha encontrado numerosas aplicaciones ya que presenta un amplio rango de propiedades desde el estado amorfo hasta el estado cristalino; propiedades que pueden lograrse manipulando las mezclas entre los isómeros D(-) y L(+), los pesos moleculares y la copolimerización. Dentro de sus aplicaciones se encuentran la producción de hilo para sutura, implantes y cápsulas para la liberación controlada de fármacos. En esta última aplicación, el isómero L(+) (L-PLA) es el que ha tenido un mayor uso, debido a que, a diferencia del isómero D(-), la configuración L(+) es metabolizada por el organismo humano. El L-PLA ha sido empleado como material de recubrimiento para un gran número de medicamentos, mediante varias técnicas de microencapsulado, como es el caso de SEDS para el microencapsulado de amoxicilina³ y purerarin²⁷ y RESS para fitosterol,²⁹ naproxeno,²⁰ en RESS-N para lisozima y lipasa,²² y varios medicamentos.⁵

2.6. Caracterización de las microcápsulas

En general, la liberación de la sustancia activa de la matriz polimérica es controlada por difusión de la sustancia y por la erosión y degradación del polímero, estos mecanismos dependen

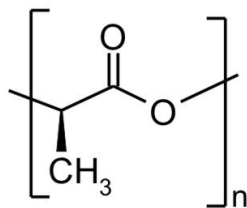


Figura 2.11: Estructura química del PLA

de parámetros externos y de propiedades de las partículas como es tamaño y morfología de partícula, cantidad del medicamento, interacciones químicas entre el medicamento y el polímero, propiedades que generalmente son caracterizadas para la mayoría de sistemas poliméricos.

Para la caracterización de tamaño y morfología se puede elegir entre los siguientes métodos: 1) la microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), 2) el principio de Coulter, donde las partículas pasan a través de un orificio (zona de detección eléctrica) por el vacío de una cámara de electrolitos a otra y causa un aumento de impedancia en un campo eléctrico correspondiente al volumen de las partículas mediante el bloqueo de una parte determinada de la abertura, 3) difracción láser, donde la luz de un láser es difractada en la superficie de las micropartículas suspendidas resultando un patrón de difracción de tamaño específico.³⁰ La microscopía electrónica, tanto de transmisión como de barrido son las técnicas frecuentemente usadas, a las cuales se les han realizado una serie de modificaciones con la finalidad de extender o mejorar sus aplicaciones.

El contenido de la sustancia activa y la eficiencia de encapsulación son dos parámetros importantes en la evaluación de las las microcápsulas, estos parámetros pueden ser determinados por varios métodos, los mas usados involucran la disolución del polímero y la sustancia activa en solventes adecuados seguidos de un análisis cuantitativo de las cantidades de cada sustancia por HPLC, GC y espectrofotometría UV entre otros. También es posible determinar la carga de forma indirecta midiendo la cantidad de medicamento que no se incorporó al polímero. En cualquier caso, la sustancia activa que solo ha sido depositada en la superficie de las partículas y no ha sido incorporada al polímero debe ser retirada y contabilizada. Algunas técnicas de microscopía permiten la observación de la distribución del material encapsulado, en particular cuando

el material encapsulado se muestra muy diferente al material pared, como la fluorescencia para lo cual se puede utilizar microscopía electrónica de láser confocal (CLSM, por sus siglas en inglés), sin embargo esta técnica se usa muy poco debido a que la muestra no es representativa.^{25,30}

Finalmente, las interacciones ingrediente activo-polímero es una etapa importante en la caracterización de la microcápsulas, debido a que tales interacciones pueden ejercer influencias significativas en las propiedades fisicoquímicas de la forma dosificada del ingrediente, además pueden cambiar las propiedades de liberación de la sustancia activa. Estas interacciones son estudiadas y analizadas mediante espectrofotometría infrarroja (IR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). La espectrofotometría infrarroja mide las frecuencias de la luz infrarroja que absorbe un compuesto, dichas frecuencias van desde valores inferiores a las frecuencias del visible hasta valores que colindan con frecuencias más altas de microondas y radar, generalmente entre $2,5 \times 10^{-4}$ y 25×10^{-4} cm, que corresponden a energías desde 1.1 a 11 kca. Aunque los fotones infrarrojos no tienen suficiente energía para provocar transiciones electrónicas, pueden hacer que vibren grupos de átomos con respecto a los enlaces que los unen, tales vibraciones corresponden a energías específicas, y las moléculas solo absorben radiación infrarroja a ciertas longitudes de onda y frecuencias.^{31,32}

2.7. Referencias

- [1] Kashappa G. H. and Park, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology* 2005, 23: 1361-1394.
- [2] Reverchon, E., Adami, R., Cardea, S. and Della G.P. Supercritical fluids processing of polymer for pharmaceutical and medical applications. *J. Supercritical Fluids* 2009, 47: 484-492.
- [3] Matsuyama, K., Mishima, K., Hayashi, K., Ishikawa, H., Matsuyama, H. and Harada, T. Formation of microcapsules of medicine by Rapid Expansion of a Supercritical Solution with a Nonsolvent. *J. of Applied Polymer Science* 2003, 89: 742-752.
- [4] Kongsombut, B., Tsutsumi, A., Suankaew, N. and Charinpanitkul, T. Encapsulation of SiO_2 and TiO_2 Fine Powders with Poly (DL-lactic-co-glycolic acid) by Rapid Expansion of Supercritical CO_2 Incorporated with Ethanol Cosolvent. *Ind. Eng. Chem. Res* 2009,

48: 11230-11235.

- [5] Kalogiannis, C. G., Michailof, C. M. and Panayiotou, C.G. Microencapsulation of Amoxicillin in Poly (L-lactic acid) by Supercritical Antisolvent Precipitation. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006, 45: 8738-8743.
- [6] Calderone, M., Rodier, E. and Fages, J. Microencapsulation by a Solvent-Free Supercritical Fluid Process: Use of Density, Calorimetric, and Size Analysis to Quantify and Qualify the Coating. *Part. Sc. Tech.* 2007, 25: 213-225
- [7] Fages, J., Lochard, H., Letourneau, J., Sauceau, M. and Rodier, E. Particle generation for pharmaceutical applications using supercritical fluid technology. *Power Technology* 2004, 141: 219-226.
- [8] Pecar, D.; Dolecek, V. Thermodynamic Properties of Coenzyme Q_{10} in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Supercritical Fluids.* 2007, 40, 200-207.
- [9] Stevens, N. Coenzyme Q_{10} . Sirio, Buenos Aires, Argentina, 1999.
- [10] Yáñez Fernández, J.A. Salazar Montoya, L. Chaires Martínez, J. Jiménez Hernández, M. Márquez Robles y E. G. Ramos Ramírez. Aplicaciones Biotecnológicas de la Microencapsulación. *Mundo Alimentario* 2005, 21:24-30.
- [11] Gouin, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing Technologies and trends. *Trends Food Sci. Tech.* 2004, 15: 330-347.
- [12] Benita, S. Microencapsulation: Methods and industrial applications. Marcel Dekker, Ing. USA, 1996.
- [13] Kumar, A.A. and Singh,H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci. Tech.* 2007, 18: 240-251
- [14] Tomado del primer Seminario de Ingeniería Química. Curso-Taller: Extracción con fluidos supercríticos. Impartido en la Universidad Autónoma de Yucatán por el Dr.Eduardo Vivaldo Lima.
- [15] Yeo, S.D. and Kiran, E. Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. *J. Supercritical Fluid* 2005, 34: 287.

- [16] Kiran, E.; Debenedetti, G.; Peters C.J. Supercritical Fluids: Fundamentals and Applications. Kluwer Academia Publishers. Netherlands, 1998.
- [17] Arai, Y., Sako, T. and Takebayashi, Y. Supercritical Fluids: Molecular Interactions, Physical Properties, and New Applications. Materials Processing. Berlin Heidelberg 2002.
- [18] Turk, M. Manufacture of submicron drug particles with enhanced dissolution behaviour by rapid expansion processes. J. Supercritical Fluids 2009, 47: 537-545.
- [19] Jung, J. and Perrut, M. Particle design supercritical fluids: Literature and patent survey. J. Supercritical Fluids 2001, 20: 179-219.
- [20] Kim, J.H., Paxton, T.E. and Tomasko, D.L. Microencapsulation of Naproxeno Using Rapid Expansion of Supercritical Solutions. Biotechnol. Prog. 1996,12:650-661
- [21] Chiou, A. H., Cheng, H. C. and Wang, D. P. Micronization and microencapsulation of felodipine by supercritical carbon dioxide. J. Microencapsulation 2006, 23(3): 265-276.
- [22] Mishima, K., Matsuyama, K., Tanabe, D. and Yamauchi, S. Microencapsulation of Proteins by Rapid Expansion of Supercritical Solution with a Nonsolvent. AIChE Journal 2000, 46(4): 857-865.
- [23] Matsuyama, K. and Mishima, K. Coacervation Microencapsulation of Talc Particles with a Fluoropolymer by Pressure-Induced Phase Separation of Supercritical Carbon Dioxide Solutions. Ind. Eng. Chem. Res. 2006, 45: 6162-6168.
- [24] York, P., Kompella, U. and Shekunov, B. Supercritical Fluid Technology for Drug Product Development. Drugs and the pharmaceutical sciences 2008, 138: 159-212, 367-409.
- [25] Cocero, M. J., Martin, A., Mettea, F. and Varona, S. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications. J. Supercritical Fluids 2009, 47: 546-555.
- [26] Mattea, F., Martin, A. and Cocero, M. J. Co-Precipitation of β -Carotene and Polyethylene Glycol with Compressed CO_2 as an Antisolvent: Effect of Temperature and Concentration. Ind. Eng. Chem. Res 2008, 47: 3900-3906.

- [27] Chen, A. Z., Chau, F. T., Lau, T. Y., Hu, J. Y., Zhao, Z. and Mok, D., K. Microencapsulation of puerarin nanoparticles by poly(L-lactide) in asupercritical CO_2 process. *Acta Biomaterialia* 2009, 12: 26-32.
- [28] Byun, H.S. Phase Behavior of Poly(ethylene glycol) in supercritical CO_2 , C_3H_6 and C_4H_8 . *Ind. Eng. Chem* 2006, 12: 893-899.
- [29]Türk, M., Upper G. and Hils P. Formation of composite drug polymer particles by coprecipitation during the rapid expansion of supercritical fluids. *J. Supercritical Fluids* 2006, 39: 253-263.
- [30] Wischke, C. and Schwendeman, S. P. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *Inter. J. Farmaceutics* 2008, 364: 298-327.
- [31] Hsiue, G. H., Liao, C. M., and Lin, S. Y. Effect of Drug-Polymer Interaction on the Release Characteristics of Methacrylic Acid Copolymer Microcapsules Containing Theophylline. *Artificial Organs* 1998, 22(8): 651-656.
- [32] Wade, L.G. *Química orgánica*. Pearson Educación, segunda edición, México, 1993.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA Y DESARROLLO

EXPERIMENTAL

Con la finalidad de lograr los objetivos planteados en este trabajo se llevaron a cabo cinco etapas experimentales, en primer lugar se realizaron pruebas de solubilidad tanto de la coQ_{10} como del PEG y PLA en varios solventes orgánicos con la finalidad de elegir un cosolvente adecuado para incrementar la solubilidad de estos materiales en el sistema supercrítico, una vez elegido el cosolvente se llevaron a cabo pruebas de equilibrio de cada uno de los materiales con diferentes relaciones CO_2 /cosolvente así como de los sistemas PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} . Con base en los resultados obtenidos del equilibrio de fases se determinaron los parámetros de operación en la micronización de cada uno de los materiales, así como para el microencapsulado de coQ_{10} tanto en PEG como en PLA. Finalmente se llevó a cabo la caracterización de las microcápsulas analizando aspectos como morfología, tamaño de partícula e interacciones PEG- coQ_{10} y PLA- coQ_{10} .

a) Elección del cosolvente

Debido a la baja solubilidad que tienen la coQ_{10} , PEG y PLA en CO_2SC son necesarias altas presiones para solubilizar pequeñas cantidades de estos materiales, lo cual hace el proceso económicamente infactible, una alternativa para incrementar la solubilidad en el sistema supercrítico es a través de la adición de un cosolvente, para este efecto se realizaron pruebas de solubilidad en solventes orgánicos (etanol, acetona y diclorometano). En el caso de la coQ_{10} y el PEG presentaron mayor solubilidad en acetona respecto al etanol, sin embargo se decidió lle-

var a cabo el estudio de equilibrio de fases con ambos cosolventes debido a que la solubilidad que presenta el material en el cosolvente puro puede aumentar o disminuir con la adición del CO_2SC^1 . Respecto al PLA, este no fue soluble en ninguno de los solventes, por lo tanto fue necesario la adición de un cosolvente alternativo para incrementar la solubilidad del PLA en el sistema supercrítico, se probaron diversos solventes entre ellos el DCM, el cual presentó mayor solubilidad por lo cual se eligió para el sistema PLA- coQ_{10} . El DCM ha sido usado como solvente en estudios realizados con el PLA.^{2,3}

b) Equilibrio de fases

Para la coQ_{10} se llevó a cabo el equilibrio de fases con la adición de cada uno de los tres cosolvente (etanol, acetona y DCM), para el PEG con etanol y acetona como cosolventes y en el caso del PLA con la adición de DCM. Así mismo se realizó el equilibrio de fases para los sistemas coQ_{10} -PEG- CO_2 -etanol, coQ_{10} -PEG- CO_2 -acetona y coQ_{10} -PLA- CO_2 -DCM, en todos los casos se empleó la técnica de punto de nube, técnica que se describirá más detalladamente en la sección 3.3. Esta etapa es indispensable para determinar los parámetros de operación en la elaboración de las microcápsulas.

c) Micronización

Con base en los resultados obtenidos del equilibrio de fases se definen los parámetros de operación en la micronización de cada uno de los materiales, esta etapa es con la finalidad de tener punto de comparación de morfología y tamaño de las microcápsulas PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} con respecto a las micropartículas de coQ_{10} así como del respectivo material encapsulante.

d) Microencapsulación

Al igual que en el caso de micronización, con la etapa de equilibrio de fases se determinan las condiciones de operación, relaciones PEG/ coQ_{10} , PLA/ coQ_{10} y CO_2 /cosolvente, para llevar

a cabo la microencapsulación de coQ_{10} en PEG y en PLA, se propone una serie de experimentos con la finalidad de analizar el efecto de estas variables en la morfología, tamaño de las microcápsulas, así como las interacciones PEG- coQ_{10} y PLA- coQ_{10} . Tanto la microencapsulación de coQ_{10} como la micronización de cada uno de los materiales se llevaron a cabo mediante la técnica RESS, la cual se describe con más detalle en la sección 3.4.

e) Caracterización de las microcápsulas

La última etapa consiste en caracterizar las microcápsulas obtenidas de encapsulante/ coQ_{10} , mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para el estudio de morfología y tamaño de partícula, a través de espectrofotometría Infrarrojo (IR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar las interacciones encapsulante- coQ_{10} , finalmente, mediante cinéticas de solubilidad la liberación de la coQ_{10} . Estas técnicas se describen en la sección 3.5.

3.1. Variables del proceso

Las variables de cada una de las secciones experimentales se determinaron con base en resultados de experimentos preliminares.

Equilibrio de fases

El estudio del equilibrio de fases se divide en dos partes, por un lado se encuentra la solubilidad de cada uno de los materiales en el sistema supercrítico y por otro lado la solubilidad del conjunto PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} . Las variables del proceso en la determinación del equilibrio de cada uno de los materiales fueron:

- a) Concentración del material (coQ_{10} , PEG o PLA): de 1 a 3% w en el caso de la coQ_{10} y de 1 a 5% w para el PEG y PLA.
- b) Relación CO_2 /cosolvente: de 50/50 a 80/20.

- c) Cosolvente: Etanol, acetona y DCM.
- d) Temperatura: 35, 45 y 55 °C.

Para el equilibrio de los sistemas encapsulante- coQ_{10} se consideró una variable:

- a) Relación concentración del material encapsulante/concentración coQ_{10} : 1/1 y 2/1 %w

La combinación de estas variables lleva a una serie de experimentos, los cuales se muestran en los cuadros 3.1 al 3.4. Para una misma relación CO_2 /cosolvente los porcentajes tanto de CO_2 como de cosolvente se ajustan respecto a la concentración del material. Todos los experimentos se llevaron a cabo por duplicado y cuando fue necesario por triplicado.

Micronización

Las variables del proceso en la micronización son:

- a) Concentración del material: de 1 a 5 % w.
- b) Relación CO_2 /cosolvente: de 50/50 a 80/20.
- c) Cosolvente: etanol, acetona y DCM.

Microencapsulación

Las variables del proceso en la elaboración de microcápsulas PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} son:

- a) Relación encapsulante/ coQ_{10} : 2/1, 1/1, 1/0.5 y 0.5/0.5 %w.
- b) Cosolvente: etanol y acetona para PEG/ coQ_{10} y DCM para PLA/ coQ_{10} .

Los cuadros 3.5 y 3.6 muestran los experimentos realizados de micronización y de microencapsulación, respectivamente; todos se llevaron a cabo a una temperatura constante de 35 °C y presión de 275 bar, usando una boquilla de 50 μ m de diámetro para la expansión. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Experimento	coQ_{10} (% peso)	cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente	T ($^{\circ}C$)
1	1.59	Etanol		35
2	2.37	Etanol	75/25	35
3	3.15	Etanol		35
4	0.58	Etanol		35
5	1.04	Etanol	85/15	35
6	1.25	Etanol		35
7	1.35	Etanol		35
8	1.5	Acetona		35
9	2.23	Acetona	70/30	35
10	2.96	Acetona		35
11	0.55	Acetona		35
12	1	Acetona		35
13	1.20	Acetona		35
14	1.30	Acetona		35
11	0.55	Acetona		45
12	1	Acetona	80/20	45
13	1.20	Acetona		45
14	1.30	Acetona		45
11	0.55	Acetona		55
12	1	Acetona		55
13	1.20	Acetona		55
14	1.30	Acetona		55
15	1	DCM	60/40	35
16	1	DCM	70/30	35

Cuadro 3.1: Pruebas de solubilidad de coQ_{10} en CO_2SC -cosolvente

Experimento	PEG (% peso)	Cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente	T ($^{\circ}C$)
1	1	Etanol		35
1	3	Etanol		35
3	5	Etanol		35
4	1	Etanol		45
5	3	Etanol	70/30	45
6	5	Etanol		45
7	1	Etanol		55
8	3	Etanol		55
9	5	Etanol		55
10	1	Etanol		35
11	3	Etanol	80/20	35
12	5	Etanol		35
13	1	Acetona		35
14	3	Acetona	60/40	35
15	5	Acetona		35
16	1	Acetona		35
17	3	Acetona	70/30	35
17	5	Acetona		35

Cuadro 3.2: Pruebas de solubilidad de PEG en CO_2SC -cosolvente

Experimento	PLA (% peso)	Relación CO_2/DCM	T ($^{\circ}C$)
1	1		35
2	3		35
3	5		35
4	1		45
5	3	60/40	45
6	5		45
7	1		55
8	3		55
9	5		55
10	1		35
11	3		35
12	5		35
13	1		45
14	3	70/30	45
15	5		45
16	1		55
17	3		55
18	5		55

Cuadro 3.3: Pruebas de solubilidad de PLA en CO_2SC -cosolvente

Experimento	PEG (% peso)	PLA (% peso)	coQ_{10} (% peso)	Cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente
1	1	–	1	Etanol	70/30
2	2	–	1	Etanol	
3	1	–	1	Acetona	
4	2	–	1	Acetona	
5	–	1	1	DCM	60/40
6	–	2	1	DCM	

Cuadro 3.4: Pruebas de solubilidad de los sistemas encapsulante/ coQ_{10} en CO_2SC /cosolvente a 35°C

3.2. Materiales y equipo

La coQ_{10} fue proporcionada por la empresa Nano Nutrition S. de R.L. de C.V. (México), el PEG 4000 fue adquirido de Sigma-Aldrich (99% de pureza), el PLA (éster terminado) fue adquirido por Sigma-Aldrich, el etanol y la acetona (99.8%) fueron obtenidos de J.T. Baker grado HPLC (México), el dióxido de carbono (CO_2) de alta pureza (99.99%) fue adquirido de Infra S.A. de C. V. (México).

El equipo necesario para la microencapsulación, micronización y estudio del equilibrio se muestra en las figuras 3.1 y 3.2, el cual está compuesto por dos sistemas; uno de alta presión y otro de alimentación y presurización de CO_2 . El sistema de alta presión consta de un cilindro de compresión de CO_2 y una celda de alta presión (CAP) donde se lleva a cabo el confinamiento de la solución, este sistema cuenta con un sensor de presión (marca SENSOTEC, modelo TJF/7039-

03), un dispositivo indicador de presión (marca SENSOTEC modelo GM), un controlador de temperatura (marca Cole-Palmer, modelo Polystat) y un termómetro (marca FLUKE, modelo 1504). Las válvulas y conexiones de alta presión son de la marca HIP, con capacidad de hasta 1000 bar. La tubería es de acero inoxidable de 1/16 pulgadas de alta presión.

Este equipo se encuentra conformado por una serie de unidades, tales como T1: Tanque de CO_2 de alta pureza, C1: Cilindro de compresión y suministro, C2: Cilindro de compresión y dosificación, CAP: Celda de alta presión, SP: Sensor de presión, ST: Sensor de temperatura, RT: Regulador de temperatura, IT: Indicador de temperatura, IP: Indicador de presión, V1: Válvula del tanque de CO_2 de alta pureza, V2: Válvula de alimentación de CO_2 a otros equipos de alta presión, V3: Válvula de alimentación de CO_2 al C1, V4: Válvula de alimentación de CO_2 al sistema de alta presión, V5: Válvula de alimentación de CO_2 al C2, V6: Válvula de alimentación de CO_2 al sistema de válvulas de la CAP, V7: Válvula principal del sistema de válvulas de la CAP, V8: Válvula de alimentación a la parte trasera de la CAP y V9: Válvula de alimentación a la parte delantera de la CAP.

La celda de alta presión se encuentra dividida en dos cámaras por medio de un pistón, en la cámara delantera se lleva a cabo la preparación de la solución supercrítica, mientras que en la trasera se adiciona CO_2 para mantener la solución de la cámara delantera a la presión deseada. La celda cuenta con ventanas laterales de zafiro por las que es posible hacer pasar un haz de luz a través de la solución supercrítica útil en la determinación del equilibrio mediante cambio de voltaje. Cuenta con dos tapas disponibles para la cámara delantera, una para la determinación del equilibrio, la cual tiene un vidrio de zafiro que permite observar la solución, y otra para la técnica RESS para microencapsular y micronizar, la cual se conecta a una válvula para colocar la boquilla de expansión, esta boquilla se inserta en el orificio de la cámara de expansión donde se colecta la muestra.

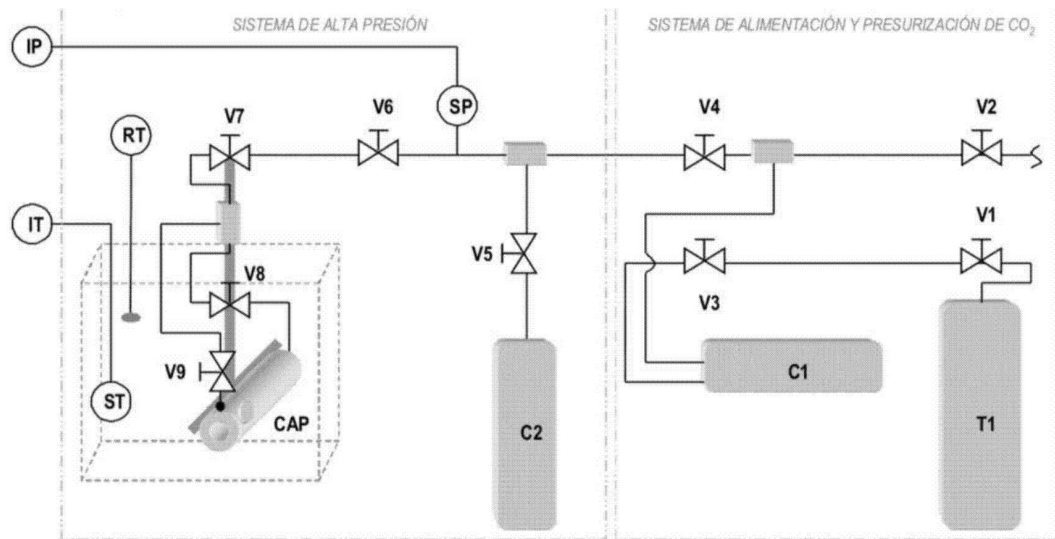


Figura 3.1: Diagrama del equipo de alta presión



Figura 3.2: Equipo experimental de alta presión

3.3. Determinación del equilibrio

Se llevó a cabo la determinación del equilibrio de cada uno de los materiales (coQ_{10} , PEG y PLA) en CO_2 -cosolvente, así como de los sistemas PEG- coQ_{10} y PLA- coQ_{10} . Las condiciones para cada caso estudiadas se presentan en los cuadros 3.1 a 3.4. Tal como se ha mencionado, el uso de un cosolvente en el sistema supercrítico es debido a que los materiales presentan baja solubilidad en CO_2 requiriendo de presiones muy elevadas para alcanzar el equilibrio, por lo que se busca reducir dicha presión.

El procedimiento consiste en cargar la celda con la solución material-cosolvente (alrededor de 4 g), adicionándole una masa de CO_2 (calculada mediante la densidad a la P y T del tanque de adición) necesaria para obtener la relación CO_2 /cosolvente. La medición del equilibrio se realizó mediante la técnica de punto de nube para lo cual es necesario fijar la temperatura, en seguida elevar la presión (aproximadamente 350 bar) para alcanzar el sistema en una sola fase, esto se mantiene entre 15 y 30 minutos para que el sistema se estabilice, posteriormente se reduce la presión de manera gradual a temperatura constante hasta encontrar la condición de presión donde la solución se enturbia o forma un precipitado (la turbidez se determina visualmente y por la disminución del voltaje registrado), se da un tiempo de aproximadamente 30 min., transcurrido este tiempo, si el sistema permanece turbio se registra esa presión, de lo contrario se reduce nuevamente hasta que se vuelve a enturbiar, esto se repite hasta que el sistema se observa en dos fases.

Los valores de punto de nube son indispensables para establecer las condiciones de operación en la elaboración de las microcápsulas debido a que permite conocer la región en la que el sistema se encuentra estable, eligiéndose la presión de operación que asegure dicha región.

Experimento	Material	(% peso)	Cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente
1	coQ ₁₀	0.5	Acetona	50/50
2	coQ ₁₀	1	Acetona	80/20
3	coQ ₁₀	1	Etanol	70/30
4	PEG	1	Etanol	50/50
5	PEG	5	Etanol	50/50
6	PEG	1	Etanol	80/20
7	PEG	5	Etanol	80/20
8	PEG	1	Acetona	60/40
9	PEG	1	Acetona	70/30
10	PLA	1	DCM	60/40

Cuadro 3.5: Experimentos realizados de micronización de coQ₁₀, PEG y PLA a 35 °C

3.4. Elaboración de los micronizados y microcápsulas

Para llevar a cabo los experimentos de micronización y microencapsulación se carga la celda de alta presión con la solución correspondiente, material-cosolvente, PEG-coQ₁₀-cosolvente o PLA-coQ₁₀-DCM, aproximadamente 4 g. y se adiciona la masa de CO₂ deseada para cumplir con las relaciones CO₂/cosolvente establecidas en el diseño experimental (de 50 a 80 % w), en el caso de las microcápsulas PEG/coQ₁₀ se usa una relación CO₂/cosolvente 70/30 para todos los casos, mientras que para PLA/coQ₁₀ esta relación es de 60/40. Una vez que se lleva cabo la adición de CO₂, el sistema se mantiene por media hora a las condiciones de operación del proceso (presión de 275 bar y temperatura de 35 °C), posteriormente se lleva a cabo la expansión a través de una boquilla (de 50µm de diámetro, fija en todas las expansiones) desde

una alta presión a la presión del ambiente, dicha boquilla se encuentra conectada a la cámara de expansión, donde se colecta el material para ser observado en el microscopio electrónico de barrido (SEM), obtener los espectros infrarrojos, los termogramas y las cinéticas de solubilidad en el caso de las microcápsulas. Los cuadros 3.5 y 3.6 muestra la serie de experimentos realizados.

Experimento	PEG (% peso)	PLA (% peso)	coQ ₁₀ (% peso)	Cosolvente
1	2	–	1	Etanol
2	1	–	1	Etanol
3	1	–	0.5	Etanol
4	0.5	–	0.5	Etanol
5	2	–	1	Acetona
6	1	–	1	Acetona
7	1	–	0.5	Acetona
8	0.5	–	0.5	Acetona
9	–	2	1	DCM
10	–	1	1	DCM
11	–	1	0.5	DCM

Cuadro 3.6: Experimentos realizados de microencapsulación a 35 °C

3.5. Caracterización de las microcápsulas

En la caracterización de las microcápsulas fueron considerados los siguientes aspectos:

- a) Morfología de partícula
- b) Tamaño de partícula
- c) Interacciones encapsulante- coQ_{10}
- d) Cinéticas de solubilidad en etanol

3.5.1. Morfología de partícula

Las microcápsulas obtenidas de cada uno de los tratamientos fueron colectadas en taps de carbón, para ser analizadas en el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional (CICATA - IPN) mediante el microscopio electrónicos de barrido (SEM) de la marca JEOL JSM-6390 LV. Las muestras fueron cubiertas con oro para ser analizadas en el SEM.

3.5.2. Tamaño de partícula

Para la deteminación del diámetro promedio de partícula se usó el Software Digital Micrograph (Versión 1.71.38. Gatan, Inc), con una medición mínima de 100 partículas por tratamiento.

3.5.3. Interacciones encapsulante- coQ_{10}

El estudio de las interacciones encapsulante- coQ_{10} se realizó mediante espectrofotometría Infrarrojo (IR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) para todos los tratamientos de microcápsulas. El espectrofotómetro usado es de la marca Perkin Elmer, modelo 1600, con una resolución de 4 cm^{-1} y 3 barridos; utilizando bromuro de potasio para el montaje de las muestras. Los termogramas se obtuvieron usando un calorímetro de la marca STA 1500.

Una vez obtenidos los espectros de absorción de luz en el rango de IR, se procedió a identificar los picos de absorción de los pares de átomos característicos de los grupos funcionales y de las uniones reportadas en la bibliografía, para posteriormente compararlas con las longitudes de onda de absorción obtenidas en las muestras analizadas. En correspondencia con el consenso de las referencias, se consideró que una variación de longitud de onda de vibración de la unión en 7 cm^{-1} representa de manera significativa una interacción entre los átomos de la unión y átomos de otro compuesto.

3.5.4. Cinéticas de solubilidad

Las curvas de solubilidad de la *coQ*₁₀ comercial y de los tratamientos se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro UV - VIS. Modelo Cary 50 CONC de la marca Varian. Se elaboró una curva de calibración de concentración *coQ*₁₀ vs absorbancia con la finalidad de obtener una correlación de concentración necesaria para las cinéticas de cada uno de los tratamientos. Esta curva se realizó con la preparación de una solución con una concentración de 0.8 mg de *coQ*₁₀ por ml de etanol de la cual se hicieron tres diluciones para obtener concentraciones de 0.4, 0.2 y 0.1 mg/ml. La curva de calibración se muestra en la figura 3.3.

Las cinéticas de solubilidad se realizaron colocando 4 mg de *coQ*₁₀ en 3 ml de etanol con un ciclo de 24 mediciones de absorbancia, cada medición fue tomada en periodos de 60 minutos. Una vez terminada la cinética se usó la curva de calibración para obtener la concentración para cada una de las mediciones obtenidas.

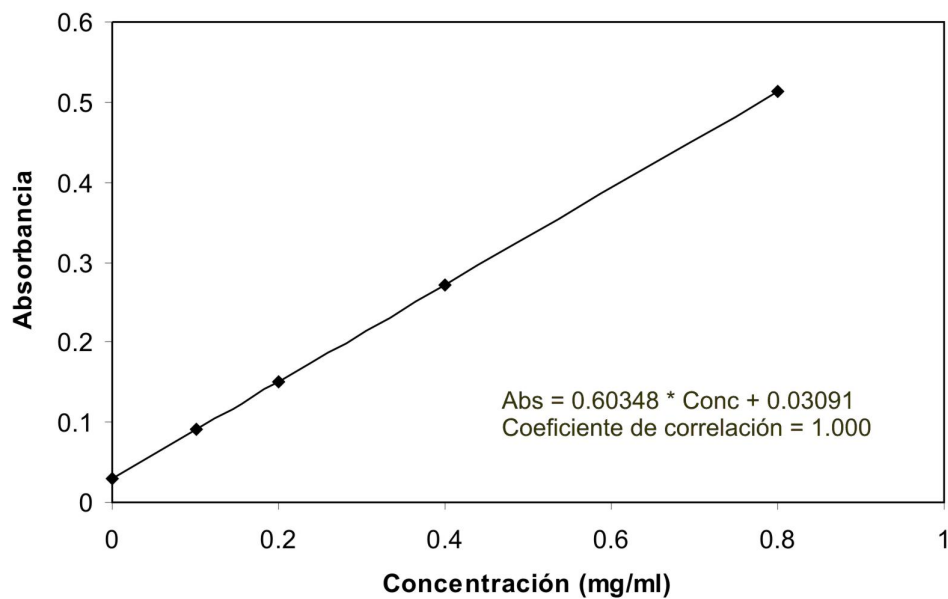


Figura 3.3: Curva de calibración

3.6. Referencias

- [1] Matsuyama, K., Mishima, K., Hayashi, K., Ishikawa, H., Matsuyama, H. and Harada, T. Formation of microcapsules of medicine by Rapid Expansion of a Supercritical Solution with a Nonsolvent. *J. of Applied Polymer Science* 2003, 89: 742-752.
- [2] Kalogiannis, C. G., Michailof, C. M. and Panayiotou, C.G. Microencapsulation of Amoxicillin in Poly (L-lactic acid) by Supercritical Antisolvent Precipitation. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006, 45: 8738-8743.
- [3] Chen, A. Z., Li, Y., Chau, F. T., Lau, T. Y., Hu, J.Y., Zhao, Z. and Mok, D. K. Microencapsulation of puerarin nanoparticles by poly(L-lactide) in a supercritical CO_2 process. *Acta Biomaterialia* 2009, 12: 26-32.

CAPÍTULO 4

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Equilibrio de fases

4.1.1. Sistemas ternarios

Los diagramas de equilibrio, concentración de coQ_{10} , PEG y PLA vs presión, se muestran en las figuras 4.1 a la 4.7. En estos diagramas se muestran las curvas de equilibrio usando como cosolventes etanol y acetona para la coQ_{10} y el PEG y diclorometano (DCM) para el PLA, por arriba de estas curvas existe una fase estable en la solución supercrítica y por debajo dos fases. En todos los diagramas se observa que un incremento en la concentración del material produce un aumento en la presión necesaria para mantener el sistema estable en una fase homogénea.

En las figuras 4.1 a la 4.3, donde se muestra la solubilidad de la coQ_{10} se observa el efecto de cuatro variables en el equilibrio de fases del sistema supercrítico, dichas variables son: cambio de cosolvente (etanol y acetona), concentración de cosolvente (23.6 % mol y 15.2 % mol), concentración de coQ_{10} (0.5 - 3 % w) y temperatura (35, 45 y 55 °C). En cuanto al cosolvente, la acetona presenta un efecto favorable en la solubilidad de la coQ_{10} comparado al etanol, requiriéndose de menor presión para solubilizar una misma cantidad de coQ_{10} , este efecto se puede observar para ambas concentraciones del cosolvente; en el caso de 23.6 % mol de cosolvente y 2.2 % w de coQ_{10} , con el uso de acetona es necesaria una presión de 90 bar para lograr una fase homogénea, mientras que con el uso de etanol se requiere de 160 bar para alcanzar el equilibrio en el sistema supercrítico; en el caso de 15.2 % mol de cosolvente de igual forma se observa un incremento en la presión necesaria para mantener el sistema en una fase homogénea para una misma concentración de coQ_{10} , con el uso de etanol respecto a la acetona; para este porcentaje

de cosolvente y una concentración de 1 % w de coQ_{10} el punto nube encontrado fue de 125 y 166 bar con el uso de acetona y etanol, respectivamente (ver cuadro 4.1).

Comparando los diagramas de las figuras 4.1 y 4.2 se observa que la disminución en la concentración del cosolvente es inversamente proporcional a la presión requerida para mantener el sistema en una sola fase, es decir, a medida que se disminuye la concentración del cosolvente en el sistema supercrítico, se requiere mayor presión para estabilizar el sistema. Se puede observar que con una concentración de 23,6 % mol de etanol y 3.1 % w de coQ_{10} se requiere alrededor de 200 bar de presión para mantener el sistema en una sola fase, mientras que con 15.2 % mol de etanol y aproximadamente la misma presión solo es posible solubilizar 1.25 % w de coQ_{10} .

La concentración de la coQ_{10} también juega un papel importante en el equilibrio de fases, a mayor concentración, se requiere mayor presión para alcanzar una fase homogénea en el sistema supercrítico, con el uso de 23.6 % mol de cosolvente existe un incremento de aproximadamente 50 bar para un aumento en la concentración de la coQ_{10} de 0.75 % w. Con el uso de 15.2 % mol de etanol se observa un incremento de 145 bar al pasar de una concentración de coQ_{10} de 0.58 a 1.25 % w (ver cuadro 4.1).

Finalmente, la figura 4.3 muestra el efecto de la temperatura en la solubilidad de la coQ_{10} , con el uso de 15.2 % mol de acetona donde se observa que a mayor temperatura para una concentración fija de coQ_{10} y cosolvente es necesaria mayor presión para mantener el sistema en una fase homogénea, el incremento de temperatura de 35 a 45 y 55 °C presenta un aumento de aproximadamente 20 y 25 bar en el punto de nube.

Con el uso de DCM como cosolvente la coQ_{10} es soluble en todo el intervalo de concentración y temperaturas estudiadas, siendo estable a cualquier condición señalada.

% Cosolvente	Etanol		Acetona	
	coQ_{10} (% w)	P (bar)	coQ_{10} (% w)	P (bar)
15.2 %mol	0.58	104	0.55	87
	1	166	1	125
	1.25	204	1.2	145
	1.35	221	1.3	159
23.6 %mol	1.6	117	1.5	57
	2.4	163	2.2	90
	3.1	214	3	138

Cuadro 4.1: Punto de nube del sistema $coQ_{10}-CO_2$ -cosolvente a $35^\circ C$

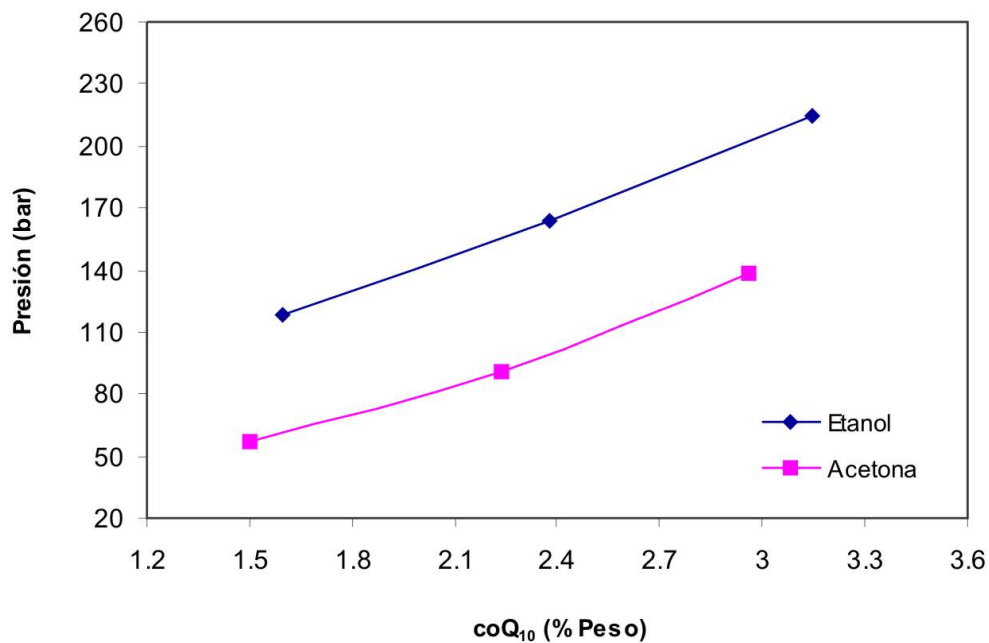


Figura 4.1: Solubilidad de la coQ_{10} con 23.6 % mol de cosolventes a $35^\circ C$.

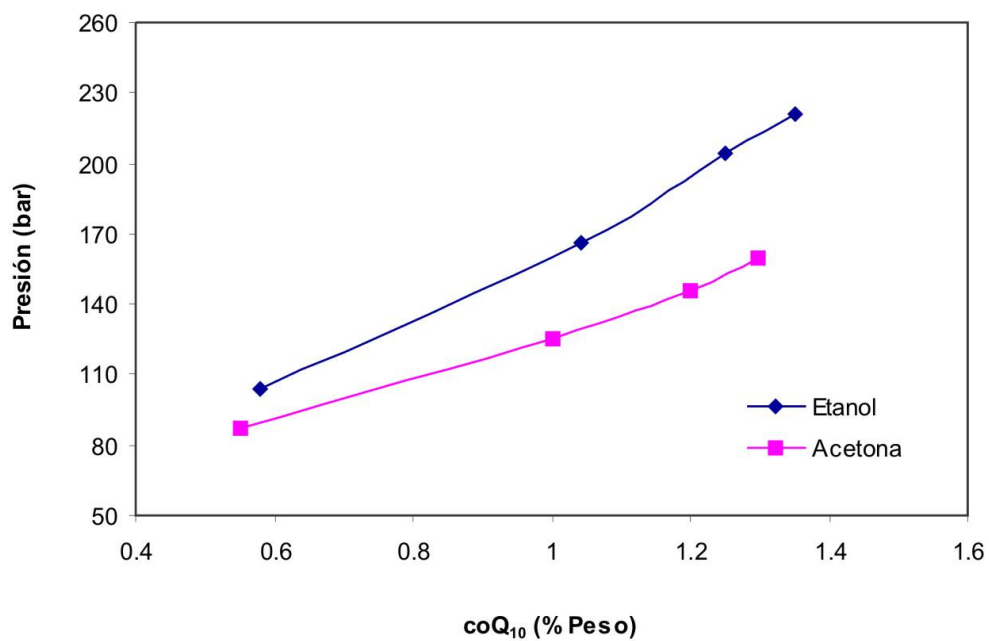


Figura 4.2: Solubilidad de la coQ₁₀ con 15.2% mol de cosolventes a 35°C.

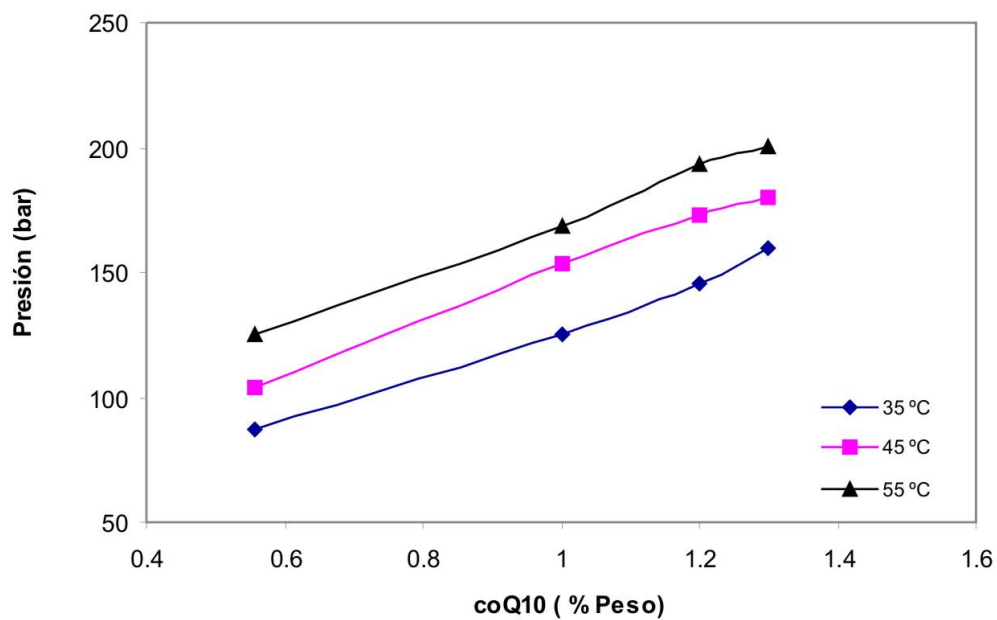


Figura 4.3: Solubilidad de la coQ₁₀ con 15.2% mol de acetona a 35, 45 y 55°C.

En los resultados obtenidos del PEG, el etanol presenta un efecto favorable en la solubilidad respecto a la acetona, pues es evidente que aún con un porcentaje menor de éste en el sistema supercrítico es necesario una presión menor que en caso de la acetona para encontrar una sola fase (figuras 4.4 y 4.5). Usando etanol como cosolvente fue posible trabajar con una relación 80/20 CO_2 /etanol, lo que equivale a 19.2 % mol de etanol en el sistema, en este caso fue necesaria una presión de 250 bar para mantener el sistema en una sola fase con la concentración de 5 % w de PEG, por otro lado, con el uso de la acetona como cosolvente, solo se logró llegar a una relación 70/30 CO_2 /acetona (24.5 % mol acetona) e incluso con esta relación se requiere de una presión muy elevada (> 450 bar) para mantener el sistema en una sola fase con 5 % w de PEG.

Tomando como referencia la concentración de 3 % w de PEG y $35^\circ C$, en el cuadro 4.2 y en la figura 4.4 se observa que para una concentración de 29 % mol de etanol se obtuvo un punto de nube de 78 bar mientras que a una concentración de 33.5 % mol de acetona es de 232 bar, es decir, un incremento de 154 bar con el uso de acetona respecto al etanol, de igual manera se observa un aumento de 169 bar con el cambio de 19.2 % mol de etanol a 24.5 % mol de acetona, en ambos casos a pesar de existir un porcentaje menor de etanol que de acetona es necesario un incremento en la presión para mantener el sistema en una fase homogénea con acetona.

Comparando la concentración de cosolvente, usando la misma concentración de PEG (3 % w) de igual manera se observa claramente el impacto que tiene esta variable en la solubilidad, en el caso del etanol fue necesaria una presión de 78 bar con una concentración de 29 % mol de cosolvente (figura 4.4) y 243 bar con 19.2 % mol (figura 4.5), es decir, fue necesario un incremento de 165 bar para alcanzar una fase estable con la disminución en la concentración del cosolvente; para las tres concentraciones de PEG, se observa que cuando la concentración de etanol disminuye de 29 % mol a 19.2 % mol se requiere de más del doble de presión para alcanzar una fase homogénea. Con la acetona y 3 % w de PEG se obtuvo el punto de nube en 232 y 412 con concentraciones de 33.5 y 24.5 % mol de cosolvente, respectivamente, es decir, un incremento de 180 bar.

La variable de la concentración de PEG de igual manera que las anteriores, también presenta un efecto en la presión necesaria para mantener el sistema en una fase, un incremento de concentración de PEG presenta un aumento en la presión, en todos los casos estudiados de concentración de cosolvente, por ejemplo en el caso del etanol a una concentración de 29 % mol de cosolvente a 1 % w de PEG la presión es de 64 bar y al 3 % de 78 bar (cuadro 4.2).

Por último, la figura 4.6 muestra el efecto de la temperatura en la solubilidad de PEG, con una concentración de 29 % mol de etanol como cosolvente, en este diagrama se observa un incremento en la presión a medida que se aumenta la temperatura. Con una concentración de 5 % w de PEG y 35 °C se requieren 109 bar de presión para lograr el equilibrio, mientras que a 45 °C, la presión incrementa a 150 bar y finalmente con 55 °C son necesarios 190 bar.

PEG (% peso)	Etanol (% mol)	Acetona (% mol)	Presión (bar)	
29	19.2	33.5	24.5	
1	64	162	146	293
3	78	243	232	412
5	110	251	269	> 400

Cuadro 4.2: Punto de nube del sistema PEG-CO₂-cosolvente a 35°C

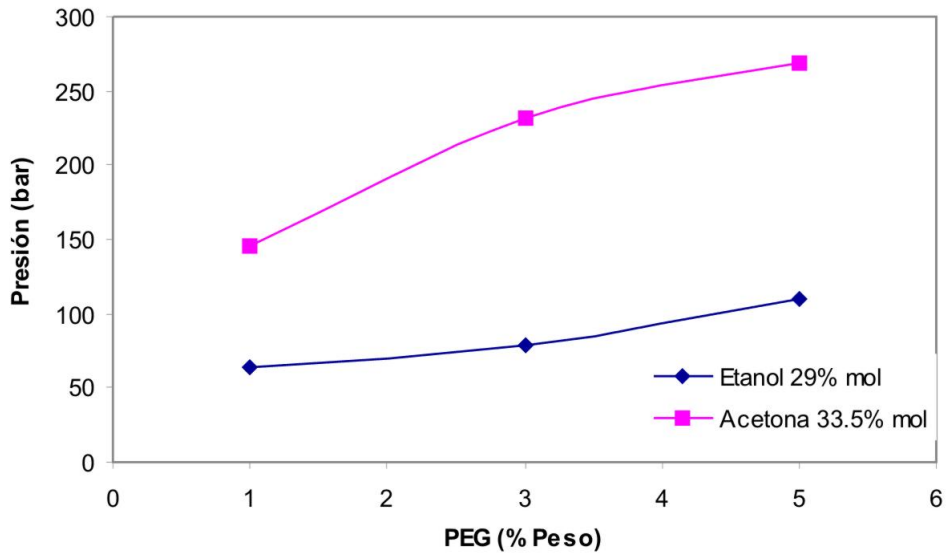


Figura 4.4: Solubilidad del PEG con 29 % mol de etanol y 33.5 % mol de acetona a 35°C

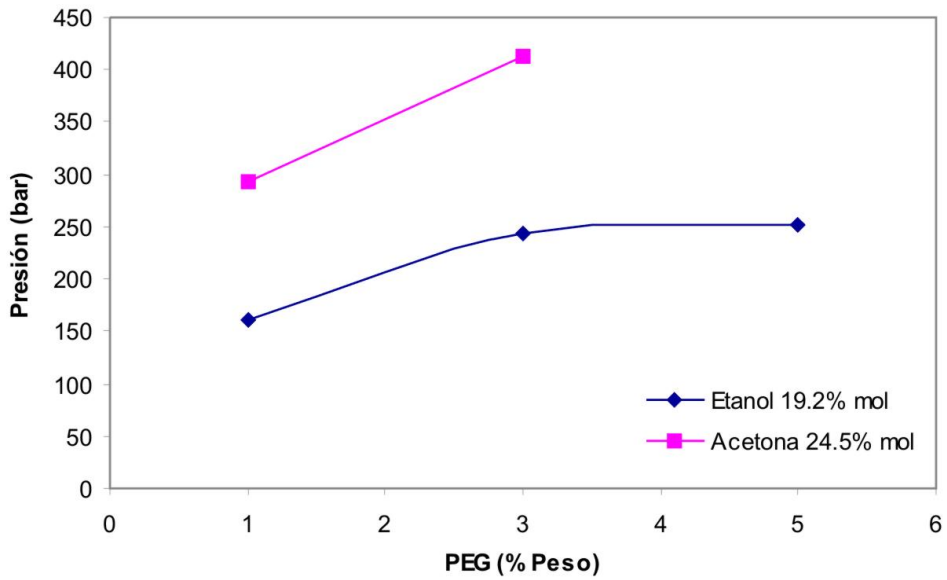


Figura 4.5: Solubilidad del PEG con 19.2 % mol de etanol y 24.5 % mol de acetona a 35°C

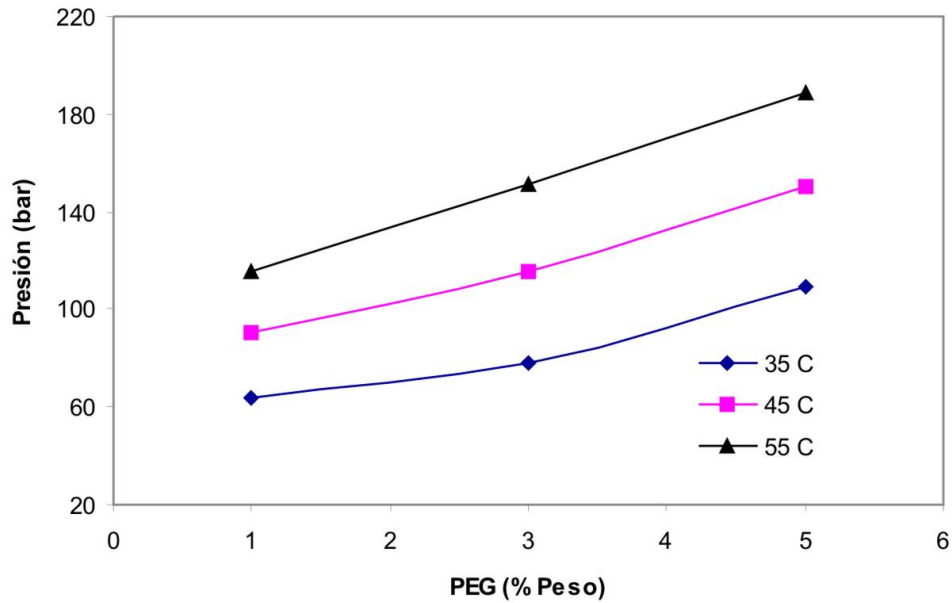


Figura 4.6: Solubilidad del PEG con 29 % mol de etanol a 35, 45 y 55 °C

En el caso de la solubilidad del PLA solo se reportan los resultados obtenidos con una concentración de 25.8 % mol de DCM debido a que con una concentración de 18.1 % mol de cosolvente en el sistema, es necesario una presión muy elevada para lograr el equilibrio, mayor de 450 bar, por lo tanto con este material encapsulante solo se observan dos variables en el equilibrio, las cuales son concentración de PLA y temperatura. La concentración del PLA presenta un efecto menos pronunciado comparado con el observado por el PEG y coQ_{10} , pues solo existe un ligero aumento de aproximadamente 5 bar al incrementar la concentración de 1 a 3 % w de PLA y de 3 a 5 % w. Sin embargo, el incremento de temperatura muestra un efecto más notable respecto al observado por la concentración, presentando así un incremento de aproximadamente 45 bar para un misma concentración de PLA, de esta forma tenemos para una concentración de 3 % w de PLA la presión necesaria para lograr el equilibrio es de 137, 182 y 227 bar para 35, 45 y 55°C, respectivamente.

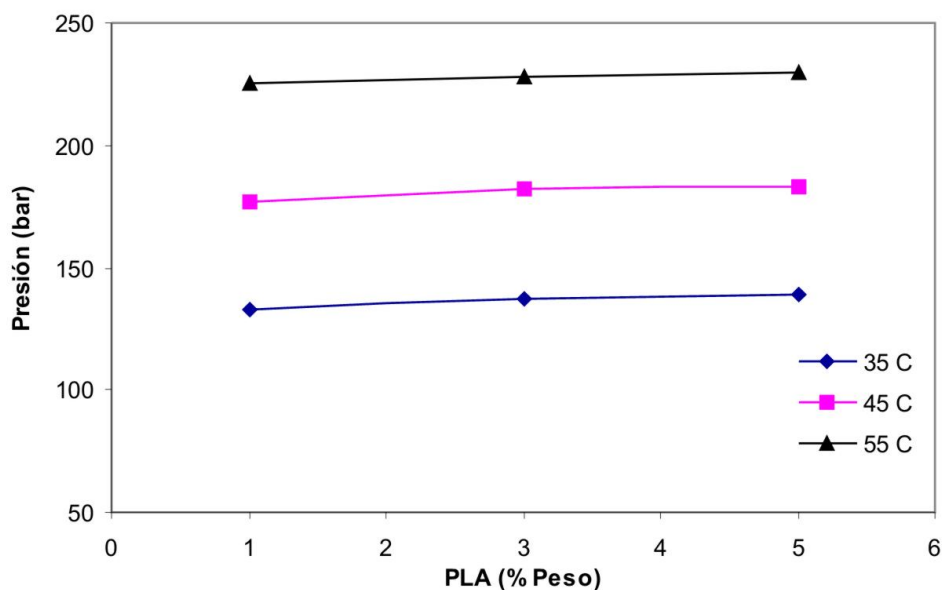


Figura 4.7: Solubilidad del PLA con 25.8% mol de diclorometano a 35, 45 y 55 °C

La solubilidad de estos materiales se ha probado con CO_2 supercrítico sin la adición de un cosolvente, resultando en todos los casos muy baja comparados con los resultados obtenidos en este estudio. En el caso de la coQ_{10} , Matias A. A. et al¹ han reportado la solubilidad en CO_2SC , los resultados obtenidos muestran que para solubilizar 1 mg de coQ_{10} a 31.85 °C y 222 bar, son necesarios 780 mg de CO_2 . La solubilidad más alta se registró a 39.85 °C y 262 bar, donde para solubilizar 1 mg de coQ_{10} se necesitan 451 mg de CO_2 . Para el PEG, Bryun² ha reportado el punto de nube usando 5 %w de PEG a diferentes temperaturas, en todos los casos los valores obtenidos son muy elevados, mayores de 2000 bar. En el caso del PLA, Kim et al³ han reportado la solubilidad en CO_2 en un intervalo de presión de 138 a 193 bar y 60 °C obteniendo una solubilidad de 0.0018% w de PLA para 138 bar y 0.0118% para 193 bar. Tom y Debenedetti (citado por Kim et al³) de igual forma han estudiado la solubilidad del PLA obteniendo valores muy similares a los reportados por Kim et al. Comparando estos resultados con los obtenidos en este trabajo, se puede observar un incremento de más de 50 veces en la solubilidad del PLA con la adición de 25.8% mol de DCM, pues a 55 °C se puede alcanzar una solubilidad de 1 % w de PLA a 225 bar y de 5% w a 229 bar (figura 4.7).

Resulta evidente el efecto de cosolvenencia en la solubilidad de estos tres materiales; este efecto, entendido como la relación entre la cantidad de soluto que puede solubilizarse con y sin cosolvente ha sido estudiado en un gran número de materiales, en todos los casos se ha concluido que para alcanzar una solubilidad dada es necesaria menor presión con la adición de un cosolvente en el sistema, es decir, aumenta la solubilidad del material en estudio. En el caso de la aspirina^{4,5} se ha observado un incremento en la solubilidad de 14 veces con la adición de 3 % mol de metanol o etanol y de 5 veces con la adición de acetona. Para el ácido 2-aminobenzoico,⁶ la adición de 3.5 % mol de metanol ha aumentado 620 % la solubilidad. De igual manera se ha estudiado este efecto con el colesterol⁷ y sus esteres⁸ usando metanol, acetona y hexano como cosolventes, 2-naftol y antraceno⁹ con etanol, acetona y ciclohexano como cosolventes y la p-aminobencenosulfonamida¹⁰ con acetona como cosolvente. El incremento de la solubilidad con la adición de un cosolvente se le ha atribuido a varias razones, entre ellas las interacciones que se dan entre el soluto y el cosolvente, habilidad de los cosolventes de formar puentes de hidrógeno con el soluto^{1,11} y el incremento de la entalpía con la adición de un cosolvente lo que hace al proceso menos exotérmico.¹²

4.1.2. Sistemas cuaternarios

Para el caso de los sistemas cuaternarios PEG-*coQ*₁₀-CO₂-Cosolvente y PLA-*coQ*₁₀-CO₂-DCM, el cuadro 4.3 muestra los experimentos realizados con sus respectivos puntos de nubes obtenidos. Se realizaron los experimentos con relaciones PEG/*coQ*₁₀ 2/1 y 1/1 con etanol y acetona como cosolvente, en ambos casos se usó una relación CO₂/cosolvente 70/30, esto en base a los resultados obtenidos previamente del estudio del equilibrio tanto de la *coQ*₁₀ como del PEG, pues como ya se mencionó anteriormente con una relación donde el cosolvente es menor a 30 % w es necesario una presión muy elevada para mantener el sistema en una sola fase, principalmente con el uso de la acetona. En el caso del PLA se realizó el equilibrio de fases con las mismas relaciones material encapsulante/*coQ*₁₀, es decir, PLA/*coQ*₁₀ 2/1 y 1/1, sin embargo, en este caso se llevaron a cabo con una relación CO₂/DCM 60/40, debido a que usando una cantidad menor de DCM se requieren presiones muy elevadas para mantener el sistema en una fase estable.

Experimento	PEG (% peso)	PLA (% peso)	coQ_{10} (% peso)	Cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente	Punto de nube (bar)
1	1	–	1	etanol		80
2	1	–	1	acetona	70/30	193
3	2	–	1	etanol		125
4	2	–	1	acetona		265
5	–	1	1	DCM	60/40	< 60
6	–	2	1	DCM		127

Cuadro 4.3: Equilibrio de fases de los sistemas encapsulante- coQ_{10} - CO_2 -cosolvente a $35^\circ C$

Analizando y comparando estos resultados con los obtenidos de cada uno de los materiales se puede observar que los puntos de nube de los sistemas cuaternarios PEG- coQ_{10} - CO_2 -Cosolvente son un promedio de los valores presentados de la coQ_{10} y del PEG. En el caso del experimento 1 se obtuvo un valor de 80 bar, mientras que en el resultado obtenido del PEG a esas condiciones fue de 64 bar y de la coQ_{10} , donde solo se tiene el valor con una concentración de 1.5 % w fue de 118, sin embargo, tomando en cuenta el comportamiento de los diagramas anteriores, que muestran un incremento en la presión conforme aumenta la concentración del material se puede concluir que el punto de nube de una concentración de 1 % w de coQ_{10} es menor que el de 1.5 % w, por consiguiente es comparable el valor obtenido del sistema cuaternarios con el promedio de ambos. En el experimento 2 donde se tiene la misma relación PEG/ coQ_{10} que en el primero y solo se cambia el cosolvente se obtuvo un punto de nube de 193 bar, lo cual era de esperarse que aumentara debido a que aunque en el caso del PEG aumentó y en la coQ_{10} disminuyó con el cambio del etanol por la acetona, en el primer caso el cambio fue más drástico, con un aumento de más de 200 bar, mientras que con la coQ_{10} se observó una disminución de alrededor de 60 bar. Con los experimento 3 y 4 se muestra el mismo comportamiento mostrado en la comparación de

los dos primeros: con una misma relación PEG/ coQ_{10} se observa el punto nube mayor usando acetona que usando etanol, esto es debido a que el sistema PEG/ coQ_{10} interactúa mejor con el etanol formando puentes de hidrógeno, lo que favorece a la solubilidad.

En el caso del equilibrio de fases del sistema cuaternario coQ_{10} -PLA- CO_2 -DCM presenta un efecto interesante, pues mientras que en el equilibrio del sistema PLA- CO_2 -DCM con una concentración de 1% w de PLA se obtiene un punto de nube de 132 bar a 35 °C, en el sistema cuaternario con la misma concentración de PLA y 1% w de coQ_{10} el sistema se mantiene estable en una sola fase aún con una presión de 60 bar e incluso con una relación 2/1 PLA/ coQ_{10} el punto de nube es 5 bar menor al obtenido del 1% w de PLA. Este efecto ocurre debido a que la coQ_{10} presenta una buena solubilidad en CO_2 con la adición de DCM manteniendo una fase estable a presiones muy bajas, por lo tanto tiene un impacto positivo en la solubilidad del sistema cuaternario.

4.2. Micronización

Con el objetivo de comparar la morfología de las microcápsulas PEG/ coQ_{10} y PLA/ coQ_{10} con cada una de las micropartículas de estos materiales, se realizó la micronización de cada uno de ellos, con base en el diseño experimental previamente mostrado en el capítulo anterior. Los resultados muestran morfologías muy diferentes para cada material, la figura 4.8 muestra las micrografías comparativas. La coQ_{10} presenta una morfología en forma de hojuelas, en el caso del PEG son esféricas uniformes de menor tamaño que en el caso de la coenzima, mientras que el PLA presenta micropartículas esféricas aglomeradas.

Los experimentos realizados de micronización de los tres materiales se muestran en el cuadro 4.4 con los resultados del diámetro de partícula y desviación estándar.

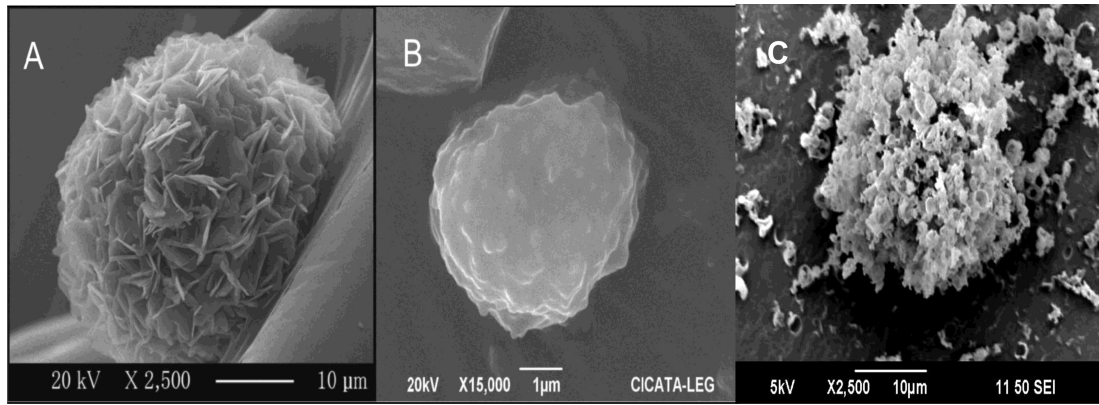


Figura 4.8: Micrografías de la micronización de A) coQ_{10} , B) PEG y C) PLA

Experimento	Material	Concentración (% peso)	Cosolvente	Relación CO_2 /cosolvente	Diámetro Promedio (μm)	Desviación Estándar
1	coQ_{10}	0.5	Acetona	50/50	3.52	1
2	coQ_{10}	1	Acetona	80/20	5.82	3.48
3	coQ_{10}	1	Etanol	70/30	4.76	2.36
4	PEG	1	Etanol	50/50	3.39	0.76
5	PEG	5	Etanol	50/50	4.78	0.93
6	PEG	1	Etanol	80/20	3.90	0.85
7	PEG	5	Etanol	80/20	5.23	0.41
8	PEG	1	Acetona	60/40	3.42	0.67
9	PEG	1	Acetona	70/30	3.99	2.50
10	PLA	1	DCM	60/40	2	

Cuadro 4.4: Resultados obtenidos de la micronización de coQ_{10} , PEG y PLA a $35^\circ C$

Para los primeros tres experimentos, correspondientes a la coQ_{10} se usaron concentraciones de 0.5 y 1 % w y con relaciones CO_2 /acetona 50/50 y 80/20 y CO_2 /etanol 50/50, estos experimentos se realizaron a presión y temperatura constante de 200 bar y 35 °C, respectivamente, con la certeza de tener un sistema en una fase estable previo a la expansión, esto con base a los resultados de los estudios de equilibrio realizados.

En el caso del PEG se realizó la micronización con dos de las concentraciones previamente estudiadas en el equilibrio de fases: 1 y 5 % w usando relaciones CO_2 /etanol de 50/50 y 80/20. En los experimentos 8 y 9 del cuadro 4.4, donde se usó acetona como cosolvente solo se trabajó con 1 % w de PEG con relaciones CO_2 /acetona 60/40 y 70/30, esto debido a que con una concentración de 5 % w de PEG la presión necesaria para alcanzar una sola fase es muy elevada. Las condiciones de operación de presión y temperatura fueron de 311 bar y 35 °C, respectivamente para cada una de las micronizaciones del PEG, en el caso de la presión, ésta se aumentó aproximadamente 60 bar respecto al valor mayor obtenido del punto de nube de los experimentos de equilibrio, el cual pertenece a la concentración de 5 % w PEG con una relación CO_2 /etanol 80/20, este incremento se realizó para garantizar una fase estable en el sistema supercrítico en la pre-expansión .

Con el PLA se llevó a cabo un experimento de micronización con una relación CO_2 /DCM 60/40 y 1 % w de PLA a una presión de 275 bar y temperatura de 35 °C.

4.2.1. Efecto de las variables del proceso en la morfología y tamaño de partícula

Los cambios presentados en la morfología tanto de la coQ_{10} como del PEG respecto al cosolvente fue mínimo, en general la morfología de coQ_{10} es en forma de hojuela para ambos cosolventes (figura 4.9). En cuanto al PEG, en general las partículas son esféricas uniformes, la figura 4.10 muestra la morfología del PEG micronizado con ambos cosolventes.

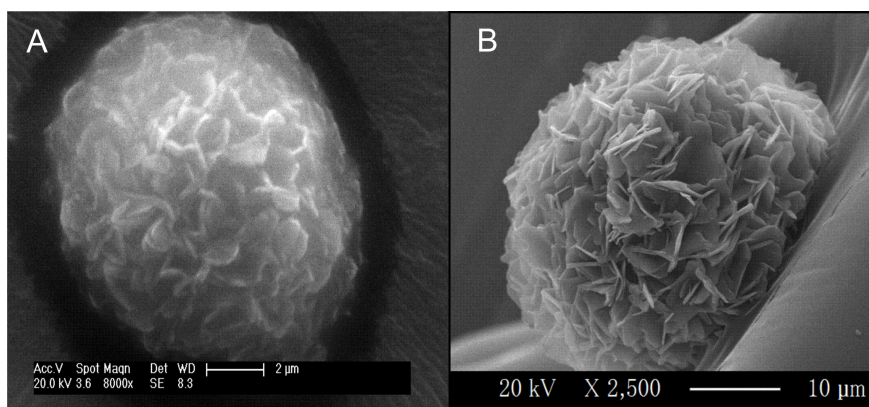


Figura 4.9: Micropartículas de coQ_{10} A) Micronizada con etanol, A) Micronizada con acetona

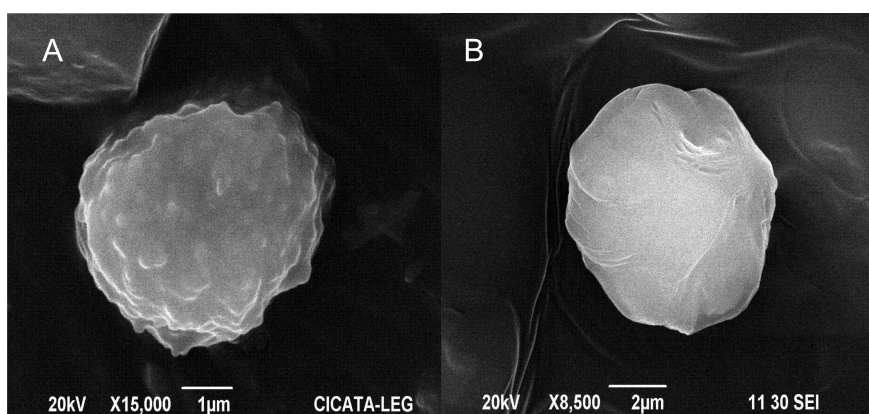


Figura 4.10: Micropartículas de PEG A) Micronizado con etanol, B) Micronizado con acetona

En cuanto al tamaño de partícula, se observa que un incremento en la concentración del material produce un aumento en el tamaño. En el caso de la coQ_{10} presenta un diámetro promedio de $3.52 \pm 1 \mu\text{m}$ con una concentración de 0.5% w, mientras que para una concentración de 1% w incrementa a $5.82 \pm 3.48 \mu\text{m}$, esto con el uso de acetona como cosolvente, se observa también un incremento en la desviación estándar provocado por una mayor distribución en el tamaño de partícula. En el caso del etanol el tamaño de partícula y su distribución resulta menor ($4.76 \pm 2.36 \mu\text{m}$) con respecto a la acetona a la misma concentración de coQ_{10} del 1% w.

En el caso del PEG, con el uso de etanol como cosolvente, se observa que la concentración de PEG mostró una influencia mayor en el tamaño de partícula con respecto a la influencia producida por la relación CO_2 /etanol, se puede observar que para una concentración de 1%w

de PEG el tamaño de partícula aumenta solo $0.51 \mu\text{m}$ con el cambio de la relación 50/50 CO_2 /etanol al de 80/20, mientras que para la concentración 5% w de PEG con el mismo cambio de relación CO_2 /etanol el incremento de partícula es de $0.45 \mu\text{m}$. Por otro lado, al aumentar la concentración de PEG a 5% w dentro de una misma relación CO_2 /etanol, el incremento de tamaño de partícula es más notorio, de $1.39 \mu\text{m}$ y $1.33 \mu\text{m}$ para las relaciones CO_2 /etanol 50/50 y 80/20, respectivamente. En general, la concentración del material tiene una mayor influencia en el tamaño de partícula independiente del cosolvente a utilizar (ver figura 4.11), con un ligero efecto de la relación CO_2 /cosolvente, donde un decremento de éste favorece la reducción del tamaño de partícula. En el caso de la cosolvenencia no se tiene una influencia significativa (figura 4.12).

Bajo todas las condiciones de operación, el diámetro de partículas obtenidas de PEG fue menor de $10 \mu\text{m}$, mientras que con otros métodos de micronización las partículas precipitadas han sido de mayor tamaño, con el proceso donde el CO_2 es usado como antisolvente (SAS) se han reportado partículas con diámetro de $30 \mu\text{m}$.¹³

En cuanto a la morfología, la tendencia fue similar a la observada por el tamaño, es decir se observó un cambio mayor con la modificación de concentración de PEG que el presentado con la variación de la relación CO_2 /etanol. En la figura 4.13 se muestran las micrografías comparativas de ambas concentraciones de PEG y ambas relaciones CO_2 /etanol. En la concentración 5% w PEG tanto para la relación CO_2 /etanol 50/50 como para la relación CO_2 /etanol 80/20 se observa aglomeración de partículas (figura 4.13B y D).

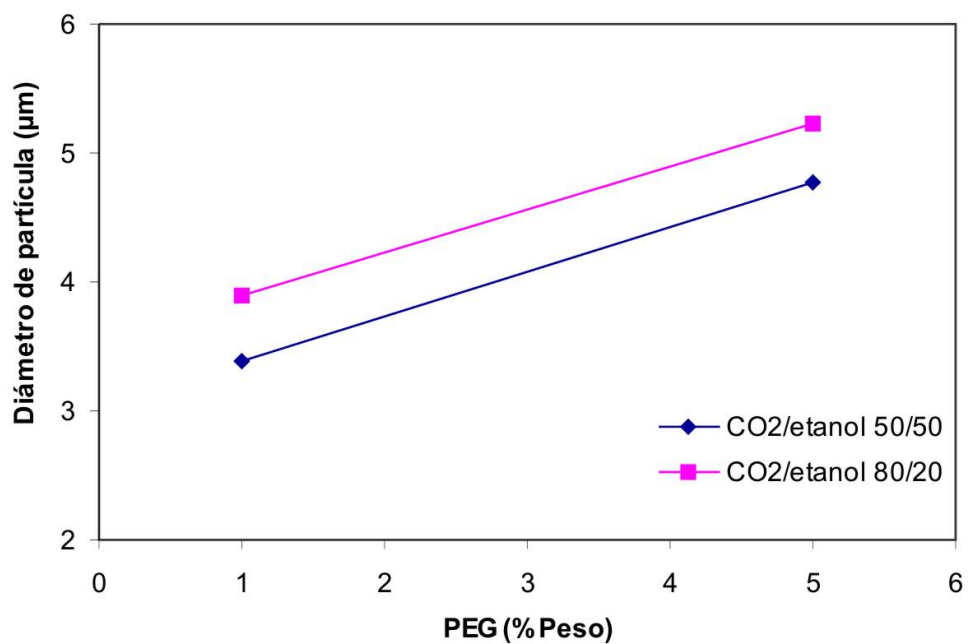


Figura 4.11: Efecto de la concentración de PEG en el tamaño de partícula

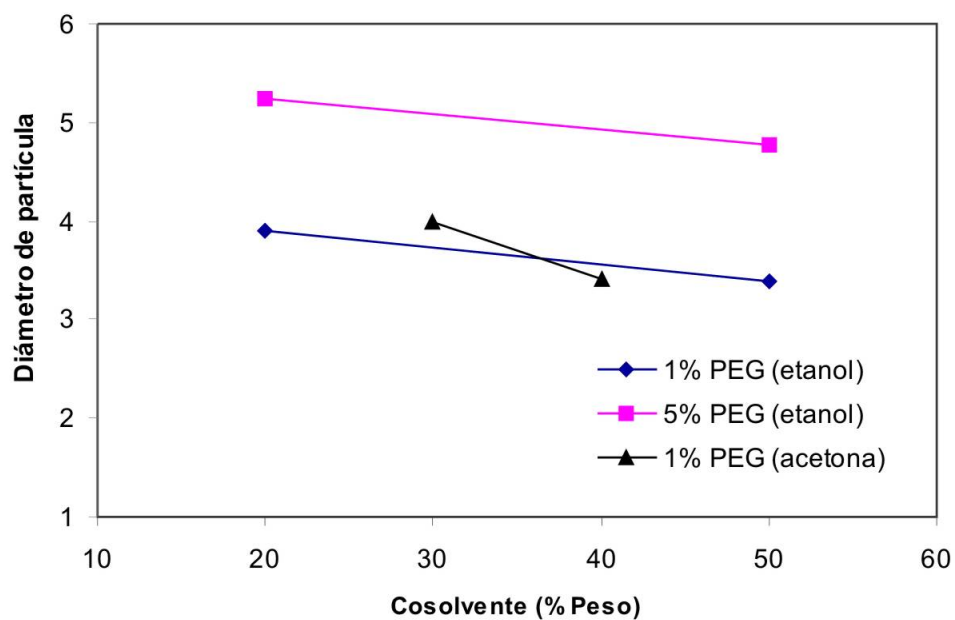


Figura 4.12: Efecto de la concentración de cosolvente en el tamaño de partícula

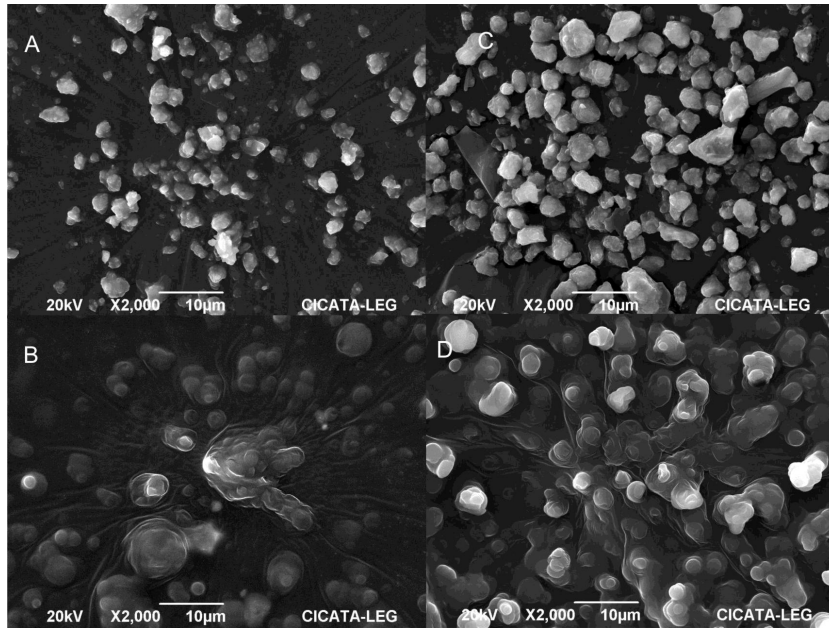


Figura 4.13: Micropartículas de PEG A) 1%w PEG, B) 5%w PEG, ambos CO_2 /etanol 50/50, C) 1%w PEG, D) 5%w PEG, ambos CO_2 /etanol 80/20

En la micronización del PLA se observa que la precipitación forma partículas con un tamaño aproximado de $2 \mu m$ con tendencia a aglomerarse, en algunos casos para formar redes o esferas de mayor tamaño, estos dos morfologías se muestran en la figura 4.14 A y B, respectivamente. La aglomeración de partículas en la precipitación del PLA ha sido reportada con el uso de RESS sin la adición de un cosolvente por Kim et al³ y mediante SAS con DCM como solvente por Kalogiannis et al¹⁴, en ambos casos con un diámetro de aproximadamente de $2 \mu m$.

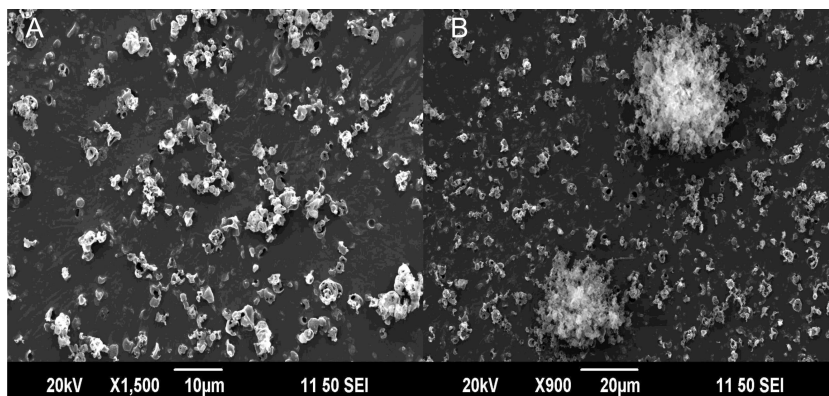


Figura 4.14: Micropartículas de PLA con DCM como cosolvente.

4.3. Microencapsulación

Las coprecipitaciones PEG-*coQ*₁₀ y PLA-*coQ*₁₀ fueron posibles mediante la técnica RESS gracias a que en el primer caso ambos materiales fueron solubles en *CO*₂-etanol y *CO*₂-acetona mientras que el sistema PLA-*coQ*₁₀ fue soluble en *CO*₂-DCM. Los experimentos realizados de microencapsulación se muestran en el cuadro 4.5, con el tamaño de partícula y su respectiva desviación estándar, todos se realizaron a una presión de 275 bar, una relación *CO*₂/cosolvente de 70/30 con el uso de PEG y de 60/40 con PLA.

Experimento	PEG (% peso)	PLA (% peso)	<i>coQ</i> ₁₀ (% peso)	Cosolvente (30 % peso)	Diámetro promedio (μm)	Desviación Estándar
1	2	–	1	Acetona	8.38	3.38
2	1	–	1	Acetona	7.18	3.62
3	1	–	0.5	Acetona	5.81	2.80
4	0.5	–	0.5	Acetona	4.60	2.22
5	2	–	1	Etanol	6.45	2.12
6	1	–	1	Etanol	5.42	3.57
7	1	–	0.5	Etanol	4.76	2.04
8	0.5	–	0.5	Etanol	4.22	1.86
9	–	2	1	DCM	3.31	0.84
10	–	1	1	DCM	2.76	0.72
11	–	1	0.5	DCM	2.25	0.51

Cuadro 4.5: Resultados obtenidos de la microencapsulación a 35 °C

4.3.1. Efecto de las variables del proceso en la morfología y tamaño de partícula

Las variables estudiadas en la microencapsulación fueron la relación encapsulante/ coQ_{10} y cambio del cosolvente en el sistema supercrítico. La relación CO_2 /cosolvente se mantuvo constante debido a que como se observó en los resultados de la sección anterior, ésta no mostró influencia significativa en la morfología y tamaño de partícula, por otro lado aunque el cambio de cosolvente tampoco mostró un cambio significativo en la caracterización de las partículas se eligió realizar los experimentos para las microcápsulas PEG/ coQ_{10} con la finalidad de identificar si existe alguna relación con el estudio del equilibrio de los sistemas cuaternarios previamente descritos.

Efecto de la relación encapsulante/ coQ_{10}

Las figuras 4.15 y 4.16 muestran las morfologías obtenidas de las microcápsulas PEG/ coQ_{10} con el uso de acetona y etanol como cosolvente, respectivamente. En el caso de la relación PEG/ coQ_{10} 1/1, con ambos cosolventes, las microcápsulas presentan morfologías similares a las micropartículas de coQ_{10} (forma de hojuela, mostradas en la sección anterior), lo que indica que usando esta relación PEG/ coQ_{10} , el PEG no logra encapsular a la coQ_{10} , además, con esta misma relación PEG/ coQ_{10} se observan microcápsulas esféricas con partículas de menor tamaño adheridas a éstas (figura 4.15b y 4.16a) esto puede ser debido a que el diámetro de partícula del PEG micronizado es más pequeño que el de la coQ_{10} , por lo tanto, al momento de la precipitación simultánea el PEG no logra envolver a la partícula de coQ_{10} en una capa uniforme, por lo tanto, por la afinidad que existe entre ambos tiende a adherirse en forma de partículas. En las demás relaciones PEG/ coQ_{10} las hojuelas tienden a desvanecerse, mostrando una morfología intermedia entre las micropartículas de la coQ_{10} y del PEG.

Respecto al tamaño de partícula se muestra un incremento al aumentar la concentración de PEG con una misma concentración de coQ_{10} , este fenómeno fue observado por Kim et al³ y Matsuyama et al,¹⁶ los cuales concluyeron que la distribución de tamaño de partícula puede ser controlada por el cambio en la concentración del polímero, siendo esta variable la de mayor

influencia en el tamaño de partícula, con respecto al efecto obtenido por otras variables como fue el caso de la temperatura, velocidad de flujo y peso molecular del polímero.

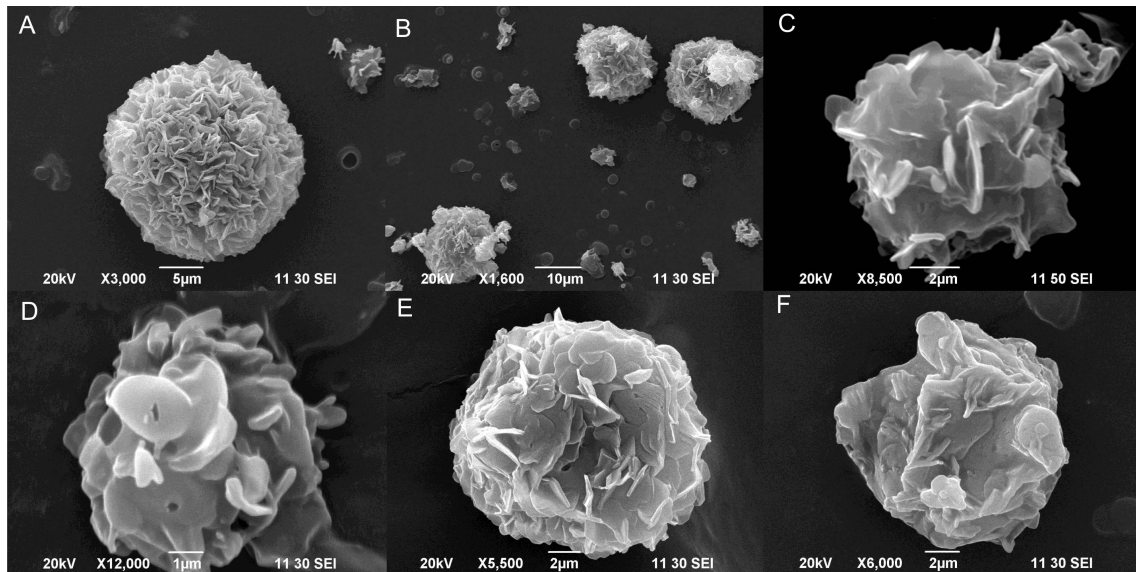


Figura 4.15: Microcápsulas PEG/*coQ*₁₀, con acetona como cosolvente. Relación PEG/*coQ*₁₀ A y B) 1/1, C) 0.5/0.5, D) 2/1, E y F) 1/0.5

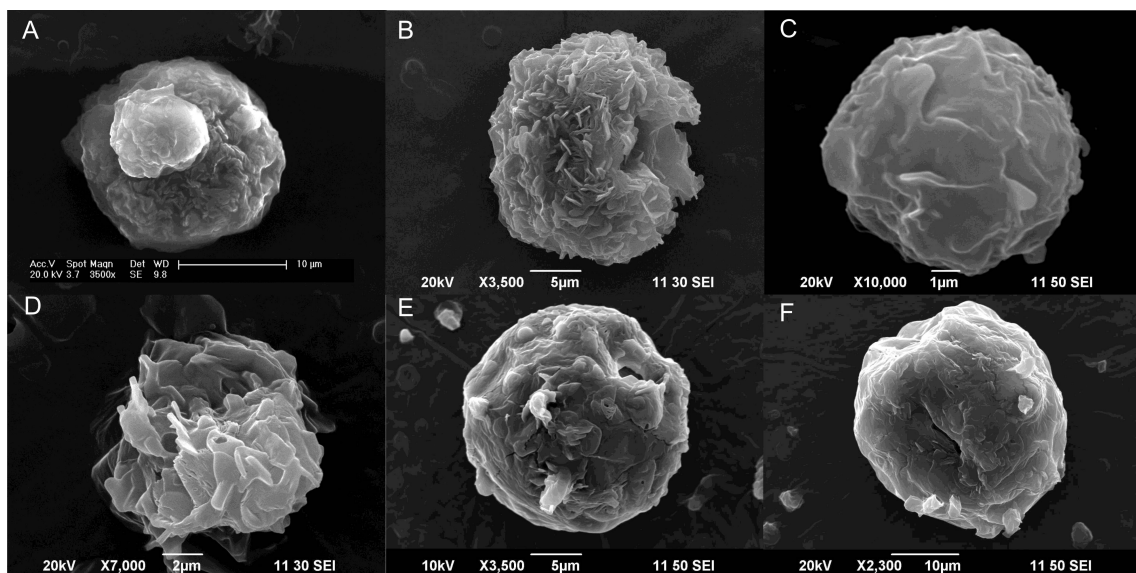


Figura 4.16: Microcápsulas PEG/*coQ*₁₀, con etanol como cosolvente. Relación PEG/*coQ*₁₀ A y B) 1/1, C) 0.5/0.5, D) 2/1, E y F) 1/.5

Las figuras 4.17 y 4.18 muestran la distribución de tamaño de las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ con acetona y etanol como cosolvente, respectivamente. De acuerdo al análisis de varianza con un nivel de confianza del 95 %, el diámetro promedio de cada una de las relaciones PEG/*coQ*₁₀ es significativamente diferente; con ambos cosolventes se observa que para una misma proporción de ambos materiales, el diámetro promedio y la distribución de tamaño incrementa al aumentar la concentración de los materiales, es decir, el diámetro y la desviación estándar es menor para la relación PEG/*coQ*₁₀ 0.5/0.5, respecto a la relación 1/1, el mismo efecto se observa cuando la proporción de PEG es el doble, respecto a la *coQ*₁₀.

En cuanto a las microcápsulas PLA/*coQ*₁₀, el efecto de la relación PLA/*coQ*₁₀ es menor tanto en la morfología como en el tamaño, respecto al observado con la relación PEG/*coQ*₁₀. En este caso, para las tres relaciones estudiadas se observan morfologías esféricas aglomeradas formando una red, estas morfologías se han observado en el encapsulado de otros materiales con PLA, como es el caso del fitosterol,¹⁶ la comparación de estas morfologías se puede apreciar en la figura 4.19, donde A fue obtenida de la encapsulación de la *coQ*₁₀, con una relación PLA/*coQ*₁₀ 1/1 y B del fitosterol. En el caso de la relación 2/1 de igual forma fueron observadas las microcápsulas en forma esférica, este tipo de morfologías se pueden observar en la figura 4.20

En las microcápsulas PLA/*coQ*₁₀ se observa morfologías similares a las micropartículas de PLA, mientras que la morfología de la *coQ*₁₀ (forma de hojuelas) no está presente, por lo que parece ser que este polímero es un buen material encapsulante para la *coQ*₁₀.

Tanto en la relación PEG/*coQ*₁₀ como PLA/*coQ*₁₀ se observa que un incremento en la concentración de los polímeros produce un aumento en el diámetro de partícula, sin embargo, las microcápsulas PLA/*coQ*₁₀ presentan un tamaño menor y una distribución de tamaño más estrecha con respecto a las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀. La figura 4.21 muestra la distribución de tamaño de cada una de las relaciones PLA/*coQ*₁₀.

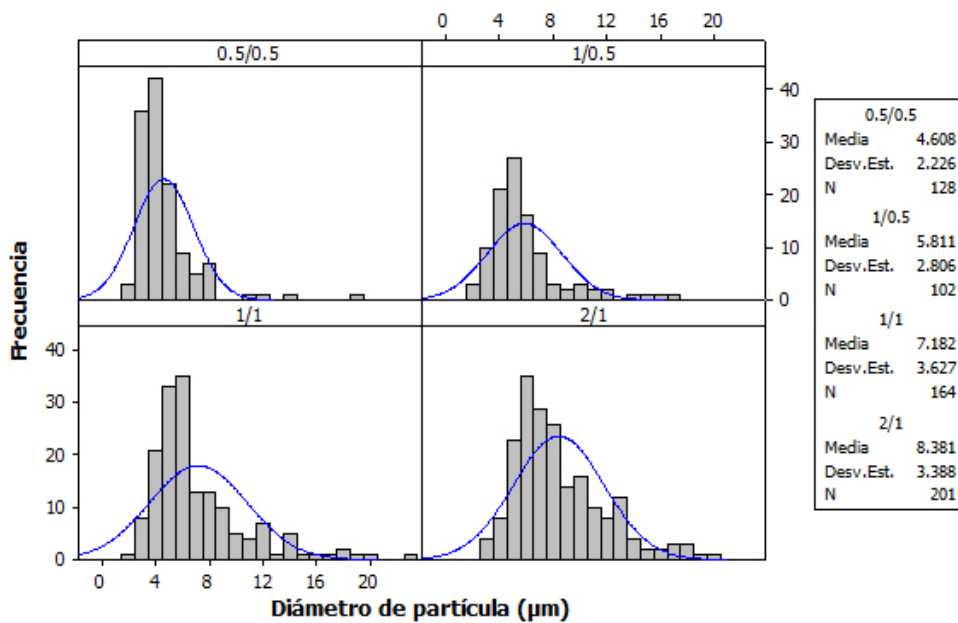


Figura 4.17: Distribución de tamaño de microcápsulas PEG/*coQ*₁₀, con acetona como cosolvente

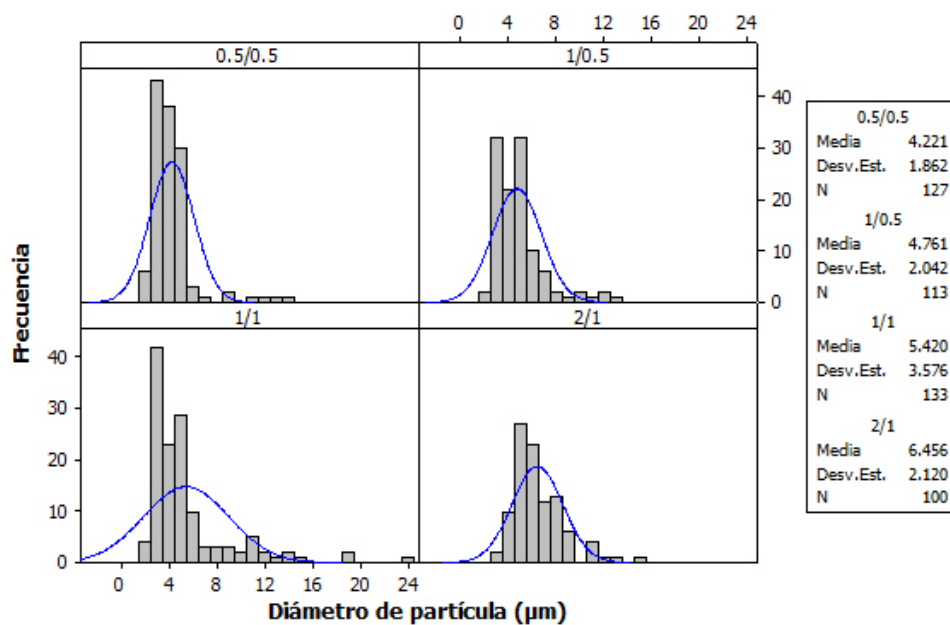


Figura 4.18: Distribución de tamaño de microcápsulas PEG/*coQ*₁₀, con etanol como cosolvente

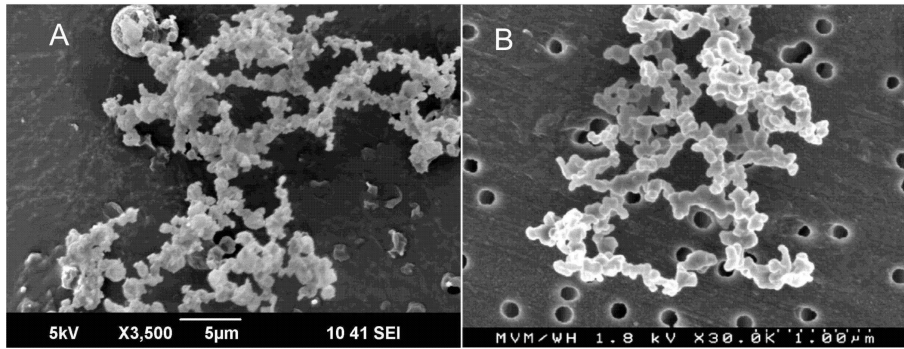


Figura 4.19: Microcápsulas comparativas A) PLA/*coQ*₁₀, B)PLA/fitosterol¹⁶

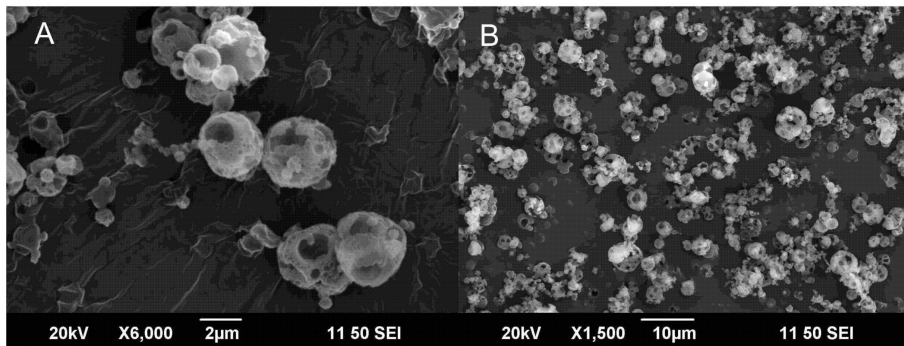


Figura 4.20: Microcápsulas de PLA/*coQ*₁₀. Relación PLA/*coQ*₁₀ 2/1

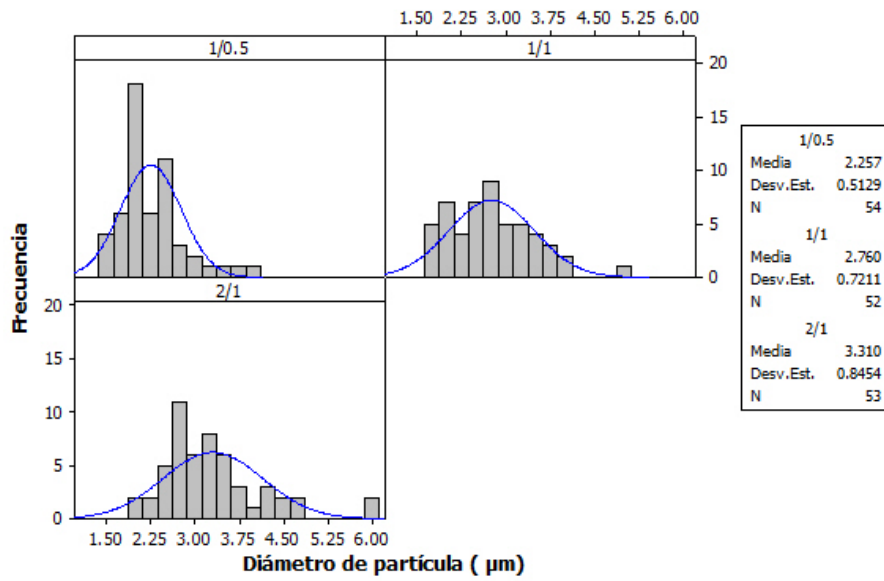


Figura 4.21: Distribución de tamaño de microcápsulas PLA/*coQ*₁₀

Efecto del cosolvente

El tamaño de las microcápsulas PEG/coQ₁₀ se ve influenciado por el cosolvente usado; para una misma relación PEG/coQ₁₀ es menor usando etanol con respecto al uso de acetona, este resultado se puede relacionar con el punto de nube del sistema cuaternario PEG-coQ₁₀-CO₂-cosolvente, el cual fue más bajo con el uso de etanol como cosolvente con respecto a la acetona, por lo tanto, al manejar una presión igual en la elaboración de microcápsulas para ambos cosolventes, el poder de solvatación del CO₂ es mayor en el caso del etanol, lo cual permite una extracción más rápida del cosolvente causando una mayor supersaturación, lo cual, a su vez genera un mayor número de núcleos, de esta forma, la mayor cantidad de soluto precipita en ésta primera etapa de nucleación, dejando solo una pequeña cantidad de material disponible para la etapa de crecimiento de los núcleos formados y por consiguiente se obtienen partículas de diámetro más pequeñas.¹⁴ Kalogiannis et al¹⁴ observaron una disminución del tamaño de partícula en la micronización del PLA al incrementar la presión, Kim et al³ también observaron éste fenómeno en las microcápsulas PLA/naproxeno. La figura 4.22 muestra el efecto del cosolvente en el tamaño de partícula para todos los casos estudiados, observándose que el PLA presenta menor tamaño y menor desviación estándar con respecto al PEG.

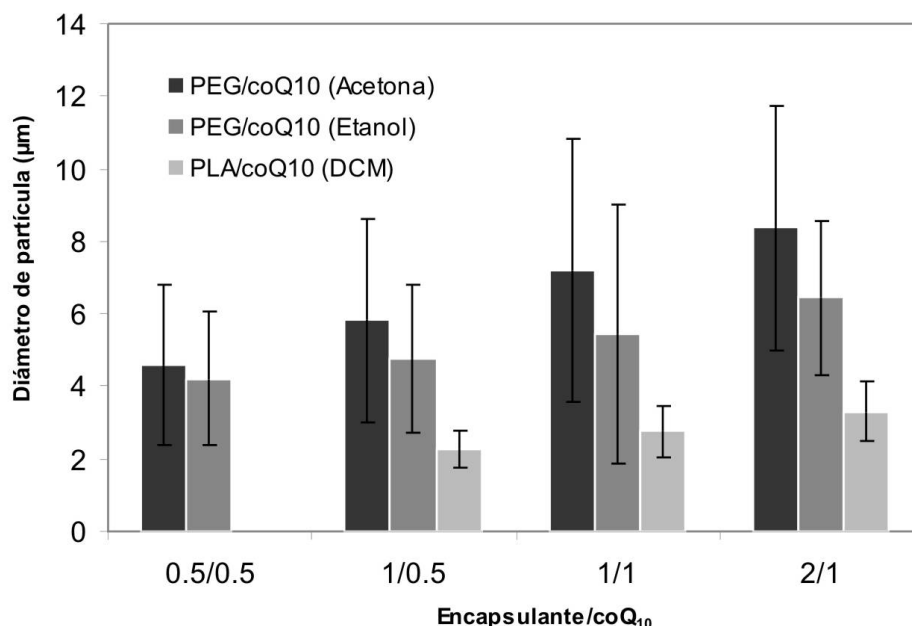


Figura 4.22: Efecto del cosolvente en el tamaño de partícula

En resumen, la relación encapsulante/ coQ_{10} influye tanto en la morfología como en el diámetro de partícula, mientras que el cosolvente solamente muestra relevancia en el diámetro de partícula.

4.4. Espectrofotometría Infrarroja

La espectrofotometría infrarroja (IR) es una herramienta muy sensible para el estudio de las interacciones moleculares, debido a su habilidad para detectar pequeñas perturbaciones de absorción IR, las cuales ocurren cuando se llevan a cabo dichas interacciones.¹⁷ Las figuras 4.23, 4.24 y 4.25 muestran los espectros de absorción de luz en IR de la coQ_{10} , PEG y PLA, respectivamente, tanto de los materiales micronizados como comerciales. Los espectros de los materiales micronizados son indispensables para identificar interacciones entre la coQ_{10} y el material encapsulante.

En el caso de la coQ_{10} (figura 4.23), se observa un pico a 2939 cm^{-1} correspondiente a la vibración de la unión C-H de alquenos, en 1640 cm^{-1} debido a la vibración de la unión C=C y en 1448 cm^{-1} presente por la flexión CH_3 . Para el PEG, los picos con mayor absorbancia son los correspondientes a la vibración de la unión C-H de alcanos con una longitud de onda de 2884 cm^{-1} y al de la tensión C-O presente en 1116 cm^{-1} . El PLA presenta dos picos correspondientes a la vibración de la unión C-H en 3000 y 2948 cm^{-1} ; el pico en 1762 cm^{-1} es debido a la vibración del enlace C=O, mientras que en 1093 cm^{-1} se encuentra el pico atribuido a la vibración de la unión C-O. Al comparar los espectros del material micronizado con su respectivo material comercial, no se observan desplazamientos significativos en ninguno de sus picos ($\pm 7\text{ cm}^{-1}$), lo que indica que no se presentan modificaciones en la estructura molecular de los materiales al emplear la técnica RESS.

Los cuadros 4.6 y 4.7 muestran las uniones presentes estudiadas en la estructura químicas de la coQ_{10} y de los materiales encapsulantes (PEG y PLA), respectivamente con su correspondiente longitud de onda. En el caso de la coQ_{10} se muestran cinco posibles uniones que pueden interactuar con el PEG o PLA.

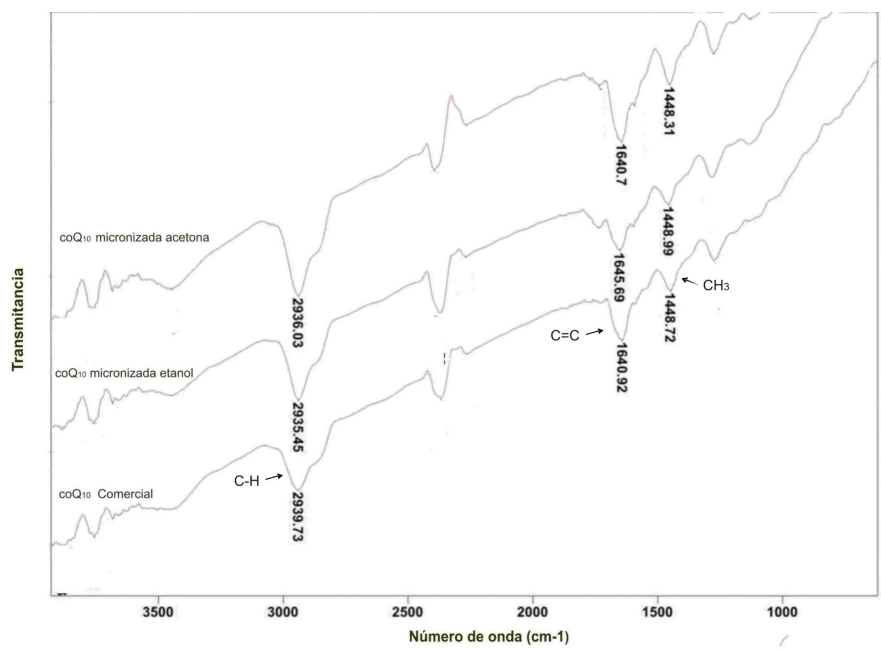


Figura 4.23: Espectros IR: coQ_{10} micronizada y comercial

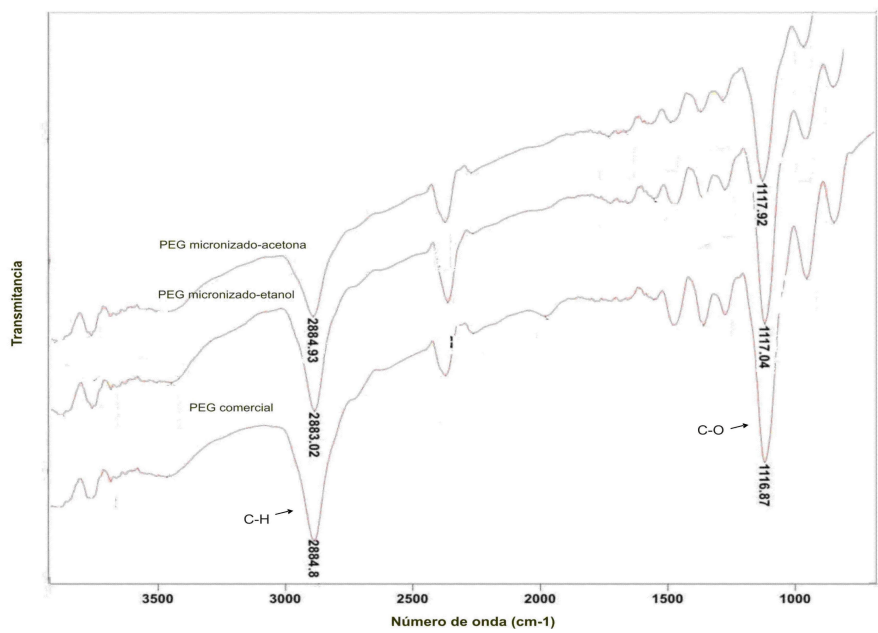


Figura 4.24: Espectros IR: PEG micronizado y comercial

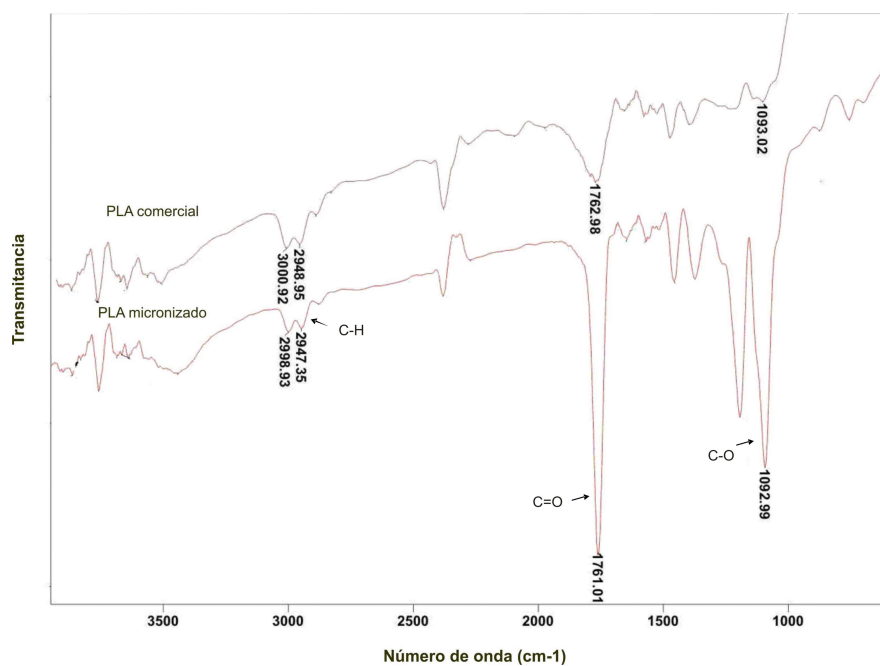
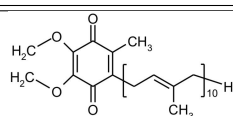


Figura 4.25: Espectros IR: PLA micronizado y comercial



*coQ*₁₀

Grupo y unión	Longitud de onda
---------------	------------------

1) Aromáticos

a) Tensión C-H 3050-3150

b) Tensión C=C 1475-1600

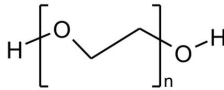
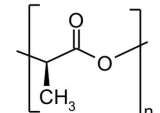
2) Alquenos

a) Tensión C-H 2900-3100

b) Tensión C=C 1600-1680

c) Flexión *CH*₃ 1375-1450

Cuadro 4.6: Grupos y uniones de la *coQ*₁₀ con sus respectivas longitudes de onda

 PEG		 PLA	
Grupo y unión	Longitud de onda	Grupo y unión	Longitud de onda
1) Éteres		1) Ésteres	
a) Tensión C-O	1000-1300	a) Tensión C-O	1000-1300
		b) Tensión C=O	1730-1760
2) Alcanos		2) Alcanos	
a) Tensión C-H	2850-3000	a) Tensión C-H	2850-3000
b) Flexión CH ₃	1375-1450	b) Flexión CH ₃	1375-1450

Cuadro 4.7: Grupos y uniones del PEG y del PLA con sus respectivas longitudes de onda

Los espectros tanto de las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ como PLA/*coQ*₁₀ presentan picos previamente identificados tanto en el espectro de la *coQ*₁₀ como del respectivo material encapsulante, y en ninguno de los casos se encuentran picos nuevos, lo que revela la ausencia de interacciones químicas después del proceso RESS, lo cual es importante porque dichas interacciones pueden alterar las propiedades del material, lo que conlleva a un cambio en su eficacia.¹⁸

La figura 4.26 muestra los espectros comparativos del PEG micronizado, de las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ 2/1 con el uso de acetona como cosolvente y de la *coQ*₁₀ micronizada, en el espectro de las microcápsulas se encuentran los picos característicos de ambos materiales; el pico correspondiente a la vibración de la unión C-H se muestra sobrepuesto, sin embargo, más cercano al PEG que a la *coQ*₁₀, presente en una longitud de onda de 2883 cm^{-1} el pico presente por la vibración de la unión C-O, característico del PEG, se observa en las microcápsulas sin desplazamientos, mientras que los picos correspondientes a la vibración de la unión C=C

y a la flexión CH_3 se muestran desplazados 14 y 11 cm^{-1} , respectivamente comparados con la coQ_{10} , indicando una interacción física de estas uniones con un grupo o unión del PEG o simplemente una modificación de la posición en el espacio de la unión C=C y el grupo CH_3 debido a la presencia del PEG. En el caso de la relación PEG/ coQ_{10} 1/1 (figura 4.27) no se observan desplazamientos significativos ($\pm 7 cm^{-1}$) en los picos correspondientes a la vibración de la unión C=C y la flexión CH_3 , mientras que el pico debido a la vibración del enlace C-H se observa desplazado 11 cm^{-1} , sin embargo, en este caso es a causa de la superposición de los picos de la coQ_{10} y del PEG, presente con un valor intermedio de ambos picos.

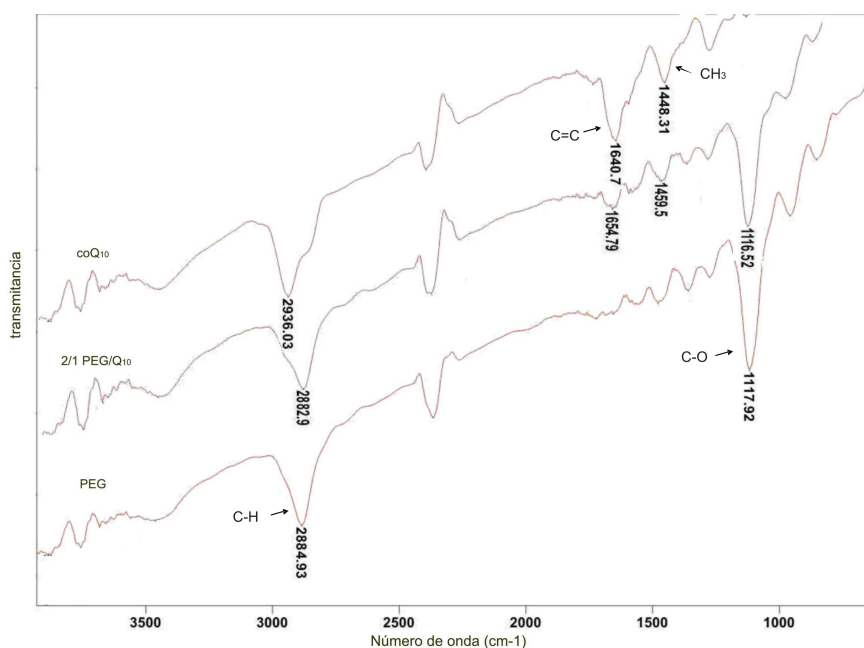


Figura 4.26: Espectros IR: coQ_{10} micronizada, PEG/ coQ_{10} 2/1 y PEG micronizado, con acetona como cosolvente

En la figura 4.28 se muestran los espectros de las microcápsulas con relaciones donde el PEG es el doble de concentración de la coQ_{10} (2/1 y 1/0.5) y de la relación PEG/ coQ_{10} 1/1. Comparando los espectros de las relaciones PEG/ coQ_{10} 2/1 y 1/0.5 entre sí no se aprecia ningún desplazamiento significativo en ninguno de sus picos, sin embargo, tal como se observó en la figura 4.26, al compararlos con los espectros de la coQ_{10} y del PEG se observan dos picos con un desplazamiento significativo respecto a la coQ_{10} , el correspondiente a la vibración de la unión C=C con una longitud de onda de $1654 cm^{-1}$ con un desplazamiento de $14 cm^{-1}$ y el corres-

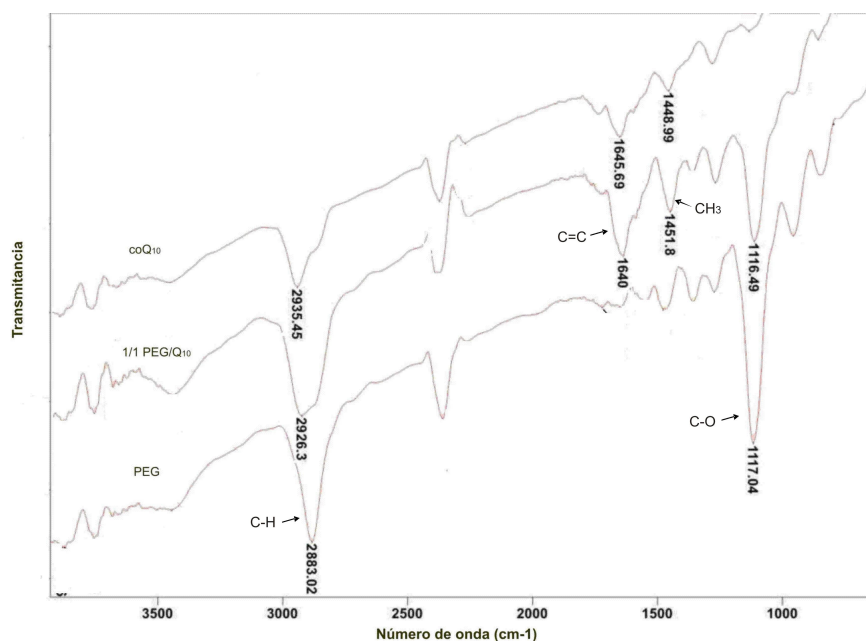


Figura 4.27: Espectros IR: *coQ*₁₀ micronizada, PEG/*coQ*₁₀ 1/1 y PEG micronizado, con etanol como cosolvente

pondiente a la flexión CH_3 ubicado en 1459 cm^{-1} y con un desplazamiento de 11 cm^{-1} . En cuanto al espectro de la relación PEG/*coQ*₁₀ 1/1, éste difiere en el pico presente por la vibración de la tensión C-H, el cual se encuentra con un valor intermedio entre la *coQ*₁₀ y el PEG, con una longitud de onda de 2926 cm^{-1} y un desplazamiento de 9 cm^{-1} respecto a la *coQ*₁₀, en este espectro no se observan desplazamiento significativos para los picos correspondientes a la vibración de la unión C=C ni a la flexión CH_3 .

Finalmente en la figura 4.29 se muestran los espectros obtenidos de la relación PEG/*coQ*₁₀ 2/1 con ambos cosolventes, se puede observar que no existen desplazamientos significativos en ninguno de sus picos, por lo tanto, al igual que en el caso de las micrografías, que puede observar un mayor efecto de la variables PEG/*coQ*₁₀ en el proceso de microencapsulación de la *coQ*₁₀, respecto al efecto presente por el cosolvente.

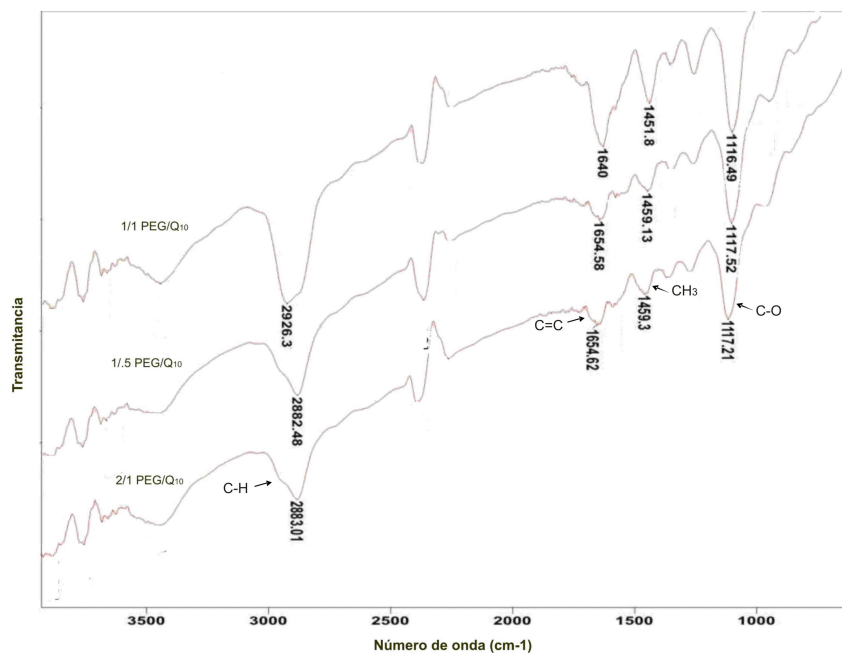


Figura 4.28: Espectros IR de microencápsulas PEG/*coQ*₁₀, con etanol como cosolvente

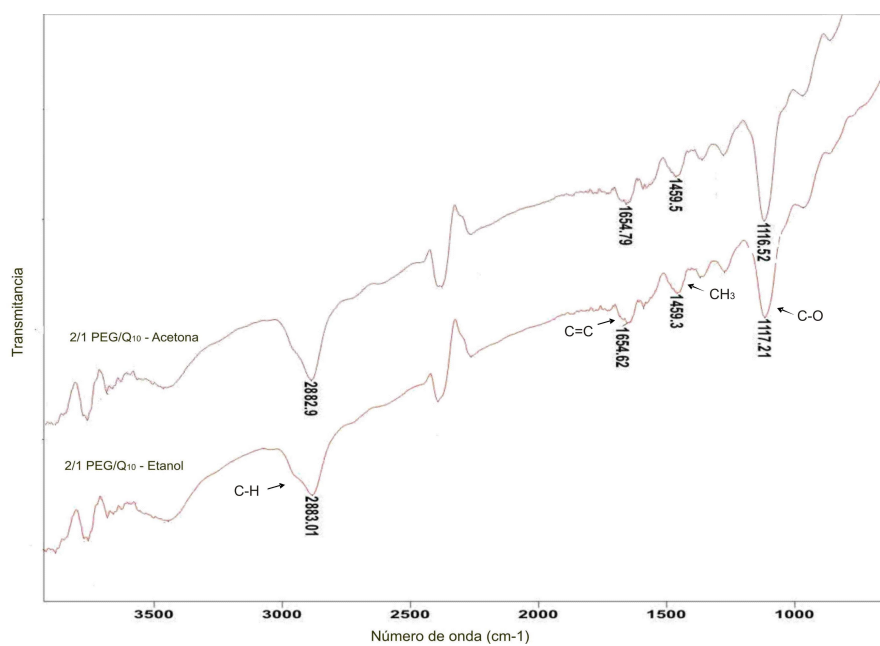


Figura 4.29: Espectros IR de microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ 2/1, con ambos cosolventes

En el caso de las microcápsulas PLA/*coQ*₁₀ sucede algo similar a lo que ocurre cuando es usado el PEG como material encapsulante, el pico correspondiente a la vibración a la unión C-H esta presente en una longitud de onda intermedia entre el PLA y la *coQ*₁₀ debido a la sobreposición

de los picos. La figura 4.30 muestra los espectros de la coQ_{10} micronizada, PLA micronizado y de las microcápsulas con una relación PLA/ coQ_{10} 1/1, comparando éste último con ambos materiales micronizados, se observa los pico presentes en el espectro de la PLA correspondientes a los enlaces C=O y C-O, sin desplazamientos significativos, mientras que el pico presente por el enlace C=C característico de la coQ_{10} se encuentra desplazado 11 cm^{-1} a la izquierda, con respecto a la coQ_{10} , lo que indica que dicho enlace se vuelve más compacto. En la figura 4.31 se muestran los espectros de las microcápsulas PLA/ coQ_{10} con relaciones 1/0.5 y 2/1, los cuales no presentan desplazamiento significativo entre sí en ninguno de los picos, sin embargo, ambos muestran el desplazamiento de la unión C=C, respecto a la coQ_{10} .

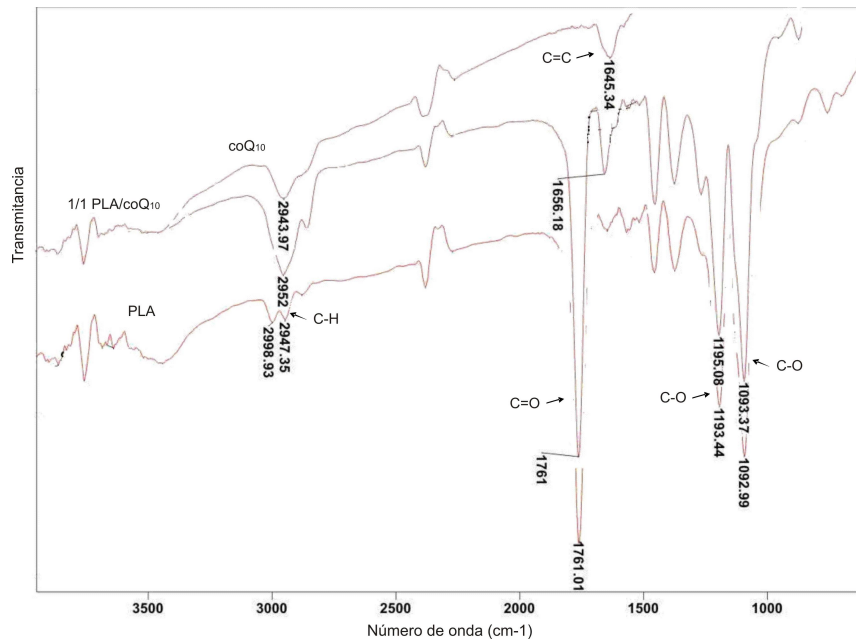


Figura 4.30: Espectros IR: coQ_{10} micronizada, PLA/ coQ_{10} 1/1 y PLA micronizado

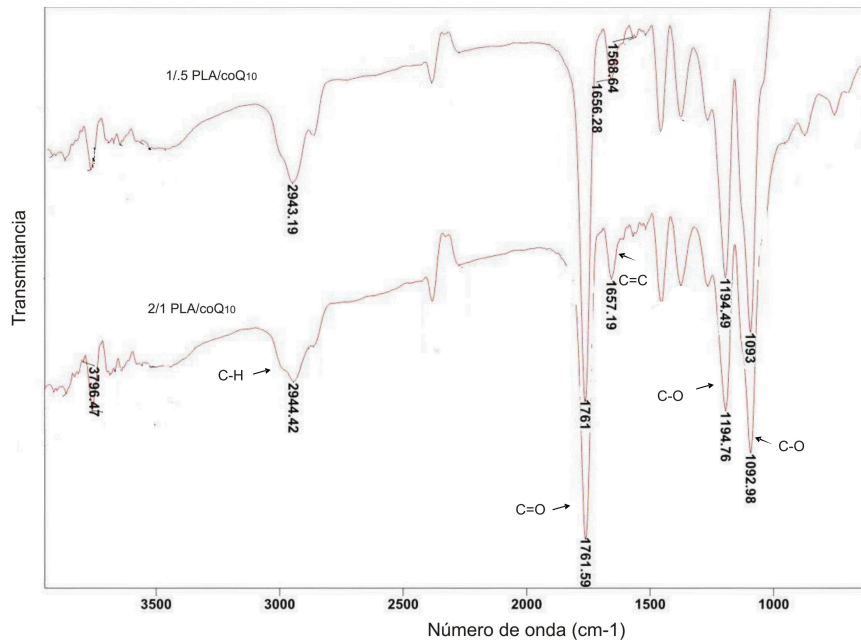


Figura 4.31: Espectros IR de microcápsulas PLA/*coQ*₁₀

En la figura 4.32 se observan las estructuras de la *coQ*₁₀ y de ambos materiales encapsulantes (PEG y PLA), se resaltan las uniones presentes en las posibles interacciones PEG-*coQ*₁₀ y PLA-*coQ*₁₀.

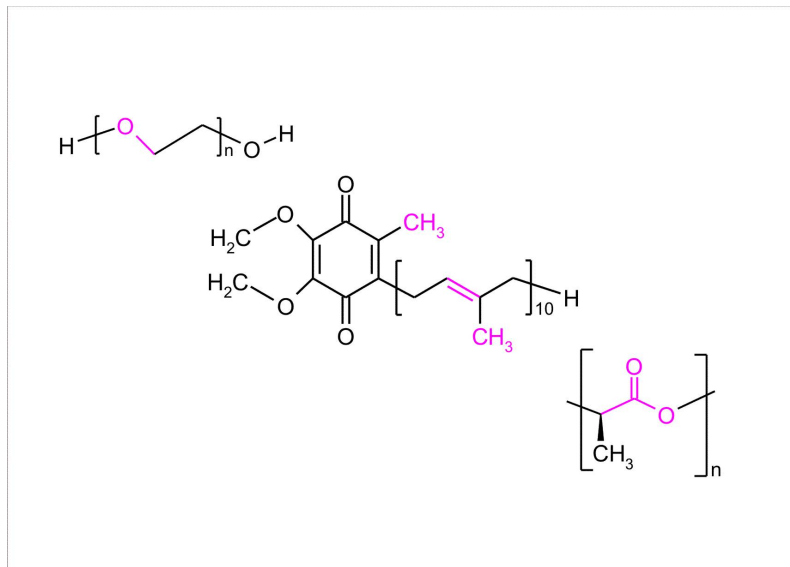


Figura 4.32: Estructura química del PEG, *coQ*₁₀ y PLA con las uniones presentes en las interacciones PEG-*coQ*₁₀ y PLA-*coQ*₁₀

4.5. Calorimetría diferencial de barrido

Las muestras obtenidas fueron analizadas por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y comparadas con los materiales comerciales, las figuras 4.33 y 4.35 muestran los análisis DSC de las sustancias puras y de las microcápsulas con relaciones encapsulante/ coQ_{10} 2/1 y 1/1.

En la figura 4.33, donde se muestran las curvas calorimétricas de las microcápsulas PEG/ coQ_{10} (usando acetona como cosolvente en el sistema supercrítico) y de ambos materiales comerciales, en el caso de la coQ_{10} se observa un pico en $53.8\text{ }^{\circ}C$, correspondiente al punto de fusión (resultados similares han sido reportados por Pecar, D. y Dolecer, V.¹⁹), mientras que en el caso del PEG, el pico correspondiente al punto de fusión se encuentra en $64\text{ }^{\circ}C$ (resultados similares han sido reportados para el PEG 20000 por Mattea, F. el al¹³); en el caso de las curvas de las microcápsulas se observan ambos picos correspondientes a los puntos de fusión de los dos materiales, con una disminución de aproximadamente $1.5\text{ }^{\circ}C$, esta disminución puede ser explicada debido al incremento de área superficial de las microcápsulas, lo cual incrementa la eficiencia del cambio de calor.²⁰ La figura 4.34 muestra los termogramas de la relación PEG/ coQ_{10} 2/1 con ambos cosolventes, aunque en ambas curvas se presentan los picos correspondientes a los puntos de fusión de la coQ_{10} y del PEG, en el caso del etanol, se encuentran a menor temperatura, por lo antes mencionado de la eficiencia del cambio de calor, esto corrobora que efectivamente el diámetro de partícula es menor con el uso de etanol, respecto al uso de acetona como cosolvente.

En el caso de la figura 4.35 sucede algo similar, en ambos termogramas de las microcápsulas PLA/ coQ_{10} se observan los picos de los componentes individuales, en este caso con una disminución de aproximadamente $10\text{ }^{\circ}C$ respecto al pico del PLA y de $3\text{ }^{\circ}C$ del pico de la coQ_{10} , sin embargo, en el termograma de la relación PLA/ coQ_{10} 2/1, el pico característico de la coQ_{10} se observa más disminuido, con respecto a la relación 1/1, esto puede indicar mayor interacción física entre ambos componentes y mayor eficiencia de encapsulamiento de la relación 2/1 respecto a la relación 1/1.

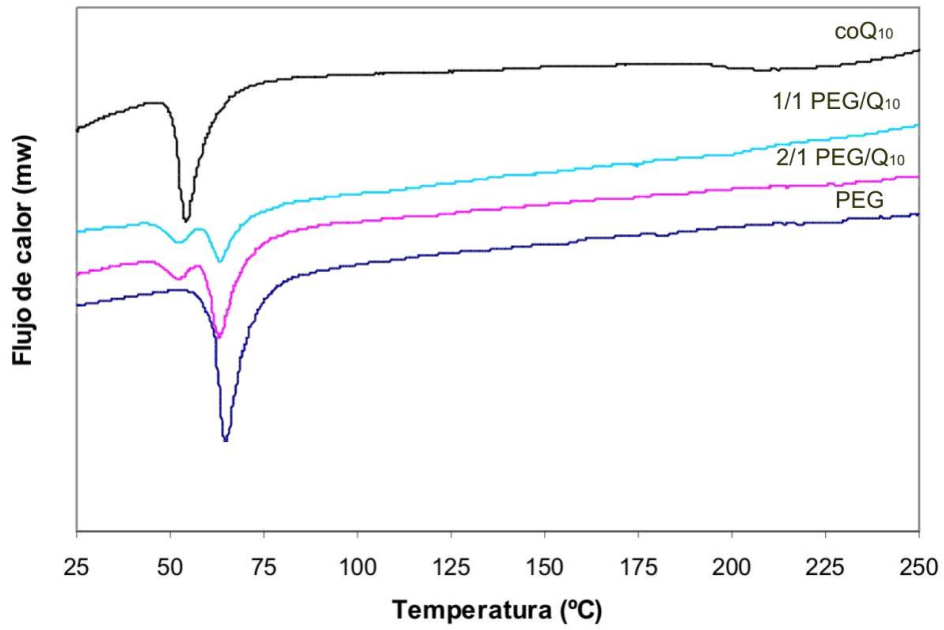


Figura 4.33: Termogramas de microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ y materiales comerciales

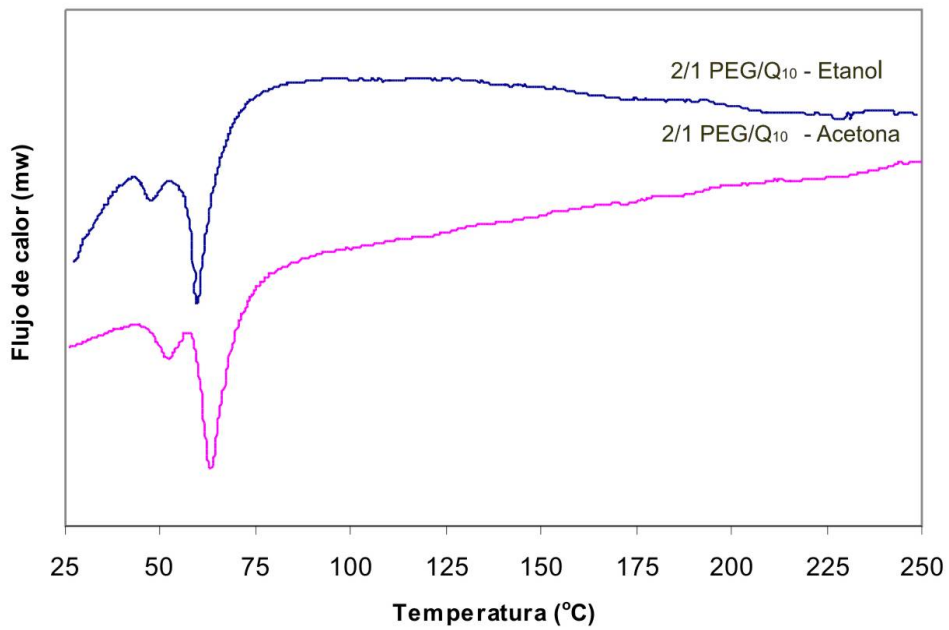


Figura 4.34: Termogramas de microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ con ambos cosolventes

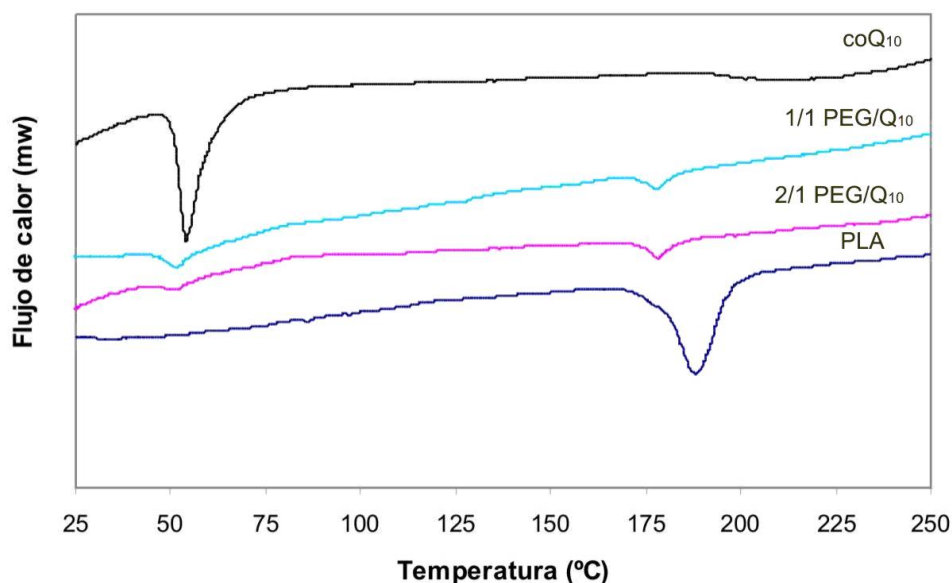


Figura 4.35: Termogramas de microcápsulas PLA/*coQ*₁₀ y materiales comerciales

En la interpretación de los DSC existen varias controversias, por un lado, algunos autores^{13,20–22} no han detectado el pico correspondiente al punto de fusión del material encapsulado después de preparar la mezcla encapsulante-activo, lo cual lo han atribuido a la disolución del material activo en el encapsulante fundido durante el proceso del análisis térmico (citado por Puebla et al²³), a la dispersión del activo en la matriz polimérica,^{20,21} a la alta afinidad de los materiales²² o al cambio de estado cristalino a amorfo,¹³ en este último caso, se llevó a cabo la microencapsulación de β -caroteno en PEG, analizando los resultados, se observó que la concentración del PEG es muy elevada, respecto al β -caroteno, una relación de 44:0.3 g/l es decir, prácticamente solo hay PEG, puesto que la concentración de β -caroteno es menor de 1%, por lo tanto es de esperarse que el pico correspondiente al β -caroteno desaparezca por completo. Por otro lado Puebla et al²³ al llevar a cabo la microencapsulación de indometacina en PEG, en el termograma del material encapsulado observaron los picos correspondientes al punto de fusión de ambos materiales. La presencia de los picos de ambos materiales también fue observado por Villaverde, et al²⁴ en la inclusión de complejos de norflurazón y β -ciclodextrina, lo cual lo atribuyeron a la ausencia de interacciones entre ambos materiales.

Cabe mencionar que la presencia de los picos de ambos materiales en el termograma de las microcápsulas no está ligado a una baja eficiencia de encapsulamiento, pues en el caso de Puebla et al²³ observaron los picos de ambos materiales y obtuvieron eficiencias del 69 al 94 % dependiendo de las formulaciones estudiadas

Apoyado tanto en la información bibliográfica como en los resultados obtenidos de la espectrofotometría infrarroja, la interpretación de los termogramas de las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀ y PLA/*coQ*₁₀ es la siguiente: la presencia de los picos de ambos componentes indican la ausencia de interacciones químicas entre ambos materiales, así como una mezcla poco miscible, sin embargo, no es posible obtener una conclusión contundente acerca del efecto que tienen la relación encapsulante/*coQ*₁₀ y cosolvente en las propiedades de las microcápsulas.

4.6. *Cinéticas de solubilidad*

La liberación de la *coQ*₁₀ se realizó en etanol en un periodo de 24 horas. En la figura 4.36, donde se muestra la influencia de la relación PEG/*coQ*₁₀ se observa mayor liberación cuando la concentración del PEG es el doble que la *coQ*₁₀ (2/1 y 1/0.5), a diferencia de la relación 1/1. Al comparar la liberación en las relaciones 2/1 y 1/0.5 se observa una concentración de liberación muy cercana a las dos horas, sin embargo, a partir de este momento, las curvas de liberación de *coQ*₁₀ empiezan a separarse, en el caso de la relación 1/0.5 la liberación es más rápida mientras que en la relación 2/1 se mantiene más constante, en el primer caso pasa de una concentración de 0.061 mg/ml en la primer hora a 0.099 mg/ml a las 24 horas, mientras que con la relación 2/1 de 0.050 mg/ml solo llega a 0.071 mg/ml al final de la cinética, esto se atribuye a la disminución del diámetro de partícula y por ende al incremento del área superficial; en la relación PEG/*coQ*₁₀ 1/0.5, donde se muestra mayor liberación, el diámetro es menor, de 4.76 μm , mientras que en la relación 2/1 es de 6.45 μm . Además del tamaño de partícula, la proporción de PEG también influye directamente en la liberación de la *coQ*₁₀, se puede observar que en la relación 1/1, a pesar de tener un diámetro menor a la relación 2/1 muestra menor liberación de la *coQ*₁₀, estudios muestran que el PEG incrementa la velocidad de disolución al actuar como agente de dispersión,²⁰ por lo tanto, al tener mayor cantidad de PEG en las microcápsulas existe mayor dispersión de la *coQ*₁₀ en éste, y como consecuencia

mayor liberación.

Mundargi, et al²¹ encapsularon ibuprofeno en una combinación de ácido polimetacrílico (PMA) y alcohol polivinílico y observaron la influencia de la concentración del PMA en las cápsulas, al obtener mayor liberación del ibuprofeno a medida que incrementaron la concentración de PMA, a pesar de tener un diámetro de partícula mayor; este mismo efecto fue observado por Hsiue et al²⁵ al encapsular teofilina en copolímero de ácido metacrílico. En contraste Tahami et al²⁶ encontraron mayor liberación del ingrediente activo al usar menor porcentaje de PLA como material de pared, también estudiaron el efecto del peso molecular del polímero encontrando un incremento en la solubilidad con un aumento en el peso molecular.

Con una misma relación PEG/*coQ*₁₀ se observa el efecto que causa el cosolvente usado en la elaboración de las microcápsulas PEG/*coQ*₁₀, en la liberación de la *coQ*₁₀ (figura 4.37), cuando se usa etanol como cosolvente se presenta mayor liberación respecto al uso de acetona, alcanzando una concentración de 0.034 mg/ml con etanol y 0.024 mg/ml con acetona, en este caso, nuevamente se relaciona menor diámetro de partícula con mayor liberación de *coQ*₁₀.

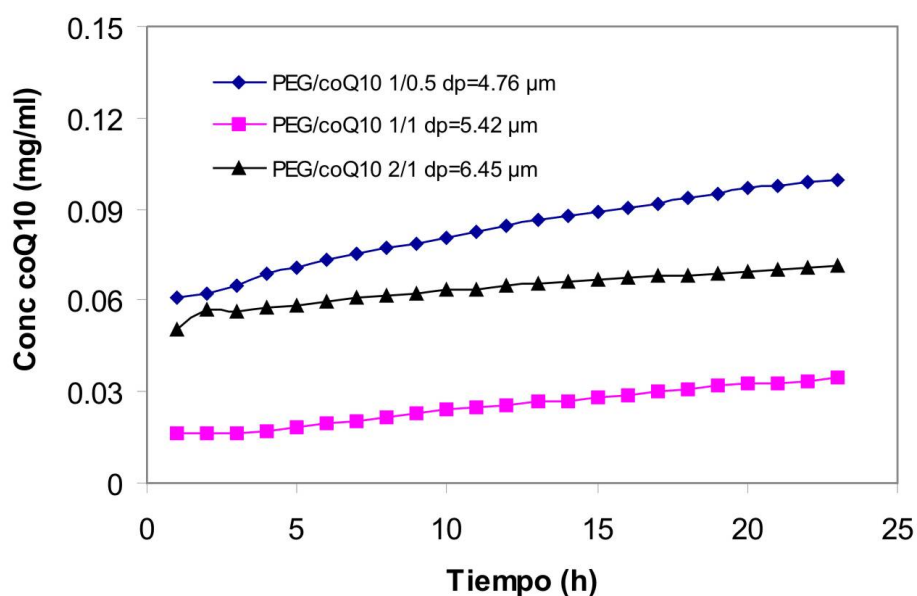


Figura 4.36: Efecto de la relación PEG/*coQ*₁₀ en la liberación de la *coQ*₁₀

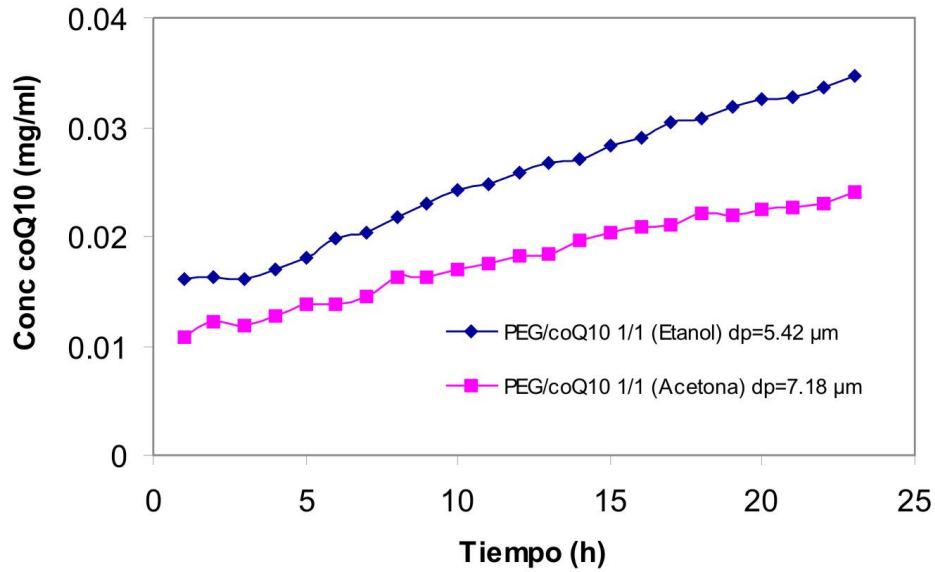


Figura 4.37: Efecto del cosolvente en la liberación de la coQ_{10}

Las microcápsulas PLA/ coQ_{10} , al igual que cuando es usado PEG presentan mayor liberación de coQ_{10} cuando la concentración de PLA es mayor respecto a la concentración de coQ_{10} , mostrando una liberación de 1 mg/ml con una relación PLA/ coQ_{10} 2/1, mientras que para una relación 1/1 la liberación de coQ_{10} es solo de 0.029 mg/ml, es decir, menos de una tercera parte que en el caso anterior. En la figura 4.38 se observa este efecto.

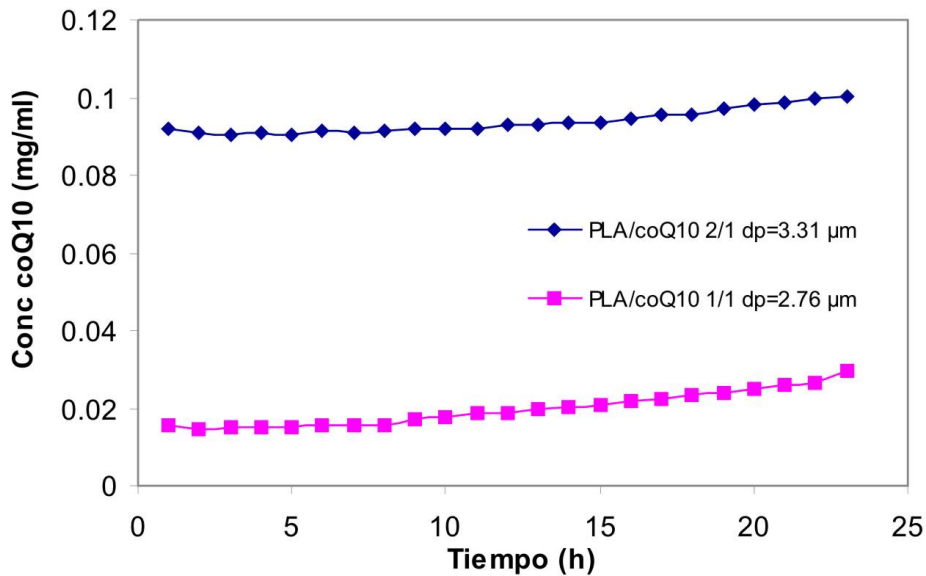


Figura 4.38: Efecto de la relación PLA/ coQ_{10} en la liberación de la coQ_{10}

Finalmente se muestra la comparación de la liberación de la coQ_{10} de las microcápsulas PEG/ coQ_{10} (con etanol como cosolvente) y PLA/ coQ_{10} . Para la relación encapsulante/ coQ_{10} 2/1 se observa una mayor liberación cuando es usado PLA, alcanzando 0.1 mg/ml a las 24 horas, mientras que cuando es usado el PEG se alcanza 0.071 mg/ml al final de la cinética, en este caso aunque existe la misma proporción del material encapsulante respecto a la coQ_{10} el diámetro en las microcápsulas PLA/ coQ_{10} es menor. En el caso de la relación 1/1 se presenta ligeramente una mayor liberación de 0.005 mg/ml con el uso de PEG, respecto al uso de PLA, en este caso, aunque el diámetro de las microcápsulas PLA/ coQ_{10} es menor, puede representar una mejor dispersión de la coQ_{10} en PEG que en PLA.

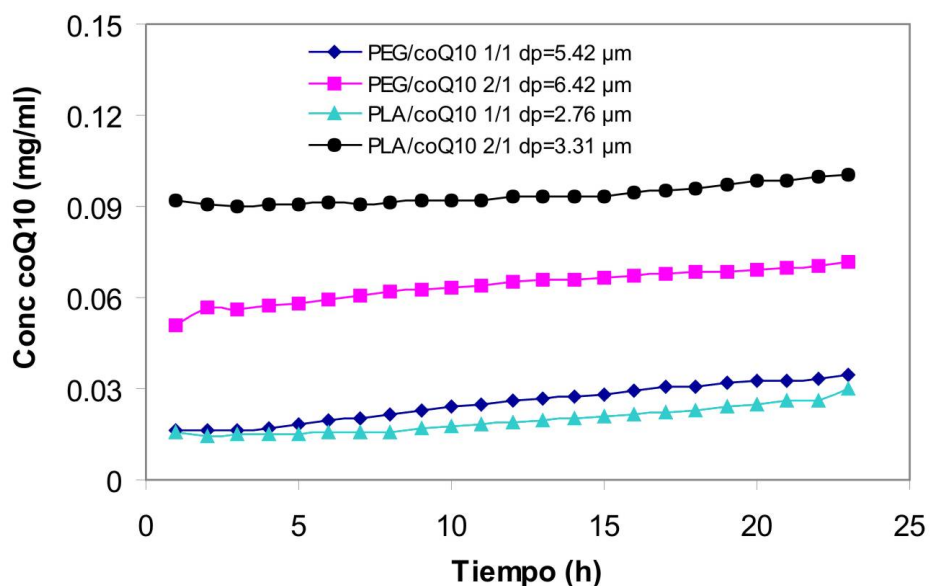


Figura 4.39: Efecto del material encapsulante en la liberación de la coQ_{10}

4.7. Referencias

- [1] Matias, A. A.; Nunes, A. V. M.; Casimiro, T.; Duarte, C.M.M. Solubility of Coenzyme Q_{10} in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Supercrit. Fluids*. 2004, 28, 201-206.
- [2] Byun, H. Phase Behavior of Poly(ethylene glycol) in Supercritical CO_2 , C_3H_6 , and C_4H_8 . *J. Ind. Eng. Chem* 2006, 12(6): 893-899.
- [3] Kim, J.H., Paxton, T.E. and Tomasko, D.L. Microencapsulation of Naproxeno Using Rapid Expansion of Supercritical Solutions. *Biotechnol. Prog.* 1996,12:650-661
- [4] Huang, Z., Wei, D. L., Kawi, S. and Chiew, Y.C. Solubility of Aspirin in supercritical Carbon Dioxide/alcohol mixtures. *Fluid Phase Equilibria* 2005, 273, 9-15.
- [5] Huang, Z., Wei, D. L., Kawi, S. and Chiew, Y.C. Solubility of Aspirin in supercritical Carbon Dioxide with and without Acetone. *J. Chem. Eng. Data* 2004, 49,1323-1327.
- [6] Dobbs, J. M., Wong, J. M., Lahiere, R.J. and Johnston, K. P. Modification of Supercritical Fluids Phase Behavior Using Polar Cosolvents. *Ing. Eng. Chem. Res* 1987, 26, 56-65.
- [7] Foster, N. L., Singh, H., Yun, J., Tomasko, D. and Macnaughton, S. Polar and Nonpolar Cosolvent Effects on the Solubility of Cholesterol in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1993, 32, 2849-2853.
- [8] Huang, Z., Kawi, S. and Chiew, Y.C. Solubility of cholesterol and its esters in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *J. of Supercritical Fluids* 2004, 30, 25-39.
- [9] Li, Q., Zhang, Z., Zhong, C.,Liu, Y. and Zhou, Q. Solubility of solid solutes in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *Fluid Phase Equilibria* 2003, 207, 183-192.
- [10] Jin, J., Pei, X., Li, J. and Zhang Z. Solubility of p-Aminobenzenesulfonamide in Supercritical Carbon Dioxide with Acetone Cosolvent. *J. Chem. Eng. Data* 2009, 54, 157-159.
- [11] Ting, S. S. T.; Tomasko, D. L.; Macnaughton, S. J. Foster, N. R. Chemical - Physical Interpretation of Cosolvent Effects in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1993, 32, 1482-1487.

- [12] Zhang, X., Han, B., Hou, Z., Zhang, J., Liu, Z.,Jiang, T., He, J. and Li H. Why Do Co-solvents Enhance the Solubility of Solutes in Supercritical Fluids?. Chem. Eur. J. 2008, 8, 22.
- [13] Mattea, F., Martin, A. and Cocero, M. J. Co-Precipitation of β -Carotene and Polyethylene Glycol with Compressed CO_2 as an Antisolvent: Effect of Temperature and Concentration. Ind. Eng. Chem. Res 2008, 47: 3900-3906.
- [14] Kalogiannis, C. G., Michailof, C. M. and Panayiotou, C.G. Microencapsulation of Amoxicillin in Poly (L-lactic acid) by Supercritical Antisolvent Precipitation. Ind. Eng. Chem. Res. 2006, 45: 8738-8743.
- [15] Matsuyama, K., Mishima, K., Hayashi, K., Ishikawa, H., Matsuyama, H. and Harada, T. Formation of microcapsules of medicine by Rapid Expansion of a Supercritical Solution with a Nonsolvent. Journal of Applied Polymer Science 2003, 89: 742-752.
- [16] Türker, M., Uppert G. and Hils P. Formation of composite drug polymer particles by coprecipitation during the rapid expansion of supercritical fluids. J. of Supercritical Fluids 2006, 39: 253-263.
- [17] Nalawade, S. P., Picchioni, F., Marsman, J. H. and Janssen, L. P. The FT-IR studies of the interaction of CO_2 and polymers having different chain groups. J. of Supercritical Fluids 2006, 36: 236-244.
- [18] Chen, A. Z., Li, Y., Chau, F. T., Lau, T. Y., Hu, J.Y., Zhao, Z. and Mok, D. K. Microencapsulation of puerarin nanoparticles by poly(L-lactide) in a supercritical CO_2 process. Acta Biomaterialia 2009, 12: 26-32.
- [19] Pecar, D.; Dolecek, V. Thermodynamic Properties of Coenzyme Q_{10} in Supercritical Carbon Dioxide. J. Supercritical Fluids. 2007, 40: 200-207.
- [20] Chiou, A. H., Cheng, H. C. and Wang, D. P. Micronization and microencapsulation of felodipine by supercritical carbon dioxide. J. Microencapsulation 2006, 23(3): 265-276.
- [21] Mungargi, R. C., Patil, S. A., Kulkarni, P. V., Mallikarjuna, N. N and Aminabravi, T. M. Sequential interpenetrating polymer network hydrogel microspheres of poly(methacrylic

- acid) and poly(vinyl alcohol) for oral controlled drug delivery to intestine. *J. Microencapsulation* 2008, 25(4): 228-240.
- [22] Erdogdu, N., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y. Wheat Flour Defatted Milk Characterized by Differential Scanning Calorimetry. II DSC of Interaction Products. *Cereal Chem.* 1995, 72(1): 76-79.
- [23] Puebla, P., Pastoriza, P., Barcia, E., Fernandez, A. PEG-derivative effectively modifies the characteristics of indomethacin-PLGA microspheres destined to intra-articular administration. *J. Microencapsulation* 2005, 22(7): 793-808.
- [24] Villaverde, J., Morillo, E. and Pérez-Martínez, J. Preparation and Characterization of Inclusion Complex of Norflurazon and β -Cyclodextrin To Herbicide Formulations. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52: 864-869.
- [25] Hsiue, G. H., Liao, C. M., and Lin, S. Y. Effect of Drug-Polymer Interaction on the Release Characteristics of Methacrylic Acid Copolymer Microcapsules Containing Theophylline. *Artificial Organs* 1998, 22(8): 651-656.
- [26] Tahami, K. A., Meyer, A. and Singh, J. Poly Lactic Acid Based Injectable Delivery Systems for Controlled Release of a Model Protein, Lysozyme. *Pharm. Dev. Techn.* 2006, 11: 79-86.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados mostrados en el capítulo anterior se presentan las siguientes conclusiones:

- ◇ La relación encapsulante/ coQ_{10} influye en la morfología y tamaño de las microcápsulas, mostrando una similitud a la morfología de la coenzima cuando se usan concentraciones iguales de ambos materiales (relaciones 1/1 y 0.5/0.5), y un incremento en el diámetro de partícula a medida que aumenta la concentración de ambos. En el caso del PEG, los espectros IR muestran un indicio del efecto de la relación PEG/ coQ_{10} al presentar un desplazamiento significativo de los picos correspondientes a la unión C=C y a la flexión CH_3 en las relaciones PEG/ coQ_{10} 2/1 y 1/0.5, mientras que para concentraciones iguales de ambos materiales, tales desplazamiento no son observados. En el caso del análisis de calorimetría, se observa una ligera disminución del pico correspondiente a la coQ_{10} en la relación PLA/ coQ_{10} 2/1, respecto a la relación 1/1, de esta observación se puede inducir que existe mejor dispersión de la coQ_{10} en PLA y/o mayor interacción entre ambos materiales en la relación 2/1, respecto a la relación 1/1. Finalmente, en las cinéticas se observa mayor solubilidad de la coQ_{10} cuando la concentración del material encapsulante es mayor, respecto a la coQ_{10} , es decir, relaciones encapsulante/ coQ_{10} 2/1 y 1/0.5, respecto a la relación 1/1, lo cual se le atribuye al diámetro de partícula, así como a la dispersión de la coQ_{10} en el material encapsulante.
- ◇ El cambio de cosolvente en el sistema supercrítico no muestra ningun efecto en la morfología de las microcápsulas ni en las interacciones presentes en ambos materiales, sin

embargo sí influye en el tamaño de partícula y en la solubilidad de la coQ_{10} , con el uso de etanol como cosolvente se obtienen partículas con diámetro menor, respecto a las obtenidas con acetona, y por ende mayor solubilidad, esto último debido al incremento del área superficial como consecuencia de la reducción del diámetro de partícula. El análisis de calorimetría corroboró que el diámetro de partícula es menor con el uso de etanol como cosolvente, respecto a la acetona, debido a la disminución de la temperatura de los picos de fusión, ya que dicha disminución es a consecuencia del incremento del área superficial y por ende al incremento de eficiencia de cambio de calor.