

Determinación de las condiciones iniciales para la formación de cápsulas de alginato de sodio mediante gelificación iónica

Gisele Y. Sella, Mariel L. Cáceres, Gustavo Velasco, Esther R. Chamorro. Centro de Investigación en Química Orgánica-Biológica, Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica
giseleyaninasella@gmail.com

Resumen—La encapsulación es una técnica utilizada para contener sustancias de interés en otra, llamada matriz. Lo que se busca es la protección del componente de utilidad, o bien, la liberación controlada del mismo en un determinado ambiente y momento. En este estudio se ha evaluado la formación de la matriz de la cápsula, libre de cualquier compuesto activo, mediante extrusión y goteo con aguja, de alginato de sodio 1,5% p/p sobre una solución de cloruro de calcio 2% p/v. Se utilizó una velocidad de goteo de 90 ml/h y un tiempo de reticulación de una hora y media. Mediante un diseño experimental se evaluó la influencia de altura de goteo (2, 5 y 10 cm) y el calibre de aguja utilizados (25 y 27 G), en la forma final de las cápsulas. Se definió 2 cm de altura y aguja 27 G como mejores condiciones. Luego, mediante secado a vacío (30 mmHg) y progresión de temperatura entre 70 y 90 °C, con aumento de 10 °C cada cuarenta minutos, se observó la formación de una costra, con retención de líquido en el interior.

Palabras clave— encapsulación, alginato, forma, tamaño, secado.

I. INTRODUCCIÓN

LA encapsulación es un proceso que consiste en contener una sustancia en otra, a fin de obtener partículas de determinadas formas y con diámetros que van desde los milímetros hasta los nanómetros [1]. La sustancia a encapsular es llamada material de núcleo o agente activo y la usada como revestimiento es la membrana, cáscara, material de pared o matriz [2].

Uno de los principales objetivos de la encapsulación se orienta a proteger sustancias químicas o microorganismos, con características de elevada volatilidad, oxidación, fotosensibilidad o sensibilidad a la variación de pH del medio en que se encuentre [3]. Dado que son de importancia para la industria, se ha utilizado este tipo de tecnología para su procesamiento, almacenamiento y/o transporte.

Además de la mencionada protección que ofrecen las cápsulas, también conforman sistemas de liberación controlada o sostenida del agente activo en el medio que la rodea [4], [5].

Entre las múltiples industrias que han comenzado a implementar esta tecnología, se encuentra la alimentaria, en la que deben participar como materiales de soporte aquellas sustancias aptas para el consumo. Entre éstas, el alginato de sodio es una matriz muy utilizada para la obtención de cápsulas, gracias a sus bondades de versatilidad, biocompatibilidad y nula toxicidad, entre otros factores. Al poner en contacto el alginato de sodio con cloruro de calcio se produce una difusión del ión calcio a la cadena polimérica del alginato formando puentes entre ellas y logrando, de esta manera, su gelificación. Algunos autores han mencionado la variación del tamaño de las cápsulas en

función de la concentración de alginato que contenga su solución [6].

El proceso de microencapsulación con alginato se lleva a cabo a través de distintas técnicas como la extrusión, suspensión rotacional, emulsión y secado por atomización. Si bien algunas de estas se ven limitadas por su viscosidad y velocidad de gelificación, la técnica por extrusión ha sido la técnica tradicional empleada en las últimas décadas, debido a la uniformidad de las microcápsulas en su forma y tamaño, su sencillez de aplicación y de producción a gran escala [7], [8].

El objetivo de este trabajo consiste en encontrar las mejores condiciones de producción de cápsulas mediante gelificación iónica y extrusión, con posterior secado, utilizando alginato de sodio libre de cualquier agente activo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

Los reactivos utilizados fueron cloruro de calcio anhidro (Cicarelli, p.a.), y alginato de sodio grado alimenticio; agua desionizada.

B. Preparación de soluciones

Se prepararon las siguientes soluciones: solución reticulante de cloruro de calcio al 2% p/v, y solución de alginato de sodio al 1,5% p/p. Esta última, con un agitador compacto digital vertical de paletas (Cole-Parmer modelo 50006-00, Canadá) sobre un baño María a 40°C. Se midió luego la viscosidad de esta solución con viscosímetro (NDJ-8S Biotraza). Se almacenaron ambas soluciones en frascos plásticos.

C. Formación de las cápsulas

Se llenó una jeringa de 10 ml con la solución de alginato de sodio, ensamblando luego la misma en una bomba dosificadora (APEMA PC 11 UBT, Argentina). La programación de la velocidad de extrusión (goteo) fue de 90ml/h. Las gotas se dejaron caer por gravedad sobre la solución de cloruro de calcio, dejándolas reticular durante una hora y media. Luego se filtraron las cápsulas para eliminar el agua residual.

D. Secado

Se realizó el secado de las cápsulas en estufa de vacío (Arcano, Modelo DZF-6020) a 30 mm Hg de presión. Se programó un aumento de temperatura desde 70°C hasta 90°C, con un incremento de 10°C cada cuarenta minutos.

E. Observación al microscopio

Se hizo un muestreo de cada una de las corridas para observar forma y tamaño, tanto de las cápsulas húmedas como de las secadas a vacío, en un microscopio óptico (Lancet, China). Se observaron las mismas sobre cámara de Neubauer.

F. Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental con dos variables de entrada, tamaño de agujas: 27G (0,4mm) y 25G (0,5mm), y altura de goteo: 2cm, 5cm y 10cm. Se aleatorizaron las corridas y llevaron a cabo los experimentos. Las constantes asumidas fueron concentraciones de las soluciones, velocidad de goteo y tiempo de reticulación. Como variables respuesta cualitativas se establecieron la forma de las cápsulas como ovoide y esférica.

Para identificar relaciones de dependencia entre las variables de entrada y la de salida, se utilizó el estadístico χ^2 (Chi-cuadrado), con un nivel de confianza del 90%, calculado según la expresión correspondiente:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \frac{(n_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad (1)$$

Donde:

n_{ij} : Frecuencia observada;

E_{ij} : Frecuencia esperada o teórica.

III. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

A. Preparación de soluciones y formación de cápsulas

La solución de cloruro de calcio se eligió al 2% en concordancia con Ramírez Méndez [9] que usó concentraciones de 2 y 5% p/v para encapsular aceite esencial de menta, y a diferencia de Deladino y col. [10] que utilizaron solución al 0,5% p/v en la encapsulación del extractivo de yerba mate y Chuaha y col. [11] que realizaron la encapsulación de iso-octano con solución de 10%.

La concentración de la solución de alginato de sodio utilizada, a diferencia de Levic y col. [3] que han utilizado soluciones al 5% p/p para la encapsulación de D-Limoneno, y de Noppakundilograt y col. [6] que utilizaron soluciones de entre 0,1 a 0,5% p/v para la encapsulación de aceite de eucalipto, fue determinada luego de probar la factibilidad de la extrusión en agujas de ambos tamaños seleccionados, con diferentes concentraciones de esta solución. Durante su formulación, se necesitó un calentamiento a Baño María y agitación para homogeneizar. La viscosidad de la solución medida fue de 704 mmPa.s.

B. Diseño experimental

En la Tabla I se expone las formas de las cápsulas observadas en cámara de Neubauer, mediante microscopio óptico, acompañadas de sus diámetros volumétricos respectivos, según altura de goteo y diámetro de aguja empleados en las diversas corridas del diseño experimental.

El análisis de dependencia entre variables de entrada y forma de las cápsulas, utilizando el estadístico χ^2 , se ha organizado en la Tabla II. A partir de las frecuencias observadas y teóricas se obtuvieron los valores del estadístico para las relaciones altura de goteo vs forma de cápsula (2) y diámetro de aguja vs forma de cápsula (3).

TABLA I
VARIABLES DE ENTRADA Y SALIDA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Altura de goteo (cm)	Diámetro de aguja (mm)	Forma	Diámetro volumétrico de cápsulas
2	0,4	Esférica	Menor a 2mm
5	0,4	Esférica	Menor a 2mm
10	0,4	Ovoide	Igual a 2,00mm
2	0,5	Esférica	Mayor a 2mm
5	0,5	Ovoide	Mayor a 2mm
10	0,5	Ovoide	Mayor a 2mm
2	0,4	Esférica	Igual a 2mm
5	0,4	Esférica	Menor a 2mm
10	0,4	Ovoide	Menor a 2mm
2	0,5	Esférica	Mayor a 2mm
5	0,5	Esférica	Igual a 2,00
10	0,5	Esférica	Mayor a 2mm

TABLA II
FRECUENCIAS OBSERVADAS. A) FORMA VS TAMAÑO DE AGUJA. B) FORMA VS ALTURA DE GOTEO.

A)		
	Esférica	Ovoide
Diámetro de aguja 0,4mm	2	2
Diámetro de aguja 0,5mm	2	2
B)		
	Esférica	Ovoide
Altura de goteo 2cm	4	0
Altura de goteo 5cm	3	1
Altura de goteo 10cm	1	3

$$\chi^2_{observadaA} = 0,000 \quad (2)$$

$$\chi^2_{observadaB} = 5,992 \quad (3)$$

En el primer caso (2) el valor calculado es menor al tabulado, por lo que se deriva una independencia entre el tamaño de aguja y forma de cápsulas, lo cual se corresponde con lo observado en la Tabla II-A.

Luego, para la siguiente relación (3) el estadístico ofrece un valor mayor al tabulado, por lo cual se puede decir que existe dependencia entre las variables. A partir de los datos de la Tabla II-B, la forma esférica se ve favorecida por una altura de goteo igual a 2mm, mientras que la de 10mm promueve cápsulas ovoideas.

C. Observación al microscopio

Las cápsulas obtenidas sin secar, observadas en microscopio óptico, mostraron formas esféricas y otras ovoideas (Fig. 1).

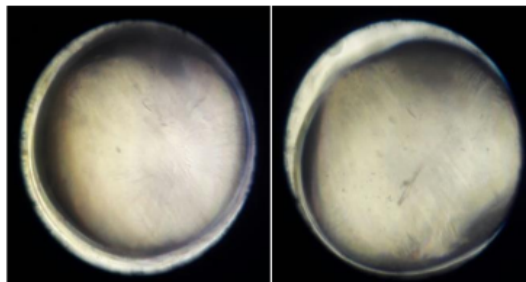


Fig. 1: Cápsulas húmedas. A) Esférica. B) Ovoide.

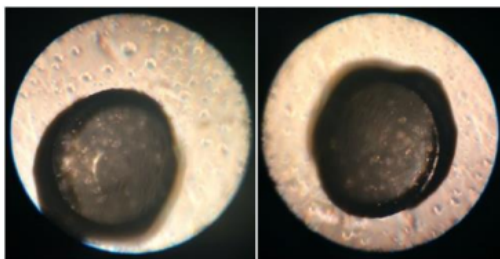


Fig. 2: Cápsulas secadas en estufa de vacío.

Además, se observó que aquellas obtenidas con aguja de 0,4mm de diámetro interno, mostraron un diámetro de partícula menor o igual a 2mm, y las obtenidas con agujas de 0,5mm presentaron un diámetro de partícula mayor a 2mm (Tabla I).

Luego del secado, la observación por microscopio determinó que las cápsulas disminuyen su tamaño considerablemente. Además, puede notarse que presentan formas y superficies irregulares, con protuberancias microscópicas, sin roturas apreciables (Fig. 2). Por la variación en colores, forma y textura, se desprende que ha formado una costra rígida y aún conserva agua en su interior. Según Mc Cabe y col. [12], este comportamiento es indicativo de un secado rápido que ha exigido la evaporación inmediata del agua superficial, descendiendo la concentración de humedad externa y generando, por ende, un aumento en la resistencia a la difusión del agua interna.

III. CONCLUSIONES

Se pudo estudiar la forma de las cápsulas húmedas a partir de distintos tamaños de aguja y alturas de goteo. El estudio estadístico concluyó que la altura de goteo tiene una relación significativa con la forma de las cápsulas, en cambio no hay relación significativa con el diámetro de extrusión (aguja).

Se pudo también observar, aunque sin una medición exacta, el diámetro volumétrico de las cápsulas, obteniéndose un valor menor a 2mm en aquellas que se elaboran con aguja de 0,4mm. Por último, ante las condiciones de secado aplicadas en el presente estudio, las cápsulas respondieron con la formación de una capa seca externa y de superficie irregular, con retención de agua en su interior.

De esta manera se obtienen las mejores condiciones de proceso para la obtención de microcápsulas por gelificación iónica, tomando una altura de goteo óptima en 2cm y un tamaño de aguja de 0,4mm.

REFERENCIAS

- [1] E.-S. Chan, B.-B. Lee, P. Ravindra, D. Poncelet, "Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method", en *Journal of colloid and interface science*, vol. 338, pp.63-72, 2009.
- [2] N.J. Zuidam, V.Á. Nedovic. "Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing". Editorial: Springer. 2009.
- [3] S. Levic, V. Rac, V. Manojlovic, V. Rakic, B. Bugarski, T. Flock, K. E. Krzyczmonik, V. Nedovic, "Limonene encapsulation in alginate/poly (vinyl alcohol)", en *Procedia Food Science*, vol.1, pp. 1816-1820, 2011.
- [4] B. Solomon, F.F. Sahle, T. Gebre-Mariam, K. Asres, R.H.H. Neubert, "Microencapsulation of citronella oil for mosquito-

repellent application: Formulation and in vitro permeation studies", en *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 80 pp. 61-66. 2012.

- [5] L. Valdeviezo Morales, Tesis "Diseño y caracterización de microcápsulas de Seleniometionina", México, 2012.
- [6] S. Noppakundilograta, P. Piboon, W. Graisuwan, R. Nuisin, S. Kiattakamjornwong, "Encapsulated eucalyptus oil in ionically cross-linked alginate microcapsules and its controlled release", en *Carbohydrates Polymers*, vol. 131, pp. 23-33, 2015.
- [7] S. Levic, I. PajicLijakovic, V. Dordevic, V. Rac, V. Rakic, T. Solevic Knudsen, V. Pavlovic, B. Bugarski, V. Nedovic, "Characterization of sodium alginate/D-limonene emulsions and respective calcium alginate/D-limonene beads produced by electrostatic extrusion", en *Food Hydrocolloids*, vol.45, pp.111-123, 2015.
- [8] B. Lupo Pasin, C. González Azón, A. Maestro Garriga, "Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones", en *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de alimentos*, vol. 3, pp. 130-151, 2012.
- [9] L. Ramírez Méndez. "Propuesta de un método de microencapsulación del aceite esencial de menta para aplicación en la industria alimentaria", en tesis de grado de Universidad de Costa Rica Facultad de Ingeniería - Escuela de Ingeniería Química. 2006.
- [10] L. Deladinoi, P.S. Anbinder, A.S. Navarro, M.N. Martino. "Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*", en *Carbohydrate polymers* vol. 71, pp. 126-134. 2008.
- [11] A.M. Chuaha, T. Kuroiwa, I. Kobayashi, X. Zhanga, M. Nakajimaa. "Preparation of uniformly sized alginate microspheres using the novel combined methods of microchannel emulsification and external gelation", en *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 351. pp. 9-17. 2009.
- [12] W.L. Mc Cabe, J.C. Smith, P. Harriot. "Operaciones unitarias en Ingeniería Química", cuarta ed. Editorial McGraw-Hill. 1991.