



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“MICROENCAPSULACIÓN DE APIGENINA MEDIANTE
COACERVACIÓN COMPLEJA”**

Trabajo de titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: EDWIN ALEXANDER TOCTAQUIZA ORRALA

TUTOR: BQF. DIEGO VINUEZA T., M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2018

©2018. Edwin Alexander Toctaquiza Orrala

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: “MICROENCAPSULACIÓN DE APIGENINA MEDIANTE COACERVACIÓN COMPLEJA” de responsabilidad del señor egresado Edwin Alexander Toctaquiza Orrala, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Diego Vinueza Tapia, M.Sc. DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	_____
BQF. John Marco Quispillo MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____

Yo, Edwin Alexander Toctaquiza Orrala soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este proyecto de titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Edwin Alexander Toctaquiza Orrala

CI: 160053238-4

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a mis Padres quienes fueron las personas más importantes, mis guías incondicionales y por su gran amor que me han demostrado he podido llegar a cumplir esta gran meta.

A mi hijita que viene en camino, por ser el primer eje fundamental y darle un nuevo sentido a mi vida, a mi esposa Verónica, quien ha sabido entenderme y apoyarme todos los días, el anhelo de triunfar sin importar los obstáculos que se presenten.

A mis amigos que me apoyaron y aconsejaron en el transcurso de la carrera, tantos buenos y malos momentos que quedaron grabados en mis pensamientos.

Edwin T.

AGRADECIMIENTO

A Dios por la bendición que me ayudado a seguir adelante en cada paso de la carrera y darme las fuerzas de no rendirme.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de formarme como profesional.

A mi familia que gracias a ellos no hubiese podido llegar a la culminación de la carrera, por el apoyo, el amor incondicional que me han demostrado en todo este trayecto de vida profesional.

A mi tutor y amigo, Diego Vinueza por su ayuda durante el desarrollo de este trabajo, por compartir sus conocimientos conmigo

A todos mis amigos por haber estado ahí en las buenas y en las malas siempre brindándome su apoyo incondicional, enseñándome que siempre se puede ser mejor.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- TG:** Transglutaminasa
- AP:** Apigenina
- VT:** Volumen total
- G:** Gelatina
- GA:** Goma arábica
- MCC:** Microcápsulas obtenidas por coacervación compleja
- C:** Coacervatos
- NF-kB:** Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas .
- SDS:** Dodecilsulfato sódico
- CMC:** Carboximetilcelulosa
- AB:** Actividad biológica.

TABLA DE CONTENIDOS

	Páginas.
RESUMEN	XIV
SUMARY.....	XV
 CAPÍTULO I	
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Marco teórico	2
<i>1.2.1. Metabolitos secundarios</i>	<i>2</i>
<i>1.2.2. Flavonoides</i>	<i>2</i>
<i>1.2.3. Apigenina.</i>	<i>6</i>
<i>1.2.4. Microencapsulación</i>	<i>8</i>
<i>1.2.5. Métodos de microencapsulación</i>	<i>11</i>
 CAPÍTULO II	
2. MARCO METODOLÓGICO	23
2.1. Lugar de investigación	23
2.2. Materiales equipos y reactivos	23
2.3. Métodos y técnicas	24
<i>2.3.1. Solubilidad de Apigenina</i>	<i>24</i>
<i>2.3.2. Elaboración de microcápsulas mediante coacervación compleja</i>	<i>25</i>
<i>2.3.3. Determinación del porcentaje de eficiencia de encapsulación</i>	<i>26</i>
<i>2.3.4. Determinación de higroscopicidad</i>	<i>26</i>
 CAPÍTULO III	
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
3.1. Hipótesis general.....	27
3.2. Objetivos de la investigación	27
<i>3.2.1. Objetivo general.....</i>	<i>27</i>
<i>3.2.2. Objetivos específicos</i>	<i>27</i>
3.3. MARCO DE RESULTADOS	28
<i>3.3.1. Determinación de la solubilidad de la Apigenina</i>	<i>28</i>
<i>3.3.2. Obtención de las microcápsulas de apigenina.</i>	<i>30</i>

<i>3.3.3. Determinación de la eficiencia de encapsulación</i>	31
<i>3.3.4. Determinación de la Higroscopicidad.</i>	34
CONCLUSIONES:	36
RECOMENDACIONES:	37
BIBLIOGRAFIA:	
ANEXOS:	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Estructuras de flavonoides.....	3
Tabla 2-1: Clasificación y fuentes alimenticias de algunos flavonoides en la dieta.	4
Tabla 3-1: Métodos de microencapsulación	12
Tabla 4-1: Especificaciones para la goma arábica	18
Tabla 5-1: Porcentajes de los ácidos grasos de aceite de almendra.....	20
Tabla 6-1: Porcentajes de los ácidos grasos de aceite de oliva	21
Tabla 7-1: Porcentaje de ácidos grasos del aceite de ricino	22
Tabla 1-2: Evaluación de la solubilidad	23
Tabla 2-2: Elaboración de lotes de microcápsulas	24
Tabla 3-2: Eficiencia de encapsulación	24
Tabla 1-3: Cuadro de resultados de solubilidad.	28
Tabla 2-3: Valores de solubilidad	29
Tabla 3-3: Formulaciones para la obtención de microcápsulas.	30
Tabla 4-3: Rendimiento de microcápsulas de apigenina	30
Tabla 5-3: Eficiencia de encapsulación	32
Tabla 6-3: Higroscopicidad	34
Tabla 7-3: Valores de higroscopicidad obtenidos.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Estructura química de un flavonoide.	3
Figura 2-1: Microcápsula	9
Figura 3-1: Morfología de microcápsulas	11
Figura 4-1: Representación esquemática del proceso de coacervación	15
Figura 5-1: Estructura general de la goma arábica	18
Figura 1-2: Flujograma para la solubilidad de apigenina.....	25
Figura 1-3: Análisis de anova de un factor	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Curva de calibración para determinar ppm de apigenina	28
Gráfico 2-3: Formación de coacervatos	34

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Sonicación de apigenina con diferentes aceites.
- ANEXO B:** Centrifugación de las mezclas por 72h
- ANEXO C:** Apigenina cargado con diferentes aceites
- ANEXO D:** Solubilidad de apigenina con los sobrenadantes obtenidos
- ANEXO E:** Medición de la solubilidad en el espectrofotómetro UV.
- ANEXO F:** Coacervatos emulsificados
- ANEXO G:** Filtración al vacío
- ANEXO H:** Coacervatos húmedos
- ANEXO I:** Liofilizador
- ANEXO J:** Coacervatos liofilizados
- ANEXO K:** Coacervatos cristalizados
- ANEXO L:** Higroscopicidad
- ANEXO M:** Microcápsulas de apigenina
- ANEXO N:** Modelo del tratamiento de datos en la herramienta estadística SPSS.
- ANEXO O:** Transglutaminasa Moo Gloo
- ANEXO P:** Aceites: Almendras, Oliva , Ricino

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue preparar microcápsulas de apigenina mediante el método de coacervación compleja. Se determinaron la solubilidad del activo en tres diferentes vehículos oleosos (aceite de ricino, almendra y oliva) mediante espectrofotometría en comparación con un estándar, el rendimiento en peso de las microcápsulas obtenidas a partir de 9 diferentes tratamientos en los que se variaron las proporciones de polímeros, concentración de agente reticulante (transglutaminasa TG) y volumen total de reacción, la eficiencia de encapsulación de las microcápsulas obtenidas y la higroscopicidad de las microcápsulas de los lotes válidos. El vehículo oleoso en el que presenta mejor solubilidad el activo corresponde al aceite de ricino (14.146 ± 0.05 ppm), el tratamiento que presentó mayor rendimiento en peso de microcápsulas fue el C5 (3.842 g) (apigenina disuelta en aceite de ricino 4 mL, proporción gelatina y goma arábiga 1:1, concentración de TG 15 U/g de gelatina, volumen total de reacción 100 mL), el que presentó mayor eficiencia de encapsulación fue C8 (82.52%) (apigenina disuelta en aceite de ricino 4 mL, proporción gelatina y goma arábiga 2:1, concentración de TG 15 U/g de gelatina, volumen total de reacción 75 mL). Por último, el tratamiento que tuvo un valor inferior de higroscopicidad fue el C4 (11.58%) (apigenina disuelta en aceite de ricino 2 mL, proporción gelatina y goma arábiga 1:1, concentración de TG 30 U/g de gelatina, volumen total de reacción 100 mL). El mejor desempeño en términos de solubilidad de apigenina fue el asociado al aceite de ricino. La eficiencia de encapsulación tiene su mejor valor al tener proporciones gelatina y goma arábiga 2:1 y valores de concentración de TG 15 U/g de gelatina. Sin embargo, la higroscopicidad en estas condiciones tiene un comportamiento intermedio del 16% aproximadamente. Se sugiere realizar el estudio de liberación de apigenina desde las microcápsulas obtenidas.

PALABRAS CLAVES:

<BIOQUÍMICA>, <FARMACIA>, <COACERVACIÓN COMPLEJA>; <APIGENINA>; <HIGROSCOPICIDAD>; <ESPECTROFOTOMETRÍA>; < SOLUBILIDAD>; <ACEITE DE RICINO>; <ACEITE DE ALMENDRAS>; <ACEITE DE OLIVA>.

SUMMARY

The objective of this research was to prepare apigenin microcapsules by the complex coacervation method. The solubility of the active ingredient in three different oily vehicles (castor oil, almond and olive oil) was determined by spectrophotometry compared to a standard, the weight yield of the microcapsules obtained from 9 different treatments in which the proportions of polymers, concentration of crosslinking agent (TG transglutaminase) and total reaction volume, the encapsulation efficiency of the microcapsules obtained and the hygroscopicity of the microcapsules of the valid batches. The oil vehicle in which the active ingredient has the best solubility corresponds to castor oil (14.146 ± 0.05 ppm), the treatment with the highest yield by weight of microcapsules was C5 (3.842 g) (apigenin dissolved in castor oil 4 mL, gelatin and gum arabic ratio 1: 1, TG concentration 15 U / g gelatin, total reaction volume 100 mL), the one with the highest encapsulation efficiency was C8 (82.52%) (apigenin dissolved in castor oil 4 mL, gelatin and gum arabic ratio 2: 1, TG concentration 15 U / g gelatin, total reaction volume 75 mL). Finally, the treatment that had a lower value of hygroscopicity was C4 (11.58%) (apigenin dissolved in castor oil 2 mL, gelatin and gum arabic ratio 1: 1, TG concentration 30 U / g of gelatin, total volume of reaction 100 mL). The best performance in terms of solubility of apigenin was that associated with castor oil. The encapsulation efficiency has its best value when having proportions of gelatin and gum arabic 2: 1 and concentration values of TG 15 U / g of gelatin. However, hygroscopicity in these conditions has an intermediate behavior of approximately 16%. It is suggested to perform the apigenin release study from the obtained microcapsules.

Keywords

<BIOCHEMISTRY>, <PHARMACY>, <COMPLEX COACERVATION>; <APIGENINA>;
<HOSPITALITY>; <SPECTROPHOTOMETRY>; <SOLUBILITY>; <RICINO OIL>;
<ALMOND OIL>; <OLIVE OIL>

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

La existencia de miles de medicamentos disponibles en el mercado ha permitido el control de enfermedades, aliviar síntomas y evitar muertes prematuras. Pero, el uso de medicamentos con principios activos lábiles; paralelamente podría originar un fallo en la farmacoterapia (Care, 2007).

En el escenario actual, se cuenta con diferentes compuestos químicos con actividad biológica(AB) para el tratamiento de diferentes patologías, moléculas que han ayudado tanto directa como indirectamente al beneficio de la farmacoterapia, generando resultados beneficiosos durante su uso (Care, 2007).

Algunos flavonoides son bioquímicamente inestables al ser administrados por vía oral, siendo moléculas útiles para el tratamiento de varias patologías, presentan a su vez una paradoja; ventajas para el tratamiento y al mismo tiempo limitaciones para su administración sea efectiva. En esta investigación se buscarán las condiciones de microencapsulación que permitan la máxima encapsulación y mejoren la estabilidad del flavonoide apigenina (Shukla y Gupta, 2010).

La apigenina ha sido reconocido como una medicina tradicional o alternativa con diversas funciones biológicas, incluyendo las actividades antioxidantes, antimutagénicos, anticancerígenas, neuroprotectoras y antiinflamatorias. A pesar de los beneficios para la salud que ofrece, tiene una biodisponibilidad relativamente baja de aproximadamente 3-5%, debido a la pobre permeación a través de los epitelios gastrointestinales (Lee et al., 2017).

Por lo mencionado anteriormente, para prevenir la degradación de apigenina por factores ambientales como la luz, hidrólisis, y temperaturas altas, es necesario la aplicación de un método como la coacervación compleja, el cual por sus características ayuda a que la sustancia encapsulada posea una mayor resistencia, dotación de propiedades de liberación controlada, y mejora de las características que incrementen la absorción de las sustancias en el organismo (Sánchez, F M et al., 2016).

En los últimos años, la quimiopreención del cáncer se ha convertido en uno de los principales enfoques para reducir la carga de cáncer (Shukla y Gupta, 2010) y en este sentido moléculas de tipo flavonoide tienen un papel estelar.

1.2. Marco teórico

1.2.1. Metabolitos secundarios

Son llamados metabolitos secundarios por no tener una participación especial en los diferentes procesos de crecimiento, desarrollo o reproducción de las plantas y hace muchos años atrás fueron apreciadas como sustancias de desechos o como errores de las rutas metabólicas primarias, sin embargo, las plantas contienen diferentes rutas metabólicas abreviando una extensa gama de diferentes sustancias llamadas metabolitos secundarios (Herrera-corrál, 1988), (Ávalos García Elena Pérez-Urria Carril, 2009).

Dentro de la clasificación de los principales grupos de metabolitos secundarios se conocen; compuestos tipo terpeno como: compuestos volátiles, glucósidos cardiacos, carotenos y esteroides; compuestos fenólicos: tales como ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, estilbenos, flavonoides, taninos y ligninas; y compuestos que contienen nitrógeno como: alcaloides y los tioglicósidos. Existen una serie de técnicas de extracción tradicionalmente con diferentes disolventes y reactivos de purificación con la capacidad de separar e identificar metabolitos secundarios (Vieira y Silveira, 2012).

1.2.2. Flavonoides

La mayoría de los flavonoides se encuentran en las semillas, vegetales, frutas, bebidas como el vino y la cerveza por lo que se han identificado más de 5000 flavonoides distintos (Culebras y Tuñón, 2002).

Los flavonoides son un grupo muy extenso de compuestos polifenólicos con una estructura benzo- γ -pirano, encontrándose en el reino vegetal en forma de glicósidos, estos compuestos flavónicos presentan muchas propiedades benéficas en la salud humana, basada principalmente en su actividad antioxidante (Cartaya y Reynaldo, 2001), antiinflamatoria, antitrombótica, antimicrobiana, antialérgica, antitumoral, antiasmática e inhibidora de enzimas como la transcriptasa reversa y proteína quinasa C, etc. (Trueba, 2003).

Entre todas sus propiedades biológicas beneficiosas la de mayor interés ha sido su efecto antioxidante, la cual ha sido objeto de estudios de naturaleza clínica y nutricional, incluyéndolas en la dieta para una mejor acción antioxidante en una mezcla de flavonoides y taninos.

1.2.2.1. Estructura química

Los flavonoides son de naturaleza fenólica y poseen dos anillos bencénicos y un puente de tres átomos de carbono nombrados con letras mayúsculas (A, C y B) y números, respectivamente y con números marcados con primas para el siguiente anillo B, estos presentan 3 hidroxilos fenólicos encontrándose normalmente combinados en las fuentes naturales con azúcares en forma de glicósidos gráfico 1-1 (Cartaya e Inés Reynaldo, 2001).

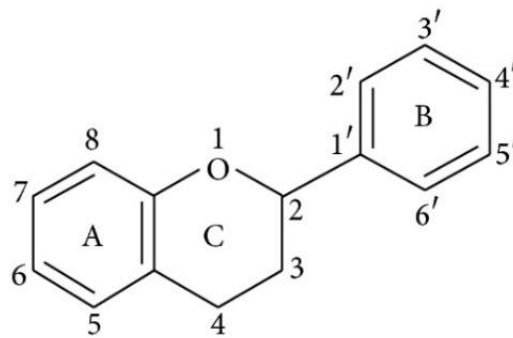


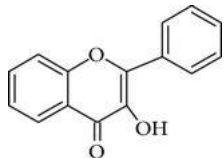
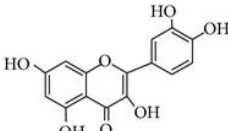
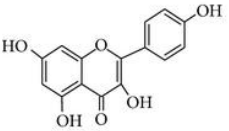
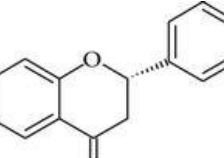
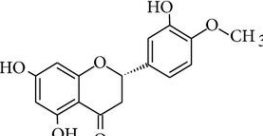
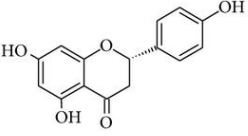
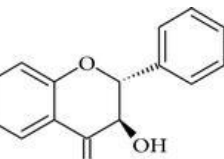
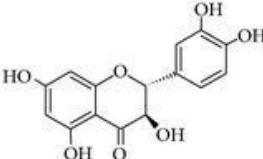
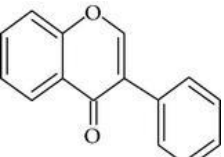
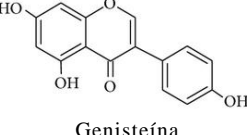
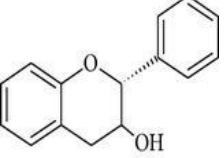
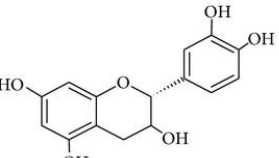
Figura 1-1: Estructura química de un flavonoide.

Fuente:(Kumar y Pandey, 2013).

Tabla 1-1: Estructuras de flavonoides

GRUPO	ESTRUCTURA BÁSICA	EJEMPLOS
Flavonas		 Luteolina Apigenina Crisina Continúa \longrightarrow

Fuente:(Kumar y Pandey, 2013)

Flavonol		 Quercetina	 Kaempferol
Flavanonas		 Hesperidina	 Naringenina
Flavanonol		 Taxifolin	
Isoflavonas		 Genisteína	
Flavan-3-ol		 Catequina	

Realizado por: Toctaquiza, Edwin 2018

1.2.2.3. Alimentos ricos en flavonoides y plantas medicinales

Los flavonoides son el grupo más común y extensamente distribuido de compuestos fenólicos vegetales que se producen en todas las partes de la planta, es decir; en sus células vegetales fotosintetizadoras, estos aportan colorantes para las plantas, visibles en las flores, formando parte en la dieta humana y animal. En la tabla 2-1, encontramos algunas fuentes de alimentos que contienen diferentes clases de flavonoides (Kumar y Pandey, 2013).

Tabla 2-1: Clasificación y fuentes alimenticias de algunos flavonoides en la dieta

GRUPO	FLAVONOIDES	FUENTE DIETETICA
Antocianidinas	Cianidia, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina.	Los berries de color rojo, y púrpura; las uvas rojas y moradas; manzana roja, el vino tinto.
Flavanoles	Monómeros (catequinas): Catequina, epicatequina, epigallocatequina, epicatequingalato, epigallocatequingalato Dímeros y polímeros: Teaflavina, tearubiginas, proantocianidinas.	Catequinas: Té verde, cacao, uvas, cerezas, manzanas. Teaflavinas, tearubiginas: Té negro. Proantocianidinas: Cacao, manzanas, cerezas, uvas rojas, vino tinto
Flavanonas	Hesperetina, naringenina, eriodictiol.	Frutas cítricas y sus jugos (naranjas, pomelos, limones).
Flavonoles	Quercetina, quempferol, miricetina, isoramnetina	Cebolla amarilla, cebollín, col rizada, brócoli, manzanas, cerezas, té.
Flavonas	Apigenina , luteolina	Perejil, tomillo, apio, ají, orégano.
Isoflavonas	Daidzeína, genisteína, gliciteína.	Soja, alimentos de soja, las leguminosas.

Fuente: (Kumar y Pandey, 2013)

Realizado por: Toctaquiza, Edwin 2018

1.2.2.4. Absorción de flavonoides en humanos

Los flavonoides en la dieta humana por medio de la masticación son liberados siendo absorbidos desde el intestino delgado hasta el colon, pero dicha absorción dependerá en gran medida de sus propiedades fisicoquímicas tales como el tamaño molecular, la configuración, la lipofilia, la solubilidad y el pKa (Kumar y Pandey, 2013).

1.2.2.5. Funciones y propiedades

Los flavonoides son importantes para el desarrollo normal de las plantas; estos se encuentran localizados en la membrana del tilacoide de los cloroplastos, son utilizados en la vía de expresión de dos enzimas mutagénicas. Las funciones de los flavonoides en las plantas se pueden resumir en tres grupos: papel de defensa, papel de señal química y efecto sobre las enzimas (Das et al., 2013), también actúan como un sistema secundario de defensa antioxidante en tejidos vegetales expuestos a diferentes tipos de estrés sea de origen abiótico o biótico (Kumar y Pandey, 2013).

1.2.2.6. Actividad antioxidante

Los flavonoides poseen muchas actividades bioquímicas importantes pero la mejor descrita es su capacidad de actuar como antioxidante, pero esto depende de la disposición de grupos funcionales sobre su estructura nuclear, al igual que su configuración, la sustitución y el número total de los grupos hidroxilos que influyen o intervienen en los diferentes mecanismos de actividad antioxidante como la capacidad de la eliminar radicales libres (Heim, Tagliaferro y Bobilya, 2002).

1.2.3. Apigenina

La apigenina es un flavonoide de origen natural que se encuentra en las frutas y en verduras incluyendo al perejil, cebolla, naranja, té, manzanilla, brotes de trigo y en algunos condimentos (Gupta, Afaq y Mukhtar, 2001), y representa un componente sustancial de la parte no energética de la dieta humana (Aherne y Brien, 2002).

En algunos estudios este flavonoide ha demostrado que posee grandes propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas. Epidemiológicamente recomiendan una dieta muy rica en alimentos que contengan alto contenido de flavonas, para disminuir el riesgo de ciertos tipo de cáncer, como el cáncer de mama, tracto digestivo, piel, próstata y determinadas neoplasias malignas hematológicas (Culebras y Tuñón, 2002) (Hajjar, 2004) (Shukla y Gupta, 2010).

Se ha propuesto que la apigenina promueve la protección de otras enfermedades que se originan por procesos oxidativos, como las enfermedades cardiovasculares y neurológicos. Tomando en cuenta que no se han llevado a cabo ensayos clínicos en humanos que realmente justifiquen la administración de apigenina en la prevención de la enfermedad, es preciso señalar que existe un gran potencial para que la apigenina ayude como un agente quimiopreventivo del cáncer (Shukla y Gupta, 2010, p. 962–978).

La apigenina podría reducir la velocidad a la que aumenta el tamaño del tumor aumentando la velocidad de muerte de las células tumorales y/o disminuyendo la velocidad de proliferación de las células tumorales (Mafuvadze y Liang, 2012). Los efectos anticarcinogénicos de la apigenina se han demostrado en un modelo de carcinogénesis cutánea (Shukla y Gupta, 2010, p. 964-965).

La aplicación tópica de apigenina ha sido capaz de inhibir tumores cutáneos inducidos por dimetilbenzantraceno. Además, la administración de apigenina disminuye la incidencia de cánceres inducidos por la luz UV y aumenta la supervivencia de tejido libre de tumores malignos (Shukla y Gupta, 2010, p. 962–978).

Las propiedades antiinflamatorias de la apigenina son evidentes en estudios que han mostrado la supresión de la actividad de la ciclooxigenasa-2 inducida por lipopolisacáridos y la actividad expresada del óxido nítrico sintasa-2 en macrófagos de ratón (Shukla y Gupta, 2010, p. 962–978).

1.2.3.1. Beneficios de la apigenina en la salud

En los últimos años la apigenina ha ido ganando mucho interés particular como un agente favorable y como un gran promotor para la salud debido a su baja toxicidad intrínseca y extraordinarios efectos sobre las células normales frente a las cancerosas, en distinción con otros flavonoides estructuralmente afines (Gupta, Afaq y Mukhtar, 2001).

Hay muy poca evidencia hasta la fecha que demuestre que la apigenina promueve reacciones metabólicas adversas *in vivo* cuando se consume como parte de una dieta normal. En los últimos años, la apigenina ha sido cada vez más reconocida como un agente quimiopreventivo del cáncer. El interés en los posibles efectos preventivos del cáncer de la apigenina ha aumentado debido a los informes de potentes actividades antioxidantes y antiinflamatorias (Yang et al., 2001b).

El apoyo indirecto para esta suposición se correlaciona con un estudio donde el consumo de dietas con flavonoides por parte de voluntarios humanos sanos, se ha reportado que conduce a una disminución en los marcadores de estrés oxidativo en la sangre (Shukla y Gupta, 2010, p. 962–978)(Yang et al., 2001).

1.2.3.2. Acción de la apigenina como antioxidante

- ✓ Se ha verificado que la apigenina inhibe la mutagénesis bacteriana inducida por benzo [α] pireno y 2-aminoantraceno (Shukla y Gupta, 2010).
- ✓ Promueve la quelación de metales, limpia los radicales libres y estimula las enzimas de desintoxicación de fase II en cultivo celular y en modelos de tumores *in vivo* (Shukla y Gupta, 2010).
- ✓ Se ha confirmado que la exposición a la apigenina antes de un ataque carcinogénico provoca un efecto protector en los modelos de piel murino y cáncer de colon (Shukla y Gupta, 2010).
- ✓ La apigenina es un fuerte inhibidor de la ornitina descarboxilasa, una enzima que desempeña un papel importante en la promoción de tumores (Shukla y Gupta, 2010).
- ✓ Además, se ha demostrado que la apigenina aumenta la concentración intracelular de glutatión, mejorando la defensa endógena contra el estrés oxidativo (Shukla y Gupta, 2010).

1.2.3.3. Apigenina como inhibidor del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-KB)

El factor NF-KB se ha definido como un factor de transcripción ubicuo detectado de forma inactiva casi en todas las células que cuya activación involucra la regulación de una amplia variedad de genes (Gutiérrez y Castillo, 2005, p. 364). Por lo que ha sido ligado al cáncer en múltiples maneras, inhibiendo la activación que induce a los genes que previenen la apoptosis (muerte celular programada), inflamación crónica y la subsecuente activación del NF-KB que puede producir carcinogénesis (Orlando, 2010, p. 55-56).

Se ha identificado que la apigenina es un potente inhibidor de la expresión del factor NF-kB actuando sobre varias células tumorales de próstata, por lo que, en resumen, el ácido úrico en sangre se eleva con la ingesta de alimentos ricos en purinas, pero también con los que contiene fructosa. Por lo que, se recomienda una dieta adecuada en ingerir capsulas de apigenina y vitamina C lo que ayudaría a evitar las oxidación de los radicales libres producto del cáncer (K.Hastak, 2016).

1.2.3.4. Dosis de la apigenina

Gracias al estudio y publicaciones así como del uso habitual de este principio activo la apigenina pura a una dosis de 25 mg por frasco es la más extendida (García., 2005).

1.2.3.5. Solubilidad de la apigenina

La apigenina posee una baja solubilidad en agua (alrededor de 2.34 $\mu\text{g/mL}$), y su lipofilia ($\log P$) es de 0.514 (Zhao *et al.*, 2013), por este antecedente se hace preciso mejorar su solubilidad para mejorar la absorción de este principio activo usando alternativas tecnológico-farmacéuticas.

1.2.4. Microencapsulación

1.2.4.1. Definición

Es el envoltimiento de gotitas líquidas o partículas sólidas finas para formar microcápsulas, que poseen un diámetro promedio tan pequeño desde 1 μm hasta varios cientos de micrómetros (Das *et al.*, 2011), que permite conservar la base esencial de muchos sistemas de los fármacos que tienen como objetivo controlar dónde y cuándo se libera/administra un fármaco, permitiendo que se

degrade lentamente durante un período de tiempo y liberando así su contenido a una velocidad controlada (Das et al., 2011).

El producto resultante del proceso de microencapsulación se denomina "microcápsula" dichas cápsulas son de tamaño micrométrico ($> 1 \mu\text{m}$), y tienen una forma esférica o regular. Las microcápsulas se pueden dividir en dos partes, el núcleo y la cubierta. El núcleo (la parte intrínseca) contiene el ingrediente activo, mientras que la cubierta protege el núcleo permanentemente o temporalmente de la atmósfera externa, una microcápsula se muestra a continuación (Ghosh, 2006).

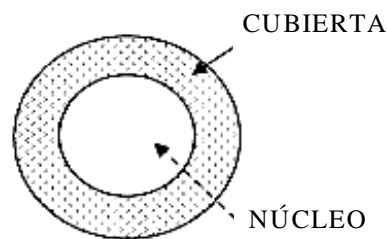


Figura 2-1: Microcápsula

Fuente: (Swapan Kumar Ghosh, 2006a)

Los materiales del núcleo en microcápsulas pueden existir en forma de sólido, líquido o gas, los materiales de núcleo se utilizan con mayor frecuencia en forma de una solución, dispersión o emulsión lo que ayudaría a una mejor encapsulación (Wissing, Kayser y Müller, 2004).

La compatibilidad del material del núcleo con la cubierta es un criterio importante para aumentar la eficacia de la microencapsulación y el pretratamiento del material del núcleo se lleva a cabo muy a menudo para mejorar dicha compatibilidad. El tamaño del material del núcleo también juega un papel importante para las aplicaciones de difusión, permeabilidad o liberación controlada (Swapan Kumar Ghosh, 2006a).

Dependiendo de las aplicaciones, se puede encapsular una amplia variedad de materiales de núcleo, incluyendo pigmentos, colorantes, monómeros, catalizadores, agentes de curado, secuestradores de grasa, plastificantes y nanopartículas (Swapan Kumar Ghosh, 2006a).

1.2.4.2. Beneficios y ventajas de la microencapsulación

La tecnología de microencapsulación es de interés para una amplia gama de industrias, incluidas la farmacéutica, alimentaria, agrícola, biotecnológica, cosmética y de otro tipo con diversas ventajas y beneficios significativos que incluyen: (Das et al., 2011).

- Protección efectiva del ingrediente activo encapsulado contra la degradación.
- Protección de materiales inestables y sensibles de sus ambientes antes de su uso.
- Mejoramiento de la vida útil evitando reacciones de degradación (oxidación, deshidratación).
- Liberación controlada, sostenida o programada.
- Manejo seguro y cómodo de materiales tóxicos.
- Inmovilización de enzima y microorganismos.
- Abordaje de fármacos controlado y dirigido.
- La posibilidad de controlar la velocidad de liberación del ingrediente activo.
- Los pacientes podrán consumir dosis bajas para el efecto terapéutico de la atrofia muscular espinal.
- Se podrá reducir el riesgo de efectos secundarios.
- Enmascaramiento de olor o sabor para tabletas, polvos y suspensiones masticables para medicamentos infantiles.
- Prolongar la forma de dosificación de acción.
- Modificar los caracteres físicos de un material que se requiere en cierta formulación.
- Manipulación controlada y dirigida de medicamentos.
- Los líquidos pueden manejarse como sólidos.
- Manejo seguro y conveniente de sustancias tóxicas.

(Ghosh, 2006)(Das *et al*., 2011).

1.2.4.3. Morfología

La morfología de las microcápsulas depende principalmente del núcleo y del proceso de formación de la cubierta. Las microcápsulas pueden ser de formas regulares o irregulares y, sobre la base de su morfología, pueden clasificarse como mononucleares o microcápsulas continuas de núcleo y cubierta, también pueden ser multinucleares o polinucleares (Das *et al*., 2011).

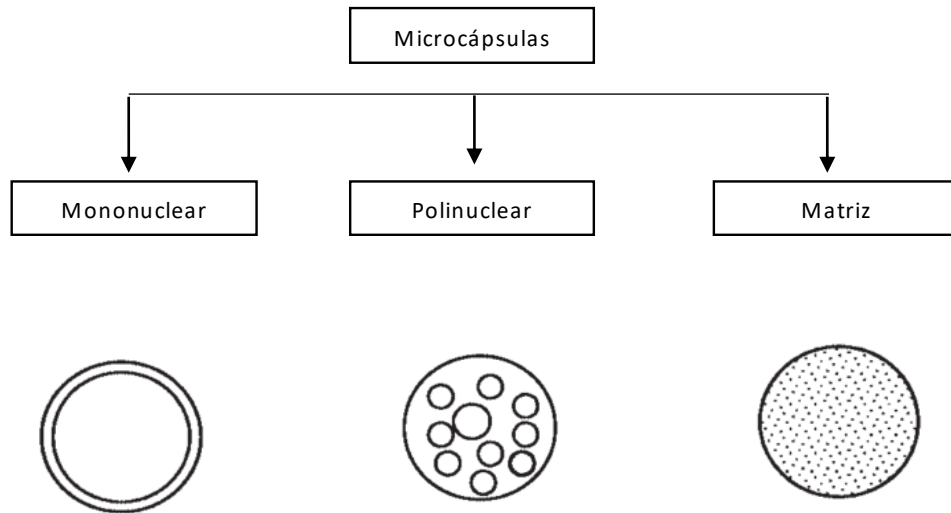


Figura 3-1: Morfología de microcápsulas

Fuente: (Swapan Kumar Ghosh, 2006b)

1.2.4.4. Equipo y procesamiento de microencapsulación

El equipo requerido para producir microencapsulación varía de un equipo de procesamiento complejo a uno simple. Las microcápsulas se pueden procesar en el producto final mediante el uso de equipos comunes tales como V-Blender, tableteadoras, granuladores, homogeneizadores, amasadoras, máquinas de llenado de cápsulas de gelatina dura o equipos de recubrimiento (Das *et al*., 2011).

1.2.5. Métodos de microencapsulación

La microencapsulación es un campo multidisciplinario que se encuentra establecido en el conocimiento y los métodos de química coloidal, química de polímeros, fisicoquímica, bioquímica, física, biotecnología y ciencias de los materiales (Swapan Kumar Ghosh, 2006b) (Das *et al*., 2011).

Tabla 3-1: Métodos de microencapsulación

QUIMICOS		FISICOS	
QUÍMICOS	FÍSICO-QUÍMICO	FÍSICO-MECÁNICO	
<ul style="list-style-type: none"> • Polimerización <ol style="list-style-type: none"> 1. Emulsión <i>in vitro</i>, 2. Suspensión, 3. Dispersión • Policondensación interfacial 	<ul style="list-style-type: none"> • Coacervación • Evaporación de solventes • Extracción de solventes • Capa por capa de adsorción • Precipitación compleja • Gelificación iónica • Precipitación de fluido supercrítico 	<ul style="list-style-type: none"> • Secado por pulverización y congelación • Encapsulación electrostática • Recubrimiento de bandeja • Encapsulamiento al vacío • Extrusión • Suspensión de aire • Centrífuga multicanal. 	

Fuente:(Das *et al*>, 201)

Realizado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

1.2.5.1. Químicos

El método químico más común es la polimerización que debido a su emulsión de aceite en agua, se emulsionan gotitas de monómero en una fase continua de agua. Las suspensiones principales como la polimerización en dispersión y la policondensación interfacial son las técnicas químicas más importantes utilizadas para la microencapsulación.

a) Técnica de polimerización

La técnica de polimerización *in vitro* está estrechamente relacionada con la polimerización interfacial y se utiliza para encapsular líquidos y sólidos inmiscibles en agua. La polimerización de los principios activos encerrados en su interior, produce un prepolímero, de peso molecular relativamente bajo, y luego este prepolímero aumenta de tamaño y se deposita sobre la superficie del material central dispersado que se encapsula, la mayoría de los casos, las cápsulas formadas por estas técnicas tienen una estructura de núcleo continuo (Swapan Kumar Ghosh, 2006b).

➤ Polimerización en emulsión

Es un método utilizado con frecuencia para la preparación de nanopartículas (10 a 1000 nm) e implica la emulsificación de un monómero hidrofóbico en una fase acuosa con la ventaja de que

el monómero de polimerización en emulsión, y el producto final puede usarse tal como se presenta y no necesita generalmente ser modificados (Swapan Kumar Ghosh, 2006b)(Das *et al.*, 2011).

➤ *Polimerización en suspensión*

Es un proceso de polimerización, que utiliza agitación mecánica para mezclar el monómero o la mezcla de monómeros en una fase líquida como el agua, polimerizando las gotas de monómero mientras se dispersan por agitación continua. Este proceso es muy conocido para la formación de partículas de polímero generalmente en un rango de tamaño de aproximadamente 200 a 600 micrómetros (Das et al., 2011).

➤ *Polimerización en dispersión*

Se basa en la polimerización por precipitación en la cual la polimerización comienza con un monómero disuelto en medio de dispersión y termina con un polímero insoluble en forma esférica, el sistema se vuelve heterogéneo después de la nucleación y la estabilización de microesferas frente a la aglomeración se realiza mediante la selección adecuada del estabilizador, disolvente, concentración de iniciador y reticulante, por medio de este método se pueden preparar microesferas con tamaños en el intervalo de 0,4-5 μm (Das et al., 2011).

b) Propiedades y aplicaciones.

El recubrimiento de partículas es de mucho interés en varias aplicaciones, como por ejemplo en una serie de beneficios tales como resistencia al calor, manipulación y, magnetismo, también a propiedades conductoras o mecánicas. A su vez, el recubrimiento de polímero puede proteger el núcleo de las interacciones con el medio ambiente o mejorar la capacidad de proceso del compuesto debido al carácter más flexible del polímero (Swapan Kumar Ghosh, 2006a).

La mayoría de estas propiedades dependen no solo de la composición química sino también del estado de dispersión de las partículas inorgánicas en el material compuesto, y pueden variar significativamente con el tamaño, forma y concentración de la misma (Swapan Kumar Ghosh, 2006b).

1.2.5.2. Métodos fisicoquímicos

a) Coacervación

Es un proceso básico de formación que se da a la pared de la cápsula, existen dos métodos disponibles, que son coacervación simple y compleja. El mecanismo de la formación de microcápsulas para los dos procesos son similares, excepto por la forma en que se lleva a cabo las distintas separaciones de fases. En la coacervación simple se agrega un agente de solvatación para la separación de fases, mientras que el otro método de coacervación compleja implica la complejidad entre dos polímeros cargados opuestamente (Swapan Kumar Ghosh, 2006b). La encapsulación es un fenómeno coloidal que se lleva a cabo bajo agitación continua entre líquidos y sólidos (Das *et al*., 2011).

➤ *Coacervación Simple*

Este método es uno de los más utilizados, el agente se encuentra activo siendo líquido o sólido y dispersándose en una solución de polímero acuoso homogénea. Ha sido empleada para microencapsular eritrocitos obtenidos de sangre de mamíferos, utilizando nitrato de celulosa como material de recubrimiento, la cual consiste en emulsionar los eritrocitos, a un pH apropiado (Martín Villena *et al*., 2009).

La formación de agregados de polímeros coloidales (coacervatos) se produce por un cambio de temperatura o pH. Por lo que, el polímero se deposita sobre una superficie de agente activo, lo que conduce a la formación de microcápsulas suspendidos en una solución o emulsión (Swapan Kumar Ghosh 2006b).

La coacervación simple se basa en la desolvatación parcial de polímeros en sistemas binarios o ternarios y esta desolvatación parcial de polímeros puede inducirse cambiando la temperatura de la solución del polímero, añadiendo a la solución de polímero un no disolvente para el polímero, o agregando sales mediante electrolitos (Swapan Kumar Ghosh 2006b).

La técnica de coacervación simple es muy utilizada ya que se utiliza gelatina y tiene lugar cuando se agrega sustancias fuertemente hidrófilas, como el sulfato de sodio o alcohol, a una solución coloidal en la que se producen dos fases, la cual es rica en gotas coloidales (Das *et al*., 2011).

➤ *Coacervación compleja*

Es el método donde que los polielectrolitos con carga positiva; por ejemplo, gelatina y goma arábiga interactúan para formar un complejo de solubilidad reducida, que interacciona polímero-polímero, donde los polímeros con carga opuesta interactúan bajo la temperatura, pH y concentraciones adecuadas provocando una unión rica en polímero (Das *et al*., 2011).

Se ha definido por ejemplo la encapsulación de dos capas de aceite de parafina, basada en una capa primaria de interfaz de polielectrolito-tensioactivo, seguido por una segunda capa del conjugado complejo polielectrolito-polielectrolito. Este procedimiento implica la dispersión de aceite y parafina en solución de gelatina al 1% y un pH ajustado a 6.5, conteniendo SDS (dodecilsulfato sódico) inferior a su CMC, seguido por la adición gota a gota de la solución del polielectrolito con 1% de goma arábica en la dispersión (Swapan Kumar Ghosh, 2006b, p. 30).

La coacervación compleja se lleva a cabo mezclando dos polímeros con carga opuesta en un disolvente que es generalmente agua; el proceso se muestra esquemáticamente en la Figura 4-1.

Los tres pasos básicos en la coacervación compleja son:

1. Preparación de la dispersión o emulsión;
2. Encapsulación del núcleo;
3. Estabilización de la partícula encapsulada.

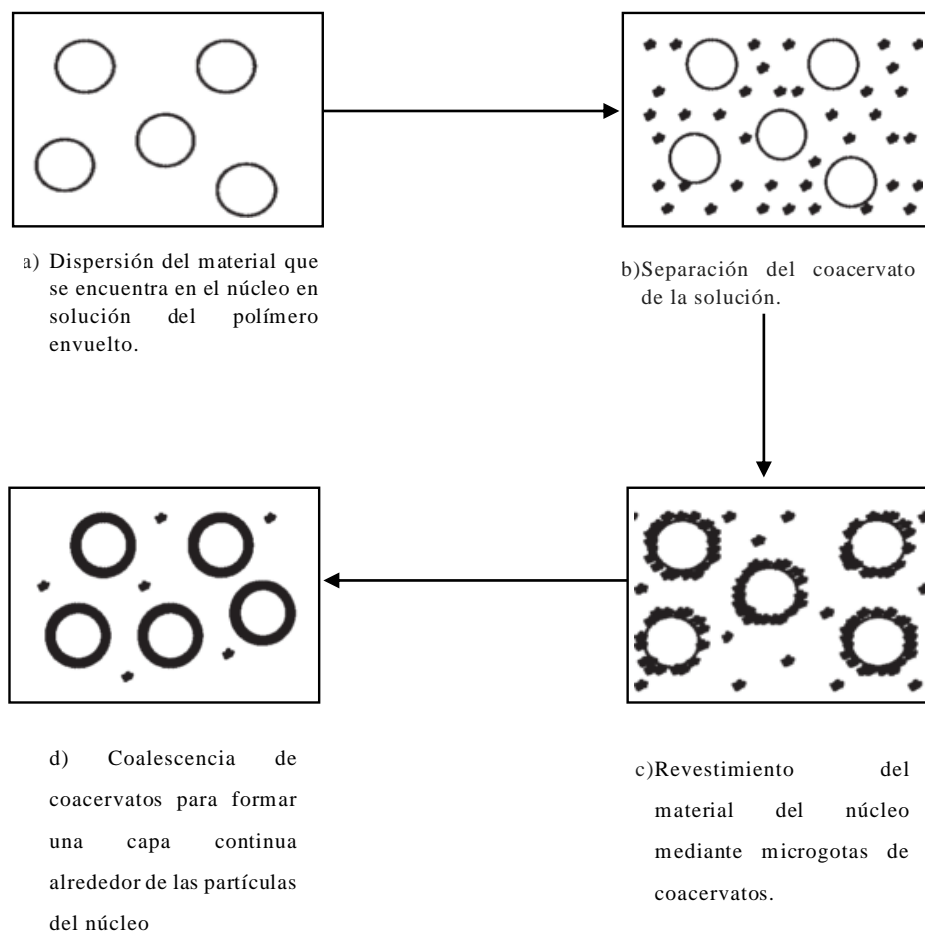


Figura 4-1: Representación esquemática del proceso de coacervación

Fuente: (Swapan Kumar Ghosh, 2006a)

El material del núcleo normalmente un aceite se dispersa en una solución de polímero (por ejemplo, un polímero acuoso catiónico). La segunda solución de polímero (aniónica, soluble en agua) se agrega a la dispersión preparada. La deposición del material de cubierta sobre las partículas del núcleo ocurre cuando los dos polímeros forman un complejo. Este proceso se desencadena por la adición de sal o por el cambio del pH, la temperatura o la dilución del medio (Swapan Kumar Ghosh 2006b).

1.2.5.3. Materiales usados en la microencapsulación

Existe una gran variedad de materiales que han sido utilizados para los métodos de microencapsulación. Entre los distintos materiales que sirven como agentes encapsulantes se encuentran algunos carbohidratos, lípidos, proteínas, y polímeros, en tanto que los agentes activos pueden vehiculizarse en aceites o incluirse directamente en la formulación por su estado físico original (Guevara-Breton y Jimenez-Munguia, 2008, p. 22).

Por lo que, es muy importante conocer las diferentes propiedades tanto del agente encapsulante como del agente encapsulado considerando la técnica necesaria que se va a utilizar y la finalidad que va tener el encapsulado del material, con el propósito de obtener un producto de calidad con características adecuadas y óptimas en cuanto a su tamaño, forma y homogeneidad, cumpliendo así con el objetivo de la microencapsulación. (Guevara-Breton, 2008, p. 22-27).

a) Polímeros

Son la unión de cientos de miles de moléculas pequeñas que se les denomina monómeros, estas forman enormes cadenas de macromoléculas (Cedrón, y otros, 2011).

Existen una amplia variedad de polímeros que se han utilizado para el proceso de la encapsulación y pueden ser sintéticos como naturales, dependiendo del material que se va a encapsular ya sea por el proceso de encapsulación y las características deseadas que queremos obtener del producto final. Los agentes encapsulantes en este caso se pueden clasificar en dos grupos: Hidrofilicos (carbohidratos y proteínas) y materiales hidrófobos (lípidos) (F. M. Sánchez *et al*., 2016).

Características:

- Su bajo punto de fusión que permite procesarlo fácilmente para darle forma.
- Su baja densidad lo cual le hace muy útil en las industrias por ser un producto ligero.
- Posee una pobre conductividad eléctrica y térmica que permite usarlo como aislante.

- Tiene un poco reactividad química que permite tenerlos en contacto con alimentos sin riesgos (Cedron, y otros, 2011).

➤ *Gelatina*

Es una proteína que se encuentra compuesta por aminoácidos, derivado del colágeno y constituye una gran parte de tejido conectivo, este alimento natural posee un excelente poder de gelificación (Crunch, 2007). Se obtiene a partir de materias primas que contengan colágeno, remontándose a dos fuentes principales como los huesos y la piel de animales así como el denominado cuero una vez que se encuentra sin pelo y sin grasa (Crunch, 2007).

La gelatina contiene entre un 84-90% de proteína, 1-2% de sales minerales y agua, la gelatina no contiene conservantes y ningún aditivo, por lo que se encuentra libre de colesterol y de compuestos que contengan ácido úrico. Se emplea hoy en día en los sectores industriales y en productos más diversos, donde se desarrolla de manera muy natural, por su efecto saludable y estabilizador es muy utilizado a nivel de la dieta alimentaria (Comillot, 2005).

En la industria farmacéutica es utilizada para enmascarar, recubrir y proteger medicamentos que sean sensibles a la luz por lo que nos da un gran aporte a la industria farmacéutica (Comillot, 2005).

➤ *Goma arábiga*

Es la extravasación gomosa, resistente al aire, que fluye de forma natural o por incisión del tronco y de las ramas de *Acacia senegal* y de otras especies de *Acacia* de origen africano (Arábica, 1998).

Es llamada goma arábiga también conocida como goma de acacia, goma de Turquía, goma Senegal. La goma arábiga es extraída de muchas especies de leguminosas, se encuentra en los árboles que exudan en forma de esferitas que semejan lágrimas (Gracia, 1838).}

Tabla 4-1: Especificaciones para la goma arábica

ARSÉNICO (AS)	no más de 3ppm
CENIZAS TOTALES (TOTAL)	no más de 5%
CENIZAS (INSOLUBLES EN ACIDO)	no más de 0.5%
METALES PESADOS (COMO PB)	no más de 40ppm
PLOMO	no más de 10ppm
MATERIA INSOLUBLE	no más de 1%
PERDIDA POR SECADO	no más de 15%
AUSENCIA DE ALMIDÓN, DEXTRINAS O TANINOS	de acuerdo a pruebas estándares

Fuente: (Gracia, 1838)

Realizado por: Toctaquiza, Edwin 2018

➤ *Estructura de la goma arábica*

La goma arábica se encuentra en la naturaleza como una sal o un ácido de un polisacárido complejo, conteniendo calcio, magnesio y potasio. La característica estructural se puede observar en el grafico 5-1 , se encuentra una estructura principal con una molécula de cadenas unidas de β -galactopiranososa unida a través de las posiciones 1-3, con cadenas laterales de unidades de galactopiranososa 1-6 terminadas en residuos de ácidos glucurónico o 4-0-metil glucurónico (Gracia, 1838).

Algunos grupos adicionales se unen también a las posiciones C-3 sobre las cadenas naturales de galactosa. La hidrólisis completa de la molécula produce los 4 azúcares básicos: D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa y D-ácido glucurónico, estos azúcares se encuentran en la goma arábica proveniente de todas las especies de acacia (Gracia, 1838).

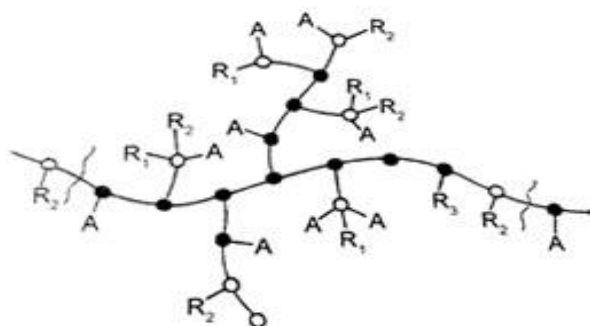


Figura 5-1: Estructura general de la goma arábica

Fuente: (Gracia, 1838)

Además de formar geles de un voluminoso contenido de sólidos de este tipo también se puede usar a concentraciones, mucho menor con otras gomas, como espesantes.

➤ *Solubilidad de la goma arábica*

La goma arábica es insoluble en aceites y en la mayor parte de los solventes orgánicos. Siendo soluble en soluciones acuosas de etanol con un límite de aproximación de un 60% de etanol, y una solubilidad limitada con glicerina y etilenglicol (Gracia, 1838), es soluble en agua tolerando los medios ácidos y tratamientos térmicos, su pH en solución varía entre 4.5 - 8 (Franciscano, 2017 págs. 56-78); sin embargo, la goma arábica puede producir soluciones hasta con 50% de concentración, puede formarse una masa gelatinosa altamente viscosa con las características similares de un gel fuerte de almidón (Gracia, 1838).

b) Agente reticulante

El agente reticulante es muy utilizado a nivel de la química de proteínas y de los polímeros para el propósito de investigación o para el mejoramiento de estabilidad. Comprendiendo también un sin número de utilidades como en la fijación de fármacos o productos químicos a sistemas poliméricos (sistemas de entrega de liberación retardada), y en la elaboración de agentes de contraste ultrasonidos, estabilizados pero biodegradables y por consiguiente rápidamente eliminables sobre microburbujas encapsuladas por medio de liposomas reticulados, proteínas reticuladas o sobre micropartículas de carbohidratos reticulados (Angel y Ventura, 2016).

➤ *Transglutaminasa*

Es una enzima de cadena polipeptídica que contiene 331 aminoácidos con un peso molecular de 38000 Dalton. Cataliza la transformación de un cambio químico de proteínas, mediante la coalición de proteína-proteína, esta enzima actúa bajo ciertas condiciones de temperatura, tiempo y pH (Vergara Olivares, 2011, p. 25-27). La transglutaminasa se encuentra extensamente distribuida en la naturaleza, encontrándose en plantas, mamíferos y microorganismos (Tobertge y Curtis, 2013).

Se ha encontrado aplicaciones importantes en los sectores industriales, desde los cosméticos hasta la industria alimentaria, gracias a muchos procesos fisiológicos y patológicos ha contribuido a las aplicaciones para la industria farmacéutica, por su alto potencial biotecnológico (Arrizubieta, 2007 págs. 567-581).

c) Aceite de almendras

El aceite de almendra se extrae por presión de gérmenes de la almendra, rica en aceite, proteínas y sales minerales. Luego de ser presionado se filtra, quedando un aceite de color amarillo dorado claro y olor muy suave. (Amygdalus et al., 1999).

Tabla 5-1: Porcentajes de los ácidos grasos de aceite de almendra.

ÁCIDOS GRASOS	%
Ácido palmítico	4-9
Ácido palmitoleico	<0.6
Ácido margárico	<0.2
Ácido esteárico	<3
Ácido aráquico	<0.2
Ácido gadoléico	<0.2
Ácido oleico	62-86
Ácido linoleico	10-30
Ácido linoléico	<0.5

Fuente: (Amygdalus et al., 1999)

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018

Otras sustancias como son tocoferoles (como alfa-tocoferol: vitamina E 10- 30 otros esteroides (sobre todo beta-sitosterol 73-87%), glucósidos, oleína, minerales, vitaminas A y B y proteínas.

El aceite de almendras es un aceite vegetal que se utiliza como portador de aceites esenciales. Estimula la producción de colágeno y elastina, por tanto, es un regenerador natural. Es utilizado para todo tipo de piel, sobre todo cuando existe algún problema de irritación y alergia, ya que sus propiedades emolientes naturales, que lubrican y protegen la piel desgastada o escamosa, resultan un excelente apaciguante, especialmente si la piel está seca e inflamada (Amygdalus et al., 1999).

Sus propiedades nutritivas, suavizantes e hidratantes, previenen la sequedad cutánea y restablece la humedad normal de la piel. Se utiliza en formulaciones anti-estrías (incluyendo las grietas del pezón), en fórmulas de manos agrietadas, y es óptimo para aplicación en pieles jóvenes como la de los bebés, donde resulta muy bueno para la eliminación de la costra láctea. En formulaciones capilares se usa para mejorar las condiciones del cabello, especialmente en zonas de clima árido.

Dosis de empleo: Dosis de aplicación entre 1-10%

d) Aceite de oliva

La composición en ácidos grasos del aceite de oliva, tanto cuantitativa como cualitativamente, ha sido de gran interés debido a su importancia en la descripción y detección de posibles adulteraciones. El aceite de oliva es una grasa vegetal que se diferencia de otras grasas vegetales en su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados. La presencia de ácidos grasos libres le confiere al aceite su carácter más o menos ácido, dependiendo de la mayor o menor concentración (Lozano, Fernández-Gutiérrez y Segura-Carretero, 2009, p. 198).

Pero salvo en contadas ocasiones, los ácidos grasos, no se encuentran como ácidos grasos libres, y cuando lo están es tan solo en pequeñas concentraciones, debido a que en su gran mayoría los ácidos grasos se encuentran formando ésteres, habitualmente combinados con glicerina, en forma de triglicéridos. También pueden formar ésteres con alcoholes grasos de estructura lineal (ceras) o terpénica (ésteres de terpenos y ésteres de esteroides) (Lozano, Fernández-Gutiérrez y Segura-Carretero, 2009, p. 198).

Los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva son: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), heptadecanoico (C17:0), heptadecenoico (C17:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoléico (C18:2), linolénico (C18:3), araquídico (C20:0), eicosenoico (C20:1), behénico (C22:0) y lignocérico (C24:0).

Tabla 6-1: Porcentajes de los ácidos grasos de aceite de oliva

ÁCIDOS GRASOS	%
16:0	12.8
18:0	2.7
18:1 n-9	71.9
18:2 n-6	5.6
18:3 n-3	0.7
Otros	6.3
Ácidos grasos saturados	16.3
Ácidos grasos monoinsaturados	77.5
Ácidos grasos poliinsaturados	6.4

Fuente:(Lozano, Fernández, et.al. 2009, p. 199)

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

e) Aceite de ricino

El aceite de ricino es usado por su acción laxante y purgante, ejerce su acción en el intestino delgado, de 2 a 8 horas después de la ingestión, actuando previa hidrólisis por las lipasas pancreáticas, como irritante de la mucosa, estimulando el peristaltismo por vía refleja. Del mismo modo se utiliza en el tratamiento de intoxicaciones alimentarias, y como coadyuvante en tratamientos antihelmínticos (Aceite de ricino virgen, 2003).

El aceite de ricino alivia la irritación producida por cuerpos extraños debido a su acción calmante. También se usa externamente por su efecto emoliente en pomadas, linimentos, y como disolvente en algunas inyecciones. (Aceite de ricino virgen, 2003).

Tabla 7-1: Porcentaje de ácidos grasos
del aceite de ricino

ÁCIDO GRASO	%
Láurico	0.0
Mistirico	0.0
Palmítico	1.01
Esteárico	1.10
Oleico	3.30
Linoleico	4.61
Ricinoleico	89.0

Fuente: (Aceite de ricino virgen, 2003)

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de investigación

Esta es una investigación exploratoria completamente aleatoria, basada en la microencapsulación de apigenina mediante coacervación compleja. Inicia con la evaluación de la solubilidad del principio activo (apigenina) en distintos vehículos oleosos, diseñando por lo menos 3 lotes de microcápsulas variando las diferentes proporciones de polímeros, agente reticulante y vehículo oleoso, con la finalidad de valorar la eficacia de encapsulación de los coacervatos obtenidos de apigenina.

El presente trabajo de titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales y en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Materiales equipos y reactivos

Tabla 1-2: Evaluación de la solubilidad

Materiales	Equipos	Reactivos
Tubos de centrifuga	Centrifuga-Marca: DYNAC III	Aceite de ricino
Gradilla	Sonicador-Marca: Branson 2510	Aceite de almendra
Espátula	Balanza analítica-Marca: RADWAG.	Aceite de oliva
Papel aluminio de cocina	Espectrofotómetro-Marca: S-2150	Apigenina
Pipetas	Vórtex-Marca	
Puntas para pipetas	Pipeta automática	

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018

Tabla 2-2: Elaboración de lotes de microcápsulas

Materiales	Equipos	Reactivos
Vasos de 100 ml Probeta de 100 ml Vasos de 25 ml Espátula Papel filtro Piceta Embudo Büchner Quitato Trípode Embudo normal Tubos de ensayos Balón de 25 ml Balones aforados de 25 ml Vasos de 50 ml Vasos de 500 ml Vasos de 10 ml	Agitadores magnéticos-Marca: Thermo Baño Maria-Marca: Cole-Parmer Liofilizador-Marca: Thermo Bomba de vacío-Marca: Gast pHmetro-Marca: Sper	Gelatina Goma arábica Transglutaminasa (Moo Gloo RM Transglutaminase Formula) Apigenina Aceite de ricino Aceite de sacha Inchi (almendras) Aceite de oliva Ácido acético glacial Agua desionizada

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

Tabla 3-2: Eficiencia de encapsulación

Materiales	Equipos	Reactivos
Vasos de precipitación de 50 ml Papel filtro Espátula	Estufa-Marca: Memmert Espectrofotómetro-Marca: S-2150	Alcohol Agua Coacervatos de Apigenina mas aceite de ricino

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

2.3. Métodos y técnicas

2.3.1. Solubilidad de Apigenina

La determinación de solubilidad de apigenina se llevó a cabo según la metodología descrita por (Zhao et al., 2013, p. 663), la cual se resume en la figura 1-2.

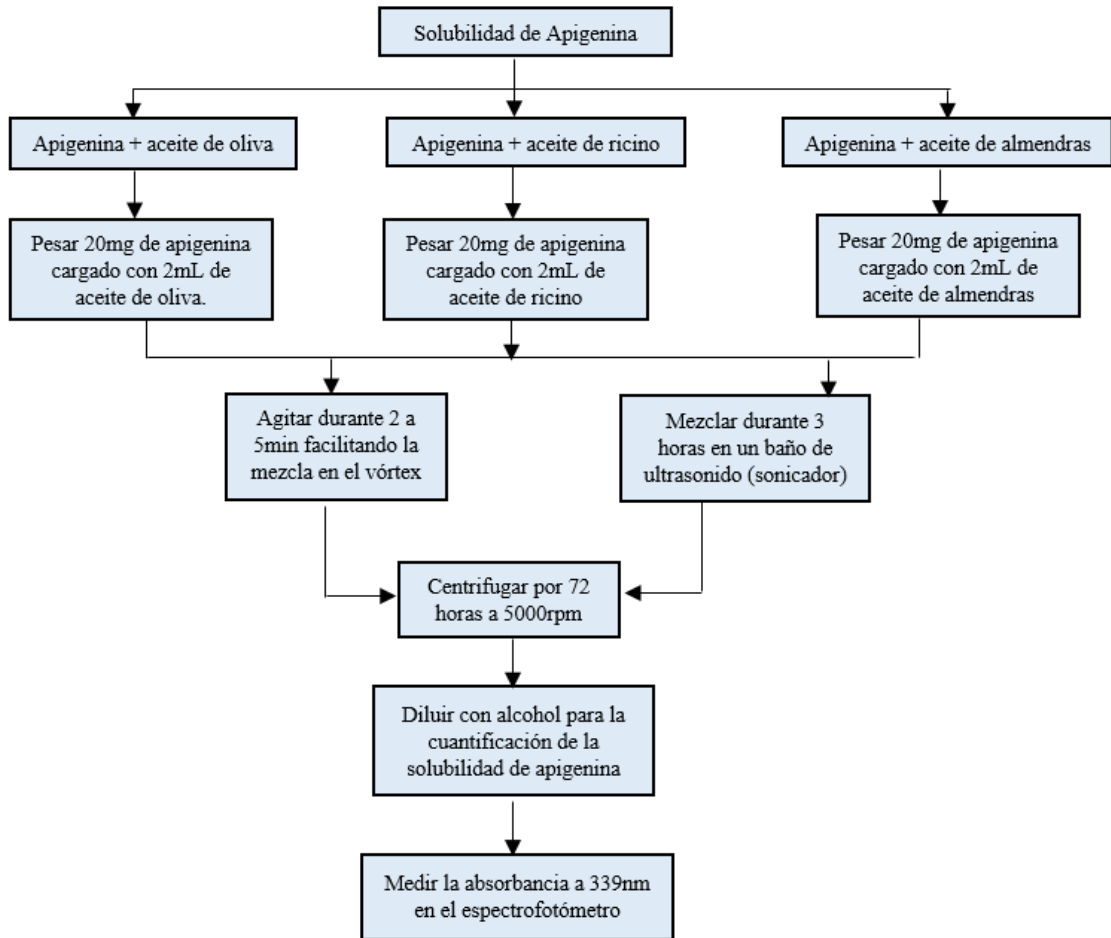


Figura 1-2: Flujograma para la solubilidad de apigenina

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

2.3.2. Elaboración de microcápsulas mediante coacervación compleja

Para la elaboración de MCC según (Zhang et al., 2012, p. 62), se prepararon dos soluciones, una solución de 500 ml de gelatina (1% p/v) y una solución de 500 ml de goma arábiga (1% p/v), se mezclaron uniformemente. Se añadieron por separado los aceites cargados con apigenina a la mezcla y se agitó durante 3 a 5 min en un mezclador magnético, se emulsificó a 10.000 rpm y se ajustó la emulsión a un pH=4 añadiendo una solución de ácido acético al 10% v/v a una velocidad de agitación de 400 rpm por 10 min, después la emulsión se enfrió a 15°C con un baño de hielo.

2.3.2.1. Procedimiento de reticulación

Para la reticulación de los coacervatos se utilizó TG (30.00 U/g de gelatina, 15.00 U/g de gelatina, 7.50 U/g de gelatina y 3.75 U/g de gelatina), se añadió para endurecer las paredes de la microcápsulas bajo agitación. Después de 3 h de endurecimiento, la suspensión de microcápsulas

se trató mediante filtración al vacío y se enjuagaron los coacervatos obtenidos con agua desionizada. Finalmente, se obtuvieron microcápsulas húmedas las cuales se congelaron y fueron sujetas a liofilización.

2.3.2.2. Secado por liofilización

Se prepararon las muestras en cada uno de los recipientes del liofilizado, las muestras se congelaron utilizando nitrógeno líquido, luego se colocó en el sistema de liofilización para llevar a cabo el secado por 24 h (Navas, 2006 págs. 5-10).

2.3.3. Determinación del porcentaje de eficiencia de encapsulación

Se prepararon 9 lotes de microcápsulas mediante el método anteriormente descrito, el diseño experimental utilizado fue el diseño robusto de polígonos ortogonales de Taguchi con 3 niveles y 2 factores con el fin de determinar la eficiencia de encapsulación, las variables utilizadas fueron la concentración de TG y el volumen total de solución para la formación de coacervatos.

Se pesó 0.5 g de los coacervatos, se suspendieron en 5 ml de agua desionizada, luego 0.1 ml de la suspensión fue extraída y disuelta en 10 ml de etanol absoluto, por último, se registró la absorbancia a 336 nm en un espectrofotómetro Cole Palmer S-2150.

2.3.4. Determinación de higroscopicidad

La determinación de higroscopicidad se llevó a cabo por triplicado, colocando en canastas de papel aluminio un peso total de 1 g de coacervatos, a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante, el peso fue registrado por periodos de 12 horas durante 15 días de ensayo.

CAPÍTULO III

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis general

Ho: Los parámetros de obtención de las microcápsulas, así como de sus componentes permitirán obtener una formulación adecuada para que el %EE supere el 15%.

3.2. Objetivos de la investigación

3.2.1. *Objetivo general*

Preparar microcápsulas de apigenina por el método de coacervación compleja, para mejorar su estabilidad fisicoquímica frente a factores ambientales.

3.2.2. *Objetivos específicos*

- Evaluar la solubilidad de apigenina en distintos vehículos oleosos.
- Diseñar al menos 3 lotes diferentes de microcápsulas de apigenina utilizando como polímeros formadores gelatina y goma arábiga, variando las proporciones de polímeros, agente reticulante (TG) y vehículo oleoso para la formación de las microcápsulas.
- Valorar la eficiencia de encapsulación de apigenina en los coacervatos obtenidos.

3.3. MARCO DE RESULTADOS

3.3.1. Determinación de la solubilidad de la Apigenina

La determinación de la solubilidad de apigenina se realizó una curva de calibración, obteniendo una ecuación que permita encontrar los miligramos de apigenina disueltos, para alcanzar la cantidad del activo disponible en futuros ensayos.

Para lo cual se elaboraron soluciones de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 ppm de apigenina obteniendo en la siguiente tabla.

Tabla 8-3: Cuadro de resultados de solubilidad.

APIGENINA ppm	ABSORBANCIA
5	0,5831
10	0,67
15	0,7727
20	0,8612
25	0,96
30	1,017
35	1,142
40	1,231

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

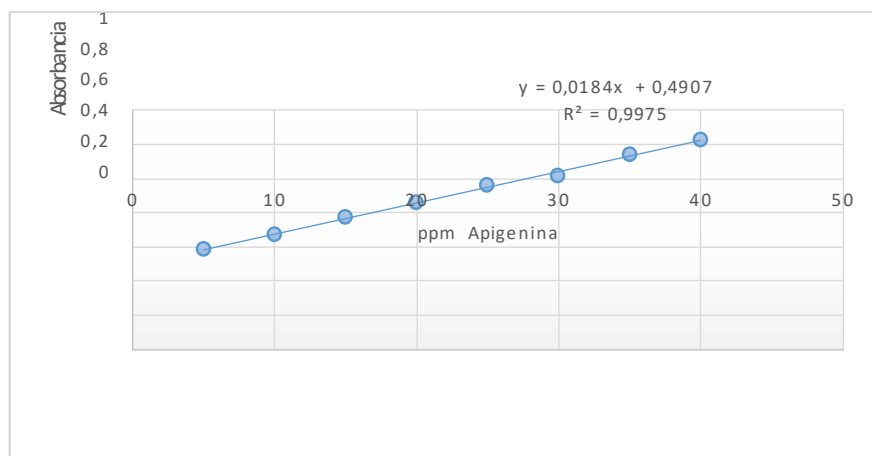


Gráfico 1-3: Curva de calibración para determinar ppm de apigenina.

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

Como se ve en el gráfico 1-3, se pudo obtener una ecuación a partir de la curva de calibración, la misma fue $y = 0,0184 X + 0,4907$, con un R^2 de 0,9975, donde X representa los ppm de apigenina que se encontraron en los coacervatos.

Los valores de la solubilidad en los diferentes aceites se expresaron en mg/ml de aceite, utilizando la ecuación obtenida anteriormente, de donde se desprende la siguiente tabla.

Tabla 2-3: Valores de solubilidad

Aceite	Almendras	Oliva	Ricino
Solubilidad (mg/ml)	1,501±0,01	3,114 ±0,07	14,146 ±0,05

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

La tabla 2-3 refleja los valores de la solubilidad de apigenina en los diversos vehículos oleosos utilizados, por la composición química de los aceites, la cual es similar en triglicéridos se esperaba que la solubilidad de la apigenina sea similar en cada caso, pero como resultado se obtuvo una diferencia de solubilidad marcada para cada aceite.

Es así que en el aceite de almendras se obtuvo la menor cantidad de apigenina solubilizada dando como resultado 1,501 mg/ml, comparado con la cantidad de apigenina en el aceite de oliva, el valor se duplica llegando a disolverse hasta 3,114 mg/mL de aceite, pero el aceite que permitió una mejor solubilidad de apigenina, fue el aceite de ricino, con un valor de 14,146 mg de apigenina disueltos por cada ml de aceite de ricino.

Estos resultados podrían permitir que se forme complejos micro encapsulados de apigenina con aceites comestibles, para que puedan ser administrados por vía oral, y específicamente las posibles formulaciones que se obtengan con aceite de ricino serían apreciadas porque este vehículo permite disolver la mayor cantidad de apigenina.

Una ventaja de utilizar aceites fijos para la formación de coacervatos es la fácil disponibilidad para adquirir los mismos, por lo que la elaboración de estos coacervatos representaría una forma de cambiar la administración de este flavonoide de manera segura y económicamente asequible.

Una manera de comprender que es lo que hace que difiera la solubilidad en los distintos aceites, son sus propiedades fisicoquímicas, siendo así cabe mencionar que el aceite de ricino presentaba más densidad en comparación con los aceites de oliva y almendras además de que su composición

lipídica es diferente, y dado que la apigenina por su elevada liposolubilidad sería más afín al medio que presenta un perfil lipídico con cadenas hidrocarbonadas más grandes.

3.3.2. Obtención de las microcápsulas de apigenina

Se elaboraron nueve lotes diferentes de microcápsulas en los cuales se variaron las proporciones en volumen de los polímeros goma arábica (GA) y gelatina (G), la concentración del agente reticulante transglutaminasa (TG), como también el volumen de solución de apigenina (AP) disuelta en aceite de ricino. El diseño originó la siguiente tabla de combinaciones.

Tabla 9-3: Formulaciones para la obtención de microcápsulas.

Formulación	AP (ml)	G(ml)	GA (ml)	Volumen Total (ml)	TG (U)
C1	2	25	50	75	30
C2	4	25	50	75	15
C3	6	25	50	75	3.75
C4	2	50	50	100	30
C5	4	50	50	100	15
C6	6	50	50	100	3.75
C7	2	50	25	75	30
C8	4	50	25	75	15
C9	6	50	25	75	3.75

C: Coacervato

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

Tabla 10-3: Rendimiento de microcápsulas de apigenina

FORMULACIÓN RENDIMIENTO (mg)

C1	1610
C2	199
C3	-----
C4	191
C5	3842
C6	-----
C7	203
C8	1534
C9	-----

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018

Al término de la formación de cada lote de microcápsulas en todos los casos se obtuvieron coacervatos húmedos de color blanco. De todas las formulaciones realizadas la que presentó un mejor rendimiento fue la formulación C5, con relación al de las demás. Sin embargo, C5 tiene en común con C8 la cantidad de TG, la cual fue de 15 U que se detalla en la tabla 3-3, viendo esto las formulaciones que presentan esta cantidad de TG, tienen valores estimables en relación al rendimiento.

La TG al ser una enzima que permite la reticulación, en el caso de este estudio permite que los coacervatos se consoliden de manera adecuada, en las microcápsulas que se utilizó una cantidad baja de TG se observó que la formación de los coacervatos no se verifica, tal como se puede observar en el rendimiento de las formulaciones C3, C6 y C9, las mismas que estaban acompañadas de la cantidad más elevada de apigenina en comparación a las demás formulaciones, siendo esta el valor de 6 ml (60 mg de apigenina).

La sobrecarga de AP en estas formulaciones, acompañados de una baja cantidad de TG, pudo desembocar en que los coacervatos no lleguen a reticularse, incluso después de acondicionar a la solución a una temperatura óptima para que la enzima realice su actividad, la cual fue de 15°C.

3.3.3. Determinación de la eficiencia de encapsulación

Al momento de realizar los coacervatos, el medio resultante de la centrifugación fue analizado mediante espectrofotometría obteniéndose la absorbancia respectiva, para lo cual se encontró la cantidad de apigenina que no fue encapsulada mediante el uso de la ecuación obtenida en la curva de calibración.

Luego de la formación de las microcápsulas se procedió a realizar la metodología descrita por (Zhang et al., 2012, p. 62), obteniéndose los resultados descritos en la tabla 5-3.

Para calcular el % de eficiencia de encapsulación (%EE) se utilizó la fórmula $\%EE = ((A-B) / A) \times 100$, donde A representa la cantidad total de apigenina en las microcápsulas y B representa la cantidad libre de apigenina en el medio de disolución después de la centrifugación.

Los %EE expresados en la tabla 5-3 fueron calculados a partir de las microcápsulas que se formaron, relativas a las formulaciones C1, C2, C4, C5, C7, C8.

Tabla 11-3: Eficiencia de encapsulación

Muestra	%EE
C1	65,8
C2	61,35
C4	73,79
C5	80,67
C7	78,08
C8	82,52

Elaborado por. Toctaquiza, Edwin 2018.

El porcentaje de eficiencia de encapsulación supera el 60% en todos los casos, los valores que se obtuvieron son comparables con los estudios realizados por (Zhang et al., 2012, p. 62), pero en la presente investigación la mejor formulación corresponde a C8 la cual presenta una mayor eficiencia de encapsulación, como se verifica en la tabla 5-3, C8 contenía una concentración intermedia de TG, al igual que la cantidad de apigenina disuelta, por lo que probablemente estas condiciones favorecerían la actividad de la enzima logrando una mayor reticulación de los coacervatos, respecto a las demás formulaciones.

En cuanto a C2 que presentó el menor %EE, el cual fue de 61,35%, su formulación difiere con C8 en las proporciones de G y GA, por lo que la TG al tener mayor cantidad de G, en el caso de C8, trabajo de mejor forma, aumentando la cantidad de coacervatos, lo que sugiere que la enzima a la mayor concentración de G no es saturada realizando su actividad de manera eficiente.

Por lo tanto, la concentración de TG y G, para alcanzar la mayor cantidad de coacervatos, debe ser de 15 U/g gelatina, con 50 ml de solución de gelatina, lo que conlleva a un óptimo efecto reticulante de la enzima, este resultado varía en relación a los obtenidos por (Zhang et al., 2012, p. 62) el cual describe en su trabajo que obtiene mejor rendimiento y %EE, utilizando 15U/g de sustrato utilizado, lo que podría estar relacionado a diferencias con el tipo de TG utilizadas en cada caso.

Mediante el uso de la herramienta estadística SPSS, se realizó la prueba de ANOVA de un factor para encontrar si existe diferencia significativa relacionando la eficiencia de encapsulación con los factores, TG, Volumen total, G y GA, con un $p \leq 0,05$.

Figura 1-3: Análisis de anova de un factor.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: MCC

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	1726,663 ^a	5	345,333	9,986	,044
Interceptación	3025,642	1	3025,642	87,489	,003
TG	1512,856	2	756,428	21,873	,016
VT	,740	1	,740	,021	,893
TG * VT	5,247	2	2,623	,076	,929
Error	103,750	3	34,583		
Total	5269,844	9			
Total corregido	1830,412	8			

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: MCC

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	1804,481 ^a	5	360,896	41,752	,006
Interceptación	3337,445	1	3337,445	386,106	,000
TG	1669,090	2	834,545	96,548	,002
G	55,265	1	55,265	6,394	,086
TG * G	28,540	2	14,270	1,651	,328
Error	25,932	3	8,644		
Total	5269,844	9			
Total corregido	1830,412	8			

Fuente: SPSS

EL valor de significancia de TG es inferior a 0,05, lo que se interpreta que, si se varía la concentración de TG en las formulaciones, la respuesta que se obtiene es directamente hacia la formación de las microcápsulas, en cuanto al volumen total, presenta un valor de significancia mayor a 0,05 lo cual no afecta directamente a la formación de las microcápsulas, deduciendo que, si se aumenta o se disminuye el volumen de las soluciones de G y GA, no va a ver un cambio en la eficiencia de encapsulación de los coacervatos.

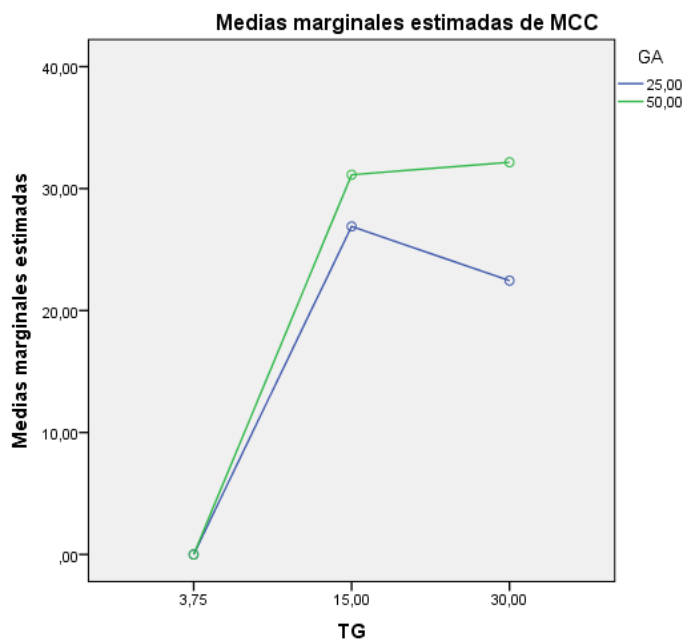


Gráfico 2-3: Formación de coacervatos

Fuente: SPSS

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

La grafica 2-3 explica de mejor forma como varía la formación de las microcápsulas de acuerdo al valor de TG que se utiliza para la obtención de los coacervatos, siendo así que 15 U de transglutaminasa es la concentración óptima combinado con una proporción de 2:1 de G y GA, respectivamente.

3.3.4. Determinación de la Higroscopicidad.

El ensayo de higroscopicidad se realizó como una prueba extra de control de calidad de las microcápsulas obtenidas.

Tabla 12-3: Higroscopicidad

Formulaciones	Peso inicial(mg)	Peso final(mg)
C1	1.008	1196.4
C2	1.011	1165.7
C4	1.049	1186,5
C5	1.020	1179.7
C7	1,001	1349.7
C8	1.005	1197.3

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

Para obtener el % de higroscopicidad se calcula la media de cada uno de los pesos, inicial y final, respectivamente, y el valor final se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{P_{final} - P_{inicial}}{P_{final}} \times 100$$

De esta manera se reemplaza los datos y se calcula de la siguiente manera

$$\%H = \frac{1212,55mg - 1015,66mg}{1212,55} \times 100$$

$$\%H = 16,23 \pm 1,45$$

Tabla 13-3: Valores de higroscopicidad obtenidos.

FORMULACION	%H
C1	15.75
C2	13.27
C4	11.589
C5	13.54
C7	25.84
C8	16.06

Elaborado por: Toctaquiza, Edwin 2018.

El valor de higroscopicidad calculado, indica que las microcápsulas una vez liofilizadas absorben una gran cantidad de humedad del ambiente, de esta manera los coacervatos pueden verse afectados por la presencia de agua en su estructura, generando contaminación microbiana de las microcápsulas, o verse afectada la apigenina por hinchamiento de las microcápsulas ingresando factores ambientales como luz y oxígeno, provocando un daño a la molécula.

Por lo que se debe tener precaución a la hora de almacenar los coacervatos desarrollados, e intentar mantenerlos en recipientes herméticos y almacenarlos en lugares frescos y secos.

CONCLUSIONES:

- Se obtuvieron microcápsulas/coacervatos de apigenina comprobando que el método es fácilmente reproducible y no presenta dificultades en su elaboración.
- Se evaluó que la apigenina presenta una mayor solubilidad en aceite de ricino con respecto al aceite de almendra y oliva, obteniéndose $14,146 \pm 0,05$ mg/ml de solubilidad.
- Se diseñó una formulación de microcápsulas de apigenina, concluyendo que la mejor es la combinación de 15 U de transglutaminasa y una proporción de 2:1 de gelatina y goma arábica respectivamente.
- Se valoró que el %EE de apigenina en los coacervatos fue de 82,52% siendo la mejor formulación C8.
- Se determinó que las microcápsulas tienen la capacidad de absorber humedad del ambiente del 11-25% en relación a su peso.

RECOMENDACIONES:

- Continuar con el estudio de microencapsulación de apigenina realizando los diferentes ensayos de liberación del principio activo
- Adquirir equipos de laboratorio que permitan desarrollar de mejor manera la elaboración de las microcápsulas.
- Solicitar a las autoridades que se entregue materiales de laboratorio a los “tesistas” porque resulta miserable desarrollar los trabajos de titulación en condiciones tan mezquinas, y dado que estos trabajos son el corazón de la investigación ayudarían a mejorar la calidad de la Facultad de Ciencias y la ESPOCH en general.

BIBLIOGRAFÍA:

AHERNE, Aisling, et.al. Dietary Flavonols : Chemistry , Food Content , and Metabolism. , vol. 9007, no. 1., 2002, pp. 75-81.

AMYGDALUS, Prunus, et.al. **Descripcion**, Aceite de almendras dulces., 1999, pp. 10-12.

ANGEL, Atrian, et.al. Agente reticulante. , vol. 100001, no 2., 2016 pp. 1-22.

ARÁBIGA, Goma, Fichas de información técnica.,1998.

ÁVALOS,Adolfo, et.al. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, vol. 2, no. 3., 2009, pp. 119-145.

CARE, Fundación Pharmaceutical, Tercer Consenso de Granada sobre Problemas Relacionados con Medicamentos (PRM) y Resultados Negativos asociados a la Medicación (RNM). , vol. 48, no. 1., 2007, pp. 5-17.

CARTAYA, Inés, et.al. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, vol. 22, no. 2., 2001.

CARTAYA,Reynaldo, et.al. Flavonoides : características químicas y aplicaciones. , 2001.

CULEBRAS, J.M. y TUÑÓN, M.J., Los flavonoides : propiedades y acciones antioxidantes., 2002, pp. 271-278.

DAS, Arunabha, et.al. Microencapsulation Techniques and its Practices. *International Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 6, no. 2., 2011, pp. 1-23.

DAS, Rahman, et.al. Efficacy of PLGA-loaded apigenin nanoparticles in Benzo[a]pyrene and ultraviolet-B induced skin cancer of mice: Mitochondria mediated apoptotic signalling cascades. *Food and Chemical Toxicology* [en línea], vol. 62., 2013, pp. 670-680.

GHOSH, Swapan Kumar, *Functional coating by polymer microencapsulation*. S.l.: s.n., 2006.

GUEVARA, Jimenez, et.al. Materiales utilizados en la encapsulación. , vol. 2., 2008, pp. 22-27.

GUEVARA-BRETON, et.al. *Materiales utilizados en la encapsulacion* [en línea], s.n. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-1/TSIA-2\(1\)-Guevara-Breton-et-al-2008a](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-1/TSIA-2(1)-Guevara-Breton-et-al-2008a).

GUPTA, Hasan, et.al. Selective growth-inhibitory, cell-cycle deregulatory and apoptotic response of apigenin in normal versus human prostate carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 287, no. 4., 2001, pp. 914-920.

GUTIÉRREZ, Emilio, et.al. El papel del factor de transcripción NF- B en la célula κ cardíaca Salomón. , vol. 75., 2005.

HAJJAR, Ramzi R. Cancer in the elderly: Is it preventable. *Clinics in Geriatric Medicine*, vol. 20, no. 2., 2004, pp. 293-316.

HEIM, Dennis J. et.al. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 13, no. 10., 2002, pp. 572-584.

HERRERA, Nestor, et.al. El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto., 1988.

KUMAR, Abhay K., et.al. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview. , vol. 2., 2013.

LEE,Young-chan., et.al. Effects of friedelin on the intestinal permeability and bioavailability of apigenin. *Pharmacological Reports.*, 2017

LOZANO, Jesús., et.al. Composición del aceite de oliva. *Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía*, vol. 48, 2009., pp. 197-224.

MAFUVADZE, Yayun., et.al. Apigenin Induces Apoptosis and Blocks Growth of Medroxyprogesterone Acetate-Dependent BT-474 Xenograft Tumors., 2012, pp. 160-171.

MARTÍN, Ruiz., et.al. Técnicas de microencapsulación: Una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica*, vol. 50, no. 1., 2009, pp. 43-50.

ORLANDO, Ricardo., El factor de transcripción nuclear kappa en las enfermedades humanas. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* [en línea], vol. 48, no. 1., 2010, pp. 55-60.

SÁNCHEZ, Bernalte, et.al. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2016.

SÁNCHEZ, GONZÁLEZ-GÓMEZ., et.al. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* [en línea], vol. 34, ., 2016, pp. 243-249.

SHUKLA, Sanjay, et.al. Apigenin: A promising molecule for cancer prevention. *Pharmaceutical Research*, vol. 27, no. 6., 2010, pp. 962-978.

SWAPAN KUMAR GHOSH, *Edited by Swapan Kumar Ghosh by polymer Microencapsulation*. S.l.: s.n., 2006a.

SWAPAN KUMAR GHOSH, *Functional Coating by Polymer Microencapsulation*. belgica: s.n., 2006b.

TOBERGTE, Shirley., et.al. *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*. S.l.: s.n., 2013.

TRUEBA, Gilberto Pérez., Los flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, vol. 22, no. 1., 2003, pp. 48-57.

VERGARA OLIVARES, Paulina María., Efecto de adición de enzima transglutaminasa en el desarrollo de pan a base de harina de quínoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), 2011.

VIEIRA, Roberto y SILVEIRA, Damaris., Secondary Metabolites. , no. March., 2012.

WISSING, S.A., KAYSER, O. y MÜLLER, R.H., Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, no. 9., 2004, pp. 1257-1272.

YANG, Chung, et.al. Inhibition of carcinogenesis by dietary., 2001a, pp. 381-406.

YANG, Chung, et.al. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. , no. 1., 2001b, pp. 381-406.

ZHANG, Shanshan, et.al. Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [en línea], vol. 89, no. 1., 2012, pp. 61-66.

ZHAO, Lili, et.al. Design and evaluation of a self-microemulsifying drug delivery system for apigenin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 39, no. 5., 2013, pp. 662-669.

ANEXOS:

ANEXO A: Pesaje de la gelatina y goma arábica



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO A: Sonicación de apigenina con diferentes aceites.



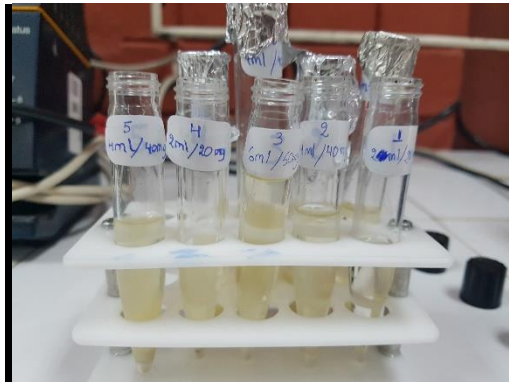
Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO B: Centrifugación de las mezclas por 72h



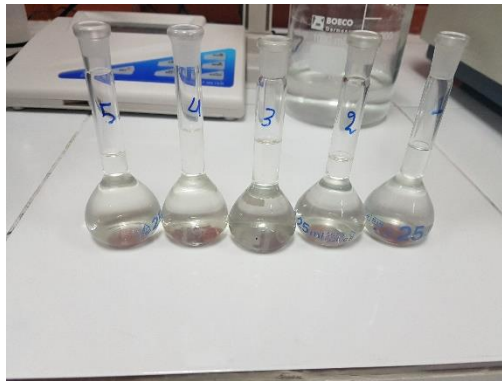
Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO C: Apigenina cargado con diferentes aceites



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO D: Solubilidad de apigenina con los sobrenadantes obtenidos



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO E: Medición de la solubilidad en el espectrofotómetro UV.



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO F: Coacervatos emulsificados



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO G: Filtración al vacío



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO H: Coacervatos húmedos



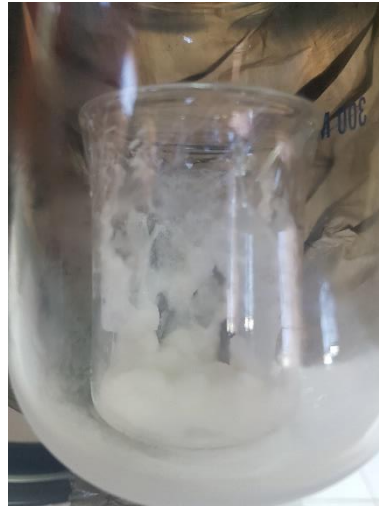
Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO I: Lioflizador



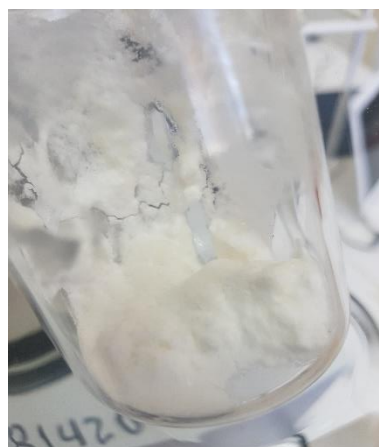
Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO J: Coacervatos liofilizados



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO K: Coacervatos cristalizados



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO L: Higroscopicidad



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO M: Microcápsulas de apigenina



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO N: Modelo del tratamiento de datos en la herramienta estadística SPSS.

	AP	C	GA	VT	TG	MDC
1	2,00	25,00	50,00	50,00	30,00	34,73
2	4,00	25,00	50,00	75,00	10,00	34,43
3	6,00	25,00	50,00	25,00	3,75	,00
4	2,00	50,00	50,00	100,00	30,00	20,59
5	4,00	50,00	50,00	120,00	10,00	27,56
6	6,00	50,00	100,00	150,00	3,75	,00
7	2,00	50,00	75,00	75,00	30,00	27,46
8	4,00	50,00	75,00	120,00	10,00	26,10
9	6,00	50,00	25,00	100,00	3,75	,00

Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO O: Transglutaminasa Moo Gloop



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.

ANEXO P: Aceites: Almendras, Oliva , Ricino



Fuente: Toctaquiza, Edwin 2018.