



Aceite de hígado de tiburón microencapsulado: Desarrollo de una formulación de cápsulas duras

[Microencapsulated shark liver oil: Development of hard capsule formulation]

Caridad M. García Peña¹, Mirna Fernández Cervera^{2*}, Mirta Castiñeira Díaz², Orestes D. López Hernández³, Vivian Martínez Espinosa¹, Antonio Nogueira Mendoza¹

¹Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 # 1605 e/ Puentes Grandes y Boyeros. La Habana, Cuba.

²Dpto. Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de la Habana. Calle 222 No. 2317 e/ 23 y 21, La Habana. Cuba.

³Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. Avenida de los Chasquis. Ambato, Ecuador.

*E-mail: mirnafc@ifal.uh.cu; mirnafc@gmail.com

Abstract

Context: The recognized properties of shark liver oil support its use as a raw material, of natural origin, in pharmaceutical formulations.

Aims: To develop a formulation of hard capsules containing microencapsulated shark liver oil, by spray drying, and to evaluate the stability.

Methods: The stability of the emulsions was evaluated, at room temperature and refrigeration, by means of heat stress tests and destabilization by centrifugation, determining the organoleptic characteristics, pH and conductivity. The oil microencapsulation process was carried out, through the spray drying process on a laboratory and industrial scale, evaluating the established physical-chemical parameters. The technological development of the hard capsules was carried out, using the dry method, carrying out the stability, shelf life and accelerated studies, respectively.

Results: The emulsions maintained their stability under the evaluated conditions. The results obtained in the industrial scaling demonstrate the feasibility of scaling the spray drying method for the microencapsulation of the shark liver oil mixture. The quality parameters of the hard capsules, containing the microencapsulated oil, fulfilled with the established limits, demonstrating their stability for 24 months.

Conclusions: The reproducibility of the technological process established on a laboratory and industrial scale was demonstrated, as well as the homogeneity of the properties of the microencapsulated oil. The design and development of a hard capsule formulation was achieved, containing microencapsulated oil, with adequate physical, chemical and microbiological stability, for 24 months.

Keywords: hard capsules; microencapsulation; shark liver oil; stability; spray drying.

Resumen

Contexto: Las reconocidas propiedades del aceite de hígado de tiburón avalan su empleo como materia prima, de origen natural, en formulaciones farmacéuticas.

Objetivos: Desarrollar una formulación de cápsulas duras conteniendo aceite de hígado de tiburón microencapsulado, mediante secado por aspersión, evaluando su estabilidad.

Métodos: Se evaluó la estabilidad de las emulsiones, a temperatura ambiente y refrigeración, mediante pruebas de estrés térmico y desestabilización por centrifugación determinando las características organolépticas, pH y conductividad. Se realizó el proceso de microencapsulación del aceite, mediante el proceso de secado por aspersión a escala de laboratorio e industrial, evaluando los parámetros físico-químicos establecidos. Se llevó a cabo el desarrollo tecnológico de las cápsulas duras, mediante vía seca, realizando los estudios de estabilidad, por vida de estante y acelerado, respectivamente.

Resultados: Las emulsiones mantuvieron su estabilidad en las condiciones evaluadas. Los resultados obtenidos en el escalado industrial, demuestran la factibilidad de escalar el método de secado por aspersión, para la microencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón. Los parámetros de calidad de las cápsulas duras, conteniendo el aceite microencapsulado, cumplieron con los límites establecidos, demostrándose su estabilidad durante 24 meses.

Conclusiones: Se demostró la reproducibilidad del proceso tecnológico establecido a escala de laboratorio e industrial, así como la homogeneidad de las propiedades del aceite microencapsulado. Se logró el diseño y desarrollo de una formulación de cápsulas duras, conteniendo aceite microencapsulado, con adecuada estabilidad física, química y microbiológica, durante 24 meses.

Palabras Clave: aceite hígado de tiburón; cápsulas duras; estabilidad; microencapsulación; secado por aspersión.

ARTICLE INFO

Received: August 30, 2020.

Received in revised form: October 20, 2020.

Accepted: October 24, 2020.

Available Online: December 2, 2020.



INTRODUCCIÓN

Las cápsulas constituyen, después de los comprimidos, la forma de dosificación sólida más utilizada, lo cual está justificado por las innegables ventajas que presentan como son: protegen al fármaco de agentes externos (polvo, el aire, la luz), no así frente a la humedad; elevada resistencia física que puede incrementarse mediante el envasado en blíster y enmascaramiento de forma eficaz de características organolépticas desagradables. También son fácilmente identificables, tanto por parte del fabricante como del paciente. Proporcionan estabilidad al fármaco debido al bajo número de componentes y a la ausencia del agua en las etapas de su elaboración, permitiendo la incorporación de sustancias incompatibles, previa granulación o microencapsulación, entre otras (Villafuerte, 2011; Calvo et al., 2015; Martínez, 2017).

Las cápsulas rígidas, o también conocidas como duras, contienen un número reducido de excipientes, por lo que presentan una elaboración y composición sencilla, lo que facilita el control de posibles incompatibilidades, y entre las operaciones que conlleva su elaboración, además de la pulverización y mezclado, propias de los polvos, se incluye únicamente el llenado. Como materiales de relleno pueden emplearse polvos, granulados, pellets, microcápsulas, comprimidos, material semi-sólido. La única exigencia es que el material no sea capaz de reaccionar con la gelatina o interferir con la integridad de la cubierta (Villafuerte, 2011; Calvo et al., 2015; Martínez, 2017).

El gran desafío que supone el desarrollo de procesos tecnológicos para la obtención de ingredientes farmacéuticos activos de calidad farmacéutica, a partir de fuentes naturales, ha limitado su aceptación en la industria farmacéutica. Para el empleo de una materia prima de origen natural no oficializada en ninguna farmacopea, como es el caso del aceite de hígado de tiburón, es necesario realizar su evaluación físico-química, desarrollar y validar los métodos analíticos, establecer las especificaciones de calidad, evaluar la estabilidad del mismo, así como su inocuidad.

El hígado del tiburón constituye una importante fuente natural de vitaminas A, D y E, y ácidos grasos saturados e insaturados. Estudios previos han demostrado la presencia de estas vitaminas en la mezcla de aceite de tiburones del litoral norte de Cuba, resultando la vitamina A y el ácido palmítico sus componentes mayoritarios (García et al., 2016).

Mediante la microencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón, a través del proceso de secado por aspersión, se logró una estabilidad de hasta 12 meses del aceite microencapsulado, a diferencia del aceite sin microencapsular estable solo por seis meses. En los procesos de microencapsulación desarrollados se han empleado como agentes encapsulantes la goma arábiga o el acetato de quitosana y la maltodextrina, mejorando, además, las características organolépticas del aceite (García et al., 2016; 2018a,b).

Teniendo en cuenta el número reducido de excipientes, así como la elaboración y composición sencilla de las cápsulas duras, y con el fin de contribuir a la aplicación del aceite de hígado de tiburón microencapsulado, con la goma arábiga y maltodextrina como agentes encapsulantes, se desarrolló una formulación de cápsulas duras evaluando su estabilidad durante 24 meses.

MATERIALES Y MÉTODOS

Productos químicos y reactivos

La mezcla de aceite de hígado de tiburón (Lote 016) fue suministrada por el Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP, Cuba). La goma arábiga y maltodextrina fueron suministrados por Roeper (Alemania) e Himedia (India), respectivamente. Las sustancias de referencia química de los ácidos grasos: C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2 n6 fueron suministradas por Fluka (pureza 99,0 %, Sigma-Aldrich, Alemania), así como el n-hexano. El resto de los reactivos y soluciones fueron de calidad analítica (Merck, Alemania). La sustancia de referencia química de vitamina A acetato fue suministrada por el Grupo de Sustancias de Referencias del CIDEM, Cuba. Otros componentes empleados

fueron: celulosa microcristalina MC-200 (Blanver, Brasil), sodio almidón glicolato (Blanver, Brasil), aerosil (Degussa, Alemania) y estearato de magnesio (Undesa, España).

Preparación y evaluación físico-química de las emulsiones

Se elaboraron emulsiones según la metodología descrita por García et al. (2018a), envasadas en frascos de polietileno de baja densidad (F3), liner y tapa de polietileno de alta densidad (T3) con sello de inviolabilidad, capacidad nominal 30,0 g (Frasplast, Cuba) y almacenadas a temperatura ambiente ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) y en refrigeración ($5 \pm 3^\circ\text{C}$) analizando el comportamiento durante 60 días. Se evaluó la apariencia visible y el volumen de fase acuosa separado. Las determinaciones de pH, conductividad y turbidez se realizaron según lo descrito por De la Paz et al. (2017).

Micrencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón y evaluación de las microcápsulas

En la Planta de Productos Naturales y Sintéticos (PPNS) del CIDEM se utilizó un minispray dryer (Büchi B-191, Suiza), escala de laboratorio, mientras que a escala industrial se empleó un secador Sam Young Chemical Machinery Co. Ltd (Corea), con un atomizador de disco centrífugo; diámetro de 35 cm, capacidad de evaporación ≥ 7 kg/h, velocidad de giro desde 6 000 hasta 12 000 r/min. Se elaboró un lote de 10,0 kg, según la metodología descrita por García et al. (2018a). Durante el proceso el flujo de aire de atomización, así como las partículas, se mantuvieron en la misma dirección (en paralelo). Las temperaturas de entrada y de salida de aire fueron 150 y 90°C , respectivamente.

A las microcápsulas obtenidas le fueron evaluadas las características organolépticas, eficiencia de encapsulación y rendimiento (López et al., 2009), contenido de humedad, de vitamina A (García et al., 2018a) y de los ácidos palmítico, esteárico, linoélico y oleico (García et al., 2016), y conteo microbiano (USP 40, 2017).

Para el análisis estadístico se empleó el programa Statgraphics Centurion XV versión 15.2.05

StatPoint, Inc.) determinando el estadígrafo t-Student, para muestras relacionadas, previa demostración de la distribución normal de los datos; el criterio de aceptación establecido fue $p < 0,05$.

Elaboración y evaluación de las cápsulas duras conteniendo aceite microencapsulado

La formulación de cápsulas duras (formato cero, Farmacápsulas, Colombia) contenía aceite microencapsulado, celulosa microcristalina MC-200 como relleno, sodio almidón glicolato como desintegrante, aerosil y estearato de magnesio como lubricantes. Se estableció una cantidad de aceite microencapsulado de 230 mg/cápsula, elaborando tres lotes pilotos de 10,0 kg cada uno identificados como 14001, 14002 y 14003, en el Departamento de Formas Terminadas del CIDEM.

A las mezclas de polvos se le evaluaron, por triplicado, el tamaño de partículas, la velocidad de flujo, el ángulo de reposo, las densidades aparentes de vertido y asentamiento, el contenido de humedad y los índices de Carr y Hausner (Martínez, 2017; USP 40, 2017).

En el proceso de llenado de las cápsulas duras se empleó la encapsuladora Dott Bonapace (Italia), fijando el peso de una cápsula en 550 ± 50 mg.

La determinación de las propiedades de las cápsulas incluyó: características organolépticas, peso promedio, contenido de humedad, desintegración, uniformidad de contenido (por variación en peso) y conteo microbiano (USP 40, 2017), así como los contenidos de vitamina A, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 n6, respectivamente (García et al., 2018a).

Estabilidad de las cápsulas con aceite microencapsulado

El estudio de estabilidad se realizó por vida de estante y acelerado, a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ y $70 \pm 5\%$ de humedad relativa y $40 \pm 2^\circ\text{C}$ y $75 \pm 5\%$ de humedad relativa, respectivamente. Para ambos estudios se emplearon los tres lotes de cápsulas de aceite de hígado de tiburón microencapsulado, envasados en frascos plásticos de polietileno de baja densidad con un contenido de 30 cápsulas y bolsa de sílica gel, con cierre hermético. El estudio acelerado se

realizó con una frecuencia de análisis de inicio, 1, 2, 3 y 6 meses, mientras que el de vida de estante al inicio, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses (Regulación 23 - CECMED, 2000).

La evaluación de las cápsulas incluyó características organolépticas, contenido de humedad y desintegración. La determinación del contenido de vitamina A y de los ácidos grasos se realizó por métodos validados previamente (García et al., 2016; 2018a).

La estabilidad microbiológica de las muestras en vida de estante fue determinada a través del conteo diferencial de bacterias (CB) y hongos (CH), al inicio y a los 24 meses, empleando el método general de conteo microbiano para productos no estériles (USP 40, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de las emulsiones

En la Tabla 1 se muestran los valores de pH, conductividad y turbidez a corto plazo (inicial) bajo condiciones de estrés térmico y centrifugación, y a largo plazo (7 días) a temperatura ambiente y de refrigeración.

La goma arábiga es un emulsionante genuino que confiere funcionalidad no sólo por la modificación de la viscosidad de la fase acuosa, sino también por formar una capa macromolecular estabilizante alrededor de las gotas de aceite (en general, la fase dispersa). Se observa que el pH, a largo plazo, aumenta para ambas condiciones de

almacenamiento, respecto al valor inicial. Bajo condiciones de estrés térmico y centrifugación, el comportamiento del pH fue similar. La conductividad al inicio y final del estudio, independientemente de las condiciones de almacenamiento, aumentó, en correspondencia con el aumento del pH. El comportamiento fue similar bajo condiciones de estrés térmico y centrifugación. Al analizar los resultados del estudio de desestabilización por centrifugación, se observaron ligeras diferencias al ser comparados con los obtenidos por estrés térmico.

Según Ferreira et al. (2016), a mayor turbidez, mayor estabilidad, demostrándose su disminución bajo condiciones de estrés térmico y de centrifugación. Bajo las condiciones de refrigeración se logró una disminución de la turbidez respecto al valor inicial. No obstante, a la condición de almacenamiento ensayada o el factor de estrés (térmico o centrifugación), es necesario señalar que en todos los casos la apariencia de las emulsiones fue cremosa, sin separación de fases.

El proceso de microcapsulación por el método de secado por aspersión, es un proceso continuo, donde primeramente se elabora la emulsión e inmediatamente se procede a realizar el secado por aspersión. De ocurrir alguna situación imprevista durante el proceso de obtención de las microcápsulas, se demuestra la estabilidad de las emulsiones durante 7 días en condiciones de temperatura ambiente ($30 \pm 2^\circ\text{C}$ y $70 \pm 5\%$ de humedad relativa).

Tabla 1. Estabilidad de las emulsiones.

Condición	Corto plazo			Largo plazo		
	pH	Conductividad (mS/cm ²)	Turbidez (%)	pH	Conductividad (mS/cm ²)	Turbidez (%)
Inicial	4,31 ± 0,005	2,23 ± 0,005	99,8 ± 0,06	4,31 ± 0,005	2,23 ± 0,005	99,8 ± 0,06
Estrés térmico	4,62 ± 0,005	2,31 ± 0,005	98,5 ± 0,06	4,60 ± 0,010	2,50 ± 0,020	98,4 ± 0,06
Centrifugación	4,63 ± 0,005	2,35 ± 0,010	98,7 ± 0,10	4,60 ± 0,005	2,41 ± 0,005	98,5 ± 0,06

Los datos son expresados como media ± desviación estándar (n = 3).

Proceso de microencapsulación

Los sistemas de atomización de los secadores utilizados fueron diferentes: tobera y disco centrífugo, para escala de laboratorio e industrial, respectivamente.

La semejanza geométrica de los secadores empleados a nivel de laboratorio e industrial fue demostrada por López et al. (2009), quienes calcularon la capacidad de evaporación de agua a las temperaturas empleadas, a partir de los gráficos de capacidad referidas por los fabricantes para la máxima temperatura posible a alcanzar por el equipo, que depende a su vez de la capacidad del sistema de calentamiento, que es eléctrico en ambos casos. Como criterio de escalado se decidió mantener iguales temperaturas de entrada y salida, 150 y 90°C, respectivamente.

En la Tabla 2 se muestran las propiedades de las microcápsulas de aceite, recién elaboradas, a escala de laboratorio e industrial. El contenido de humedad fue inferior al límite establecido para estos productos <10,0% (USP 40, 2017). El análisis del contenido de humedad depende directamente de las condiciones en cada equipo y es un parámetro de gran valor para los productos que van a ser utilizados en formulaciones sólidas. Es considerado un indicador del agua evaporada, encontrándose un comportamiento acorde al intervalo de valor teórico (3 a 5%), predeterminado en el diagrama psicrométrico para el sistema aire-vapor de agua bajo las condiciones en que se trabajó (López y Gómez, 2008; López et al., 2009). Se observaron elevados porcentajes de eficiencia de encapsulación a escala industrial, al ser comparado con la escala de laboratorio, debido al empleo del atomizador de disco centrífugo. El comportamiento del rendimiento fue similar al observado para la eficiencia de encapsulación, atribuido al mayor volumen de emulsión procesado y a la presencia en el secador industrial de un dispositivo para evitar la deposición del polvo durante el proceso, que en el caso del laboratorio no se emplea por ser la cámara de secado de vidrio (López y Gómez, 2008; López et al., 2009).

Al comparar estadísticamente los resultados del contenido de vitamina A y ácidos grasos, antes y

después de microencapsular (Tabla 3), a nivel de laboratorio e industrial, se demostró que el proceso de microencapsulación no afectó significativamente los mismos, ya que los valores de t-Student calculados fueron inferiores al tabulado, para un 95,0% de confianza. En cada caso fue comprobada previamente la distribución normal de los datos por Anderson-Darling ($p>0,05$). La no existencia de diferencias significativas entre el contenido de vitamina A y ácidos grasos, antes y después del proceso de microencapsulación, demuestra que el proceso de microencapsulación, no afectó el contenido de los mismos. Los AP y AE son ácidos grasos saturados mientras que los AO y AL son ácidos grasos insaturados, que resultan más inestables (Giogios et al., 2008), evidenciándose que el proceso no afectó a los mismos.

En la Fig. 1 se aprecia que las microcápsulas presentan una forma esferoidal con ondulaciones, típica de partículas microencapsuladas mediante secado por aspersion con maltodextrina que poseen líquido en su interior (Tewa et al., 2007; López et al., 2009). No se observaron poros y presentaron una superficie lisa, aspectos importantes para la estabilidad de las microcápsulas, ya que los poros facilitan la entrada de oxígeno y pueden provocar la oxidación de los ácidos grasos y, por otra parte, la salida del material encapsulado al exterior, lo que conduce a la disminución de la eficiencia de encapsulación en el tiempo (Soottitawat et al., 2015).

Las estructuras de las microcápsulas formadas, al redispersarse en agua, formaron una nanoemulsión de aceite microencapsulado, demostrado por los valores de diámetro medio de las gotículas, a escala de laboratorio (45,17 nm) e industrial (97,83 nm), con una distribución bimodal, lo que demuestra la homogeneidad en la formación de las nanodispersiones del aceite a partir de las microcápsulas (Fig. 2).

El conjunto de los resultados obtenidos a escala de laboratorio e industrial demuestran la reproducibilidad del proceso de microencapsulación de la mezcla de aceite de hígado de tiburón empleando la combinación de los agentes encapsulantes evaluados.

Tabla 2. Propiedades de las microcápsulas obtenidas.

Parámetro	Laboratorio	Industrial	Criterio
Características organolépticas	Responde	Responde	Sólido de color blanco o amarillo claro sin partículas extrañas
Contenido de humedad (%)	3,90 ± 0,21	3,12 ± 0,04	≤ 10,0 %
Eficiencia de encapsulación (%)	58,0 ± 0,50	87,2 ± 0,10	≥ 70,0 %
Rendimiento (%)	51,2 ± 0,80	88,5 ± 0,10	≥ 50,0 %
Vitamina A (µg/g)	200,78 ± 0,10	200,60 ± 0,02	46,07 - 576,96
	t cal (0,06) < t tab (2,20)		
Ácido palmítico (%)	35,75 ± 0,23	35,88 ± 0,04	≥ 9,94
	t cal (0,61) < t tab (2,20)		
Ácido oleico (%)	28,67 ± 0,16	30,57 ± 0,25	≥ 15,36
	t cal (0,34) < t tab (2,20)		
Ácido esteárico (%)	9,42 ± 0,28	9,12 ± 0,06	≥ 4,76
	t cal (0,36) < t tab (2,20)		
Ácido linoleico (%)	2,17 ± 0,08	3,11 ± 0,04	≥ 1,01
	t cal (0,10) < t tab (2,20)		
Conteo microbiano	Cumple	Cumple	Recuento total de m.o. aerobios ≤ 10 ³ ; Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras ≤ 10 ² ; Ausencia de <i>E. coli</i>

Los datos son expresados como media ± desviación estándar (n = 3).

Tabla 3. Comparación de los contenidos de vitamina A y ácidos grasos entre escalas, antes y después de microencapsular.

Parámetro	t calculada	
	Laboratorio	Industrial
Vitamina A	0,89	0,06
Ácido palmítico	0,66	0,61
Ácido oleico	0,30	0,34
Ácido esteárico	0,11	0,36
Ácido linoleico	0,49	0,10

t tabulada (11; 0,05) = 2,20

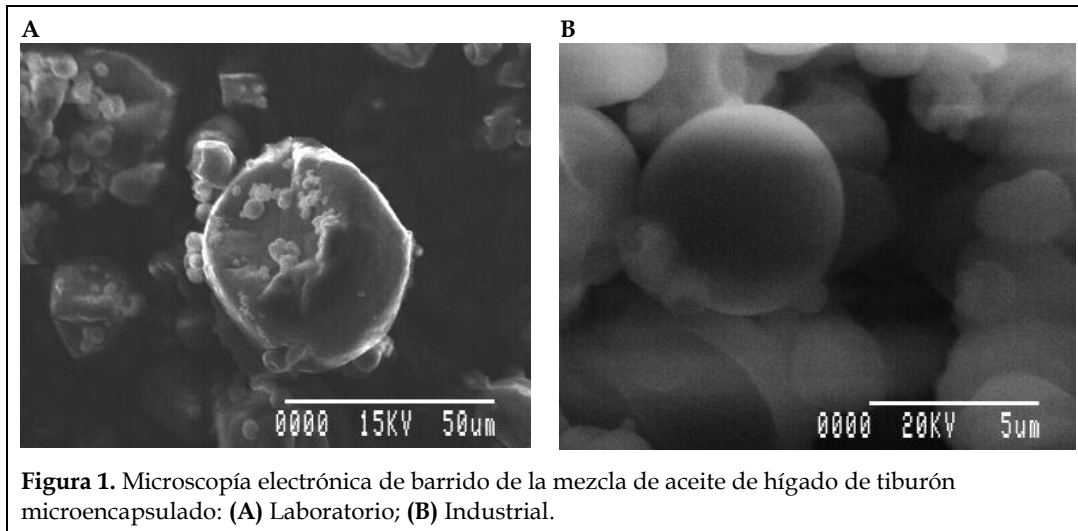


Figura 1. Microscopía electrónica de barrido de la mezcla de aceite de hígado de tiburón microencapsulado: **(A)** Laboratorio; **(B)** Industrial.

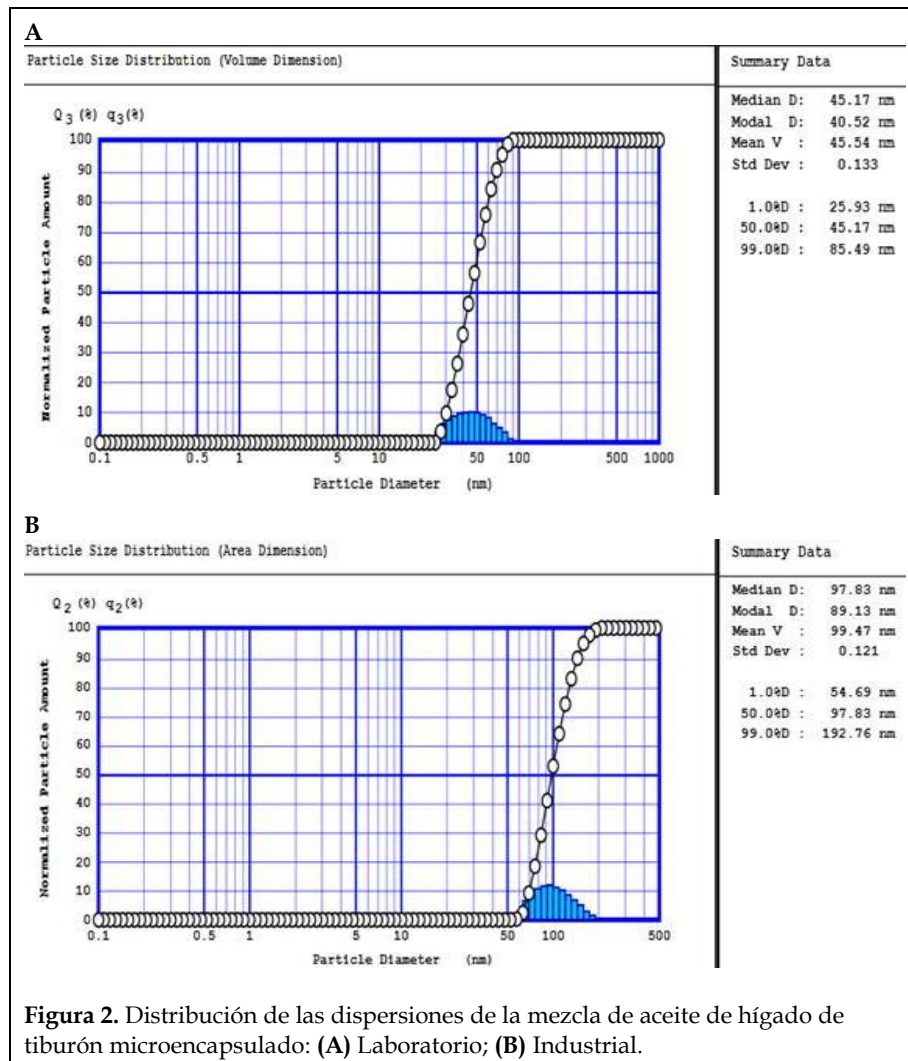


Figura 2. Distribución de las dispersiones de la mezcla de aceite de hígado de tiburón microencapsulado: **(A)** Laboratorio; **(B)** Industrial.

Tabla 4. Propiedades físico-químicas y tecnológicas de las mezclas de polvos.

Parámetro	L-14001	L-14002	L-14003	Criterio
Tp (mm)	0,272	0,256	0,257	0,25 - 0,28
Vf (g/cm ² s)	7,52 ± 0,19	7,63 ± 0,16	7,37 ± 0,22	<7,0
AR (°)	29,20 ± 0,66	28,63 ± 0,43	29,57 ± 0,52	<30
Dv (g/cm ³)	0,43 ± 0,04	0,42 ± 0,02	0,42 ± 0,03	<1,0
Da (g/cm ³)	0,54 ± 0,06	0,52 ± 0,04	0,53 ± 0,05	<1,0
IC (%)	20,6	20,0	20,0	16,0 - 20,0
IH	1,25	1,25	1,25	1,19 - 1,25
Contenido de humedad (%)	7,30	7,68	7,92	<8,0

Tp-tamaño medio de partícula; Vf-velocidad de flujo; AR-ángulo de reposo; IC-índice de Hausner; IC-índice de Carr; HR-humedad residual; Dv-densidad aparente de vertido; Da-Densidad aparente por asentamiento.

Aceite de hígado de tiburón microencapsulado: formulación de cápsulas duras

El método seleccionado, para el desarrollo tecnológico de la formulación de cápsulas duras para administración oral, fue por vía seca. Hasta el presente no existen reportes en la literatura científica del empleo del aceite microencapsulado de hígado de tiburones del litoral norte de Cuba, en el desarrollo tecnológico de cápsulas duras.

La selección de los excipientes es una etapa importante dentro del desarrollo de un medicamento, pues estos pueden definir o influir sobre la calidad del producto final (Christian, 2006). Primeramente, se evaluó la fluidez de las microcápsulas observándose que estas por si solas no fluían, los valores de densidad aparente de vertido y de asentamiento, se encontraban fuera de los límites establecidos. Los valores de índice de Carr y Hausner fueron 31,0% y 1,42, respectivamente, demostrando la pobre fluidez del aceite microencapsulado.

Los productos microencapsulados presentan tamaños de partículas muy pequeños, lo cual provoca un incremento de la fricción entre los sólidos y la superficie, debido a la gran área superficial que caracteriza a estos productos, lo que justifica la adición de excipientes que mejoren estas propiedades (Villafuerte, 2011; Shilpa y Pradeep, 2012).

Por lo que en la formulación desarrollada se incluyeron lubricantes y deslizantes (estearato de magnesio y aerosil) y diluyentes (celulosa micro-

cristalina). Los mismos son de amplio uso en la elaboración de formas terminadas sólidas, como las cápsulas duras, empleándose en los porcentajes recomendados (Villafuerte, 2011; Rowe et al., 2009).

Las propiedades de las mezclas de polvos se muestran en la Tabla 4. El tamaño medio de partícula fue entre 0,25 y 0,28 mm; el contenido de humedad residual entre 7,30 y 8,10% y los valores de densidad aparente y de vertido resultaron inferiores a 1,0 g/cm³. Los índices de Car y Hausner, permitieron clasificar a las mezclas de polvos, para cada uno de los lotes elaborados, con una fluidez aceptable, ya que los resultados se encontraron en los rangos de 16 a 20% y de 1,19 a 1,25, respectivamente. Los valores de ángulo de reposo y velocidad de flujo resultaron menores de 30° y superiores a 7 g/cm²s, respectivamente (Calvo et al., 2015; Martínez, 2017; USP 40, 2017).

Demostrado el cumplimiento de las propiedades físico-químicas y tecnológicas de las mezclas de polvos, se procedió a su encapsulación, determinándose las propiedades físico-mecánicas y tecnológicas, así como los aspectos que aseguran la calidad de las cápsulas (Tabla 5). Los valores obtenidos en cuanto al peso promedio, contenido de humedad y desintegración se encuentran dentro de los límites propuestos para las cápsulas de aceite de hígado de tiburón, así como también las características organolépticas y la uniformidad de contenido por variación en peso. Igual comporta-

Tabla 5. Propiedades de las cápsulas.

Propiedad	L-14001	L-14002	L-14003	Criterio
Peso promedio (mg)	567,07 ± 0,10	552,39 ± 0,10	559,53 ± 0,10	550 ± 50
Contenido de humedad (%)	4,6 ± 0,10	4,8 ± 0,1	4,3 ± 0,10	<8,0
Desintegración (min)	21	20	18	<30
Características organolépticas	Responde	Responde	Responde	Cápsulas duras de olor y color característico
Uniformidad de contenido (%)	6,04	5,33	2,88	VA ≤ 15,0
Vitamina A (µg/cápsula)	17,1 ± 0,10	15,8 ± 0,20	16,4 ± 0,20	10,60 - 132,70
Ácido palmítico (%)	36,0 ± 0,10	38,2 ± 0,20	37,3 ± 0,10	≥9,94
Ácido oleico (%)	30,2 ± 0,10	29,8 ± 0,10	37,4 ± 0,20	≥15,36
Ácido esteárico (%)	8,84 ± 0,11	9,13 ± 0,08	8,82 ± 0,11	≥4,76
Ácido linoleico (%)	3,24 ± 0,09	2,86 ± 0,06	3,17 ± 0,09	≥1,01

Los datos son expresados como media ± desviación estándar (n = 6). VA: valor de aceptación

miento fue obtenido para los contenidos de vitamina A y ácidos grasos, estos últimos se reportan con relación al contenido total de ácidos grasos en base al 100,0%.

Los resultados del control de la calidad demuestran que los lotes cumplen con lo establecido en las especificaciones de calidad de las cápsulas de aceite de hígado de tiburón microencapsulado, demostrándose que existe reproducibilidad en el proceso tecnológico de elaboración de estas.

Estabilidad de las cápsulas con aceite microencapsulado

Los estudios de estabilidad acelerados permiten predecir, mientras que los estudios de estabilidad de vida de estante posibilitan establecer el periodo de vigencia del producto, así como el envase y las condiciones de almacenamiento adecuadas, garantizando la estabilidad de este en las condiciones establecidas (Regulación 23 - CECMED, 2000).

Los estudios de estabilidad acelerada (Tabla 6) y de vida de estante (Tabla 7) evidenciaron que el producto no se afectó con la temperatura, ni la humedad, a la que fueron expuestos los tres lotes, ya que todos los parámetros cumplieron con los límites propuestos.

El análisis de la influencia del tiempo (inicial y 24 meses) para los contenidos de vitamina A y ácidos grasos mostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) cuando se analizan los tiempos por pares. No obstante, desde el punto de vista de la calidad química, como las disminuciones en los contenidos de vitamina A y ácidos grasos fueron inferiores al 5,0% (Regulación 23 - CECMED, 2000), se considera que no existen cambios significativos en el producto terminado en las condiciones ensayadas, y por tanto es estable.

Las cápsulas no presentaron alteraciones en sus características organolépticas en el periodo de tiempo evaluado. Los valores de contenido de humedad y desintegración se mantuvieron dentro de los límites establecidos para las cápsulas. El conteo microbiológico realizado a los 24 meses cumplió con los límites establecidos para este parámetro (USP 40, 2017).

Se demuestra la estabilidad física, química y microbiológica de las cápsulas de aceite de hígado de tiburón microencapsulado, durante 24 meses, almacenadas a temperatura ambiente ($30 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ de humedad relativa); envasadas en frascos plásticos de polietileno de baja densidad con un contenido de 30 cápsulas y bolsa de gel de sílice, con cierre hermético.

Tabla 6. Estabilidad acelerada de las cápsulas con aceite microencapsulado.

Parámetro	Tiempo (mes)	L-14001	L-14002	L-14003
Características organolépticas	0	Responde	Responde	Responde
	1	Responde	Responde	Responde
	2	Responde	Responde	Responde
	3	Responde	Responde	Responde
	6	Responde	Responde	Responde
Desintegración (min)	0	21	20	18
	1	22	22	19
	2	23	22	20
	3	23	24	20
	6	24	24	22
Vitamina A ($\mu\text{g}/\text{cápsula}$)	0	17,10 \pm 0,12	15,84 \pm 0,18	16,35 \pm 0,16
	1	17,02 \pm 0,16	15,65 \pm 0,15	16,20 \pm 0,13
	2	16,89 \pm 0,16	15,43 \pm 0,24	16,09 \pm 0,10
	3	16,72 \pm 0,23	15,30 \pm 0,09	15,95 \pm 0,05
	6	16,61 \pm 0,20	15,18 \pm 0,05	15,84 \pm 0,13
Ácido palmítico (%)	0	36,00 \pm 0,10	38,24 \pm 0,15	37,27 \pm 0,08
	1	35,83 \pm 0,10	38,11 \pm 0,14	37,08 \pm 0,04
	2	35,71 \pm 0,09	37,96 \pm 0,13	36,81 \pm 0,10
	3	35,59 \pm 0,16	37,53 \pm 0,19	36,63 \pm 0,12
	6	35,42 \pm 0,09	37,39 \pm 0,11	36,42 \pm 0,04
Ácido oleico (%)	0	30,24 \pm 0,12	29,75 \pm 0,14	37,40 \pm 0,22
	1	30,13 \pm 0,05	29,62 \pm 0,09	37,08 \pm 0,38
	2	30,02 \pm 0,04	29,37 \pm 0,23	36,81 \pm 0,10
	3	29,77 \pm 0,11	29,07 \pm 0,11	36,63 \pm 0,24
	6	29,45 \pm 0,24	28,57 \pm 0,17	36,42 \pm 0,18
Ácido esteárico (%)	0	8,84 \pm 0,11	9,13 \pm 0,08	8,82 \pm 0,11
	1	8,68 \pm 0,06	8,91 \pm 0,16	8,54 \pm 0,06
	2	8,37 \pm 0,07	8,58 \pm 0,10	8,32 \pm 0,11
	3	8,10 \pm 0,07	8,21 \pm 0,02	8,15 \pm 0,11
	6	7,67 \pm 0,16	7,93 \pm 0,07	7,73 \pm 0,11
Ácido linoleico (%)	0	3,24 \pm 0,09	2,86 \pm 0,06	3,17 \pm 0,03
	1	3,16 \pm 0,09	2,56 \pm 0,07	2,62 \pm 0,11
	2	2,75 \pm 0,08	2,29 \pm 0,08	2,45 \pm 0,08
	3	2,43 \pm 0,12	1,96 \pm 0,13	2,30 \pm 0,06
	6	2,08 \pm 0,08	1,55 \pm 0,09	2,01 \pm 0,04

Los datos son expresados como media \pm desviación estándar (n = 3).

Tabla 7. Estabilidad de vida de estante de las cápsulas con aceite microencapsulado.

Parámetro	Tiempo (mes)	L-14001	L-14002	L-14003
Desintegración (min)	0	21	20	18
	3	22	21	18
	6	22	22	19
	9	24	22	20
	12	24	23	21
	18	24	23	21
	24	24	24	21
Vitamina A (µg/cápsula)	0	17,10 ± 0,12	15,84 ± 0,18	16,35 ± 0,16
	3	17,02 ± 0,07	15,78 ± 0,14	16,30 ± 0,04
	6	16,95 ± 0,08	15,67 ± 0,04	16,24 ± 0,14
	9	16,90 ± 0,24	15,55 ± 0,14	16,18 ± 0,12
	12	16,81 ± 0,15	15,48 ± 0,12	16,11 ± 0,12
	18	16,75 ± 0,13	15,34 ± 0,09	16,02 ± 0,10
	24	16,69 ± 0,04	15,29 ± 0,08	15,93 ± 0,15
Ácido palmítico (%)	0	36,00 ± 0,10	38,24 ± 0,15	37,27 ± 0,08
	3	35,92 ± 0,18	38,09 ± 0,04	37,11 ± 0,13
	6	35,86 ± 0,10	37,94 ± 0,06	36,99 ± 0,10
	9	35,80 ± 0,11	37,82 ± 0,14	36,88 ± 0,23
	12	35,71 ± 0,12	37,76 ± 0,23	36,80 ± 0,04
	18	35,64 ± 0,07	37,70 ± 0,08	36,72 ± 0,16
	24	35,57 ± 0,04	37,66 ± 0,14	36,68 ± 0,13
Ácido oleico (%)	0	30,24 ± 0,12	29,75 ± 0,14	37,40 ± 0,22
	3	30,16 ± 0,09	29,52 ± 0,13	37,26 ± 0,13
	6	30,10 ± 0,11	29,49 ± 0,09	37,19 ± 0,12
	9	30,03 ± 0,17	29,39 ± 0,20	37,06 ± 0,05
	12	29,88 ± 0,21	29,13 ± 0,09	36,86 ± 0,13
	18	29,78 ± 0,12	29,02 ± 0,04	36,61 ± 0,13
	24	29,67 ± 0,04	28,83 ± 0,16	36,54 ± 0,13
Ácido esteárico (%)	0	8,84 ± 0,11	9,13 ± 0,08	8,82 ± 0,11
	3	8,79 ± 0,03	9,05 ± 0,05	8,75 ± 0,09
	6	8,71 ± 0,13	8,93 ± 0,05	8,65 ± 0,04
	9	8,64 ± 0,06	8,85 ± 0,11	8,54 ± 0,14
	12	5,58 ± 0,09	8,76 ± 0,13	8,52 ± 0,07
	18	8,45 ± 0,14	8,65 ± 0,12	8,42 ± 0,08
	24	8,25 ± 0,12	8,45 ± 0,04	8,24 ± 0,12
Ácido linoleico (%)	0	3,24 ± 0,09	2,86 ± 0,06	3,17 ± 0,03
	3	3,14 ± 0,05	2,76 ± 0,07	3,06 ± 0,13
	6	3,03 ± 0,04	2,56 ± 0,10	2,93 ± 0,04
	9	2,90 ± 0,10	2,47 ± 0,10	2,85 ± 0,07
	12	2,78 ± 0,21	2,40 ± 0,22	2,74 ± 0,14
	18	2,68 ± 0,18	2,15 ± 0,07	2,55 ± 0,13
	24	2,43 ± 0,10	2,08 ± 0,08	2,33 ± 0,19
Contenido de humedad (%)	0	4,6 ± 0,10	4,8 ± 0,10	4,3 ± 0,10
	24	5,0 ± 0,20	5,3 ± 0,30	4,7 ± 0,30

Los datos son expresados como media ± desviación estándar (n = 3).

CONCLUSIONES

Independientemente a la condición de almacenamiento ensayada o el factor de estrés (térmico o centrifugación), las emulsiones mantuvieron su estabilidad en el periodo evaluado. Se demostró la homogeneidad de las propiedades del aceite microencapsulado, así como la reproducibilidad del proceso tecnológico establecido a escala de laboratorio e industrial. Se logró el diseño y desarrollo de una formulación de cápsulas duras, conteniendo aceite microencapsulado, con adecuada estabilidad durante 24 meses, sin afectación del contenido de vitamina A y ácidos grasos, como resultado del proceso tecnológico escalado.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación no fue financiada y no recibió ninguna subvención específica de agencias de financiamiento en los sectores público, comercial o sin fines de lucro.

REFERENCIAS

- Calvo B, Esquisabel A, Hernández R, Igartua M (2015) Tecnología Farmacéutica. OCW-2015. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. España. pp. 2-53.
- Christian R (2006) Improved excipients functionality by coprocessing. In: Katdare A, Cheubal M (Ed.) Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology and Drug Delivery Systems. New York: Informa Healthcare, pp. 93-107.
- De la Paz N, Pérez D, Fernández M, García C, Martínez V, Nogueira A, García O (2017) *In vitro* release of dibucaine hydrochloride from chitosan semisolid vehicles: emulsion and hydrophilic gels. J Pharm Pharmacogn Res 5(2): 96-105.
- Ferreira CD, Conceição E, Machado B, Hermes V, Ríos A, Druzian J, Nunes O (2016) Physicochemical characterization and oxidative stability of microencapsulated crude palm oil by spray drying. Food Bioproc Tech 9(1): 124-136.
- García C, Fernández M, Sanz Y, Castiñeira M, Martínez V, Nogueira A (2016) Validación y aplicación de un método de cromatografía gaseosa para determinar ácidos grasos en diferentes matrices de aceite de hígado de tiburón. Rev Mex Cienc Farm 47(3): 48-59.
- García C, Fernández M, López O, Castiñeira M, Martínez B, Nogueira A, Turiño L (2018a) Microencapsulation of shark liver oil pool by spray drying. Lat Am Appl Res 48: 89-93.
- García CM, Fernández M, López OD, Delgado-Roche L, Nogueira A, Castiñeira M, Medrano EA (2018b) Spray drying of shark liver oil pool: effects on physical-chemical properties and antioxidant capacity. J Pharm Pharmacogn Res 6(1): 35-44
- Giogios I, Grigorakis K, Nengas I, Papisolomontos S, Papaionnou N, Alexis MN (2008) Fatty acid composition and volatile compounds of selected marine oils and meals. J Sci Food Agric 89: 88-100.
- López OD, Gómez M (2008) Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. Rev Cuba Farm 42(3): 381-389.
- López OD, Márquez T, Mayo O, Toledo C, Pérez E (2009) Características del aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L. microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábiga. Lat Am J Pharm 28(4): 628-632.
- Martínez R (2017) Tratado de Tecnología Farmacéutica. Editorial Síntesis. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. España. pp. 1-24.
- Regulación 23 - CECMED (2000). Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. Centro Estatal para el Control de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. Ministerio de Salud Pública, Cuba. Pp. 3-20.
- Rowe RC, Sheskey P, Quinn ME (2009) Handbook of Pharmaceutical Excipients. Six Ed., Italy: Pharmaceutical Press, pp. 4-22, 257-289.
- Shilpa C, Pradeep P (2012) Pharmaceutical excipients: a review. Int J Adv Pharm Biol Chem 1(1): 21-34.
- Soottitawat A, Partanen R, Neoh TL, Yoshii H (2015) Encapsulation of hydrophilic and hydrophobic flavors by spray drying. Japan J Food Eng 16(1): 37-52.
- Tewa P, Briancon S, Fessi H (2007) Preparation of redispersible dry nanocapsules by means of spray-drying: development and characterization. Eur J Pharm Sci 30(2): 124-135.
- USP 40 - United State Pharmacopeia (2017) US Pharmacopoeia Convention, Inc. Washington DC. pp. 359-362, 3218, 7340, 7685, 7688, 7691.
- Villafuerte L (2011) Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. Rev Mex Cienc Farm 42(1): 18-36.

AUTHOR CONTRIBUTION:

Contribution	García Peña CM	Fernández Cervera M	Castiñeira Díaz M	López Hernández OD	Martínez Espinosa V	Nogueira Mendoza A
Concepts or ideas	x	x	x			
Design	x	x				
Definition of intellectual content			x			
Literature search	x	x	x			
Experimental studies	x	x		x	x	x
Data acquisition	x	x		x	x	x
Data analysis	x	x	x	x	x	x
Statistical analysis	x	x				
Manuscript preparation	x	x	x	x		
Manuscript editing	x	x				
Manuscript review	x	x	x	x	x	x

Citation Format: García Peña CM, Fernández Cervera M, Castiñeira Díaz M, López Hernández OD, Martínez Espinosa V, Nogueira Mendoza A (2021) Aceite de hígado de tiburón microencapsulado: Desarrollo de una formulación de cápsulas duras. [Microencapsulated shark liver oil: Development of hard capsule formulation]. J Pharm Pharmacogn Res 9(2): 195-207.