

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de ciencias e ingeniería

Desarrollo de micropartículas lipídicas a base de manteca de cacao y cera de abeja, reforzadas con pectina y quitosano, para la liberación controlada de fármacos hidrofóbicos.

Nestor Oswaldo Coba Garcés

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
INGENIERÍO QUÍMICO

Quito, 17 de abril del 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de ciencias e ingeniería

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Desarrollo de micropartículas lipídicas a base de manteca de cacao y cera de abeja, reforzadas con pectina y quitosano, para la liberación controlada de fármacos hidrofóbicos.

Nestor Oswaldo Coba Garcés

Nombre del profesor, Título académico

José Álvarez Barreto, PhD

Quito, 17 de abril de 2025.

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Nestor Oswaldo Coba Garcés.

Código: 00211303

Cédula de identidad: 1719503110

Lugar y fecha: Quito, 17 de abril de 2025.

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

Este trabajo de investigación se centra en el desarrollo de micropartículas lipídicas innovadoras basadas en manteca de cacao y cera de abeja, reforzadas estratégicamente con pectina y quitosano, diseñadas para la liberación controlada de fármacos hidrofóbicos. Para lo cual se evaluaron diversas concentraciones de cada biopolímero (0.125%, 0.25% y 0.5%) en la fase acuosa. La metodología empleada se basó en el método de emulsión-evaporación, seguido de liofilización para obtener las micropartículas sólidas. Se realizó una caracterización exhaustiva mediante microscopía óptica y SEM, revelando tamaños de partícula entre 1.2-4 μm en controles y hasta 79 μm en formulaciones reforzadas. Las micrografías SEM evidenciaron que el quitosano tiende a generar estructuras poliméricas más densas e interconectadas, mientras que la pectina muestra una distribución más uniforme dentro de la matriz. Se analizaron la estabilidad en solución de fosfato salino (PBS) y la liberación in vitro de ibuprofeno, como fármaco modelo. Los resultados indicaron que las formulaciones con quitosano y cera de abeja exhibieron un perfil de liberación más prolongado. En contraste, la pectina tendió a generar perfiles de liberación más rápidos. El análisis estadístico (ANOVA y prueba de Tukey) reveló que muchas de las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, la formulación compuesta por cera de abeja y quitosano (0.125–0.25%) demostró la mejor combinación entre estabilidad estructural y perfil de liberación sostenida, sugiriendo su potencial como sistema de administración oral para fármacos lipofílicos.

Palabras clave: micropartículas lipídicas, liberación controlada, quitosano, pectina, solución de fosfato salino (PBS).

ABSTRACT

This study developed innovative lipid-based microparticles using cocoa butter and beeswax, reinforced with pectin and chitosan, for controlled drug delivery of hydrophobic therapeutics. Biopolymer concentrations (0.125%, 0.25%, 0.5%) were systematically evaluated to enhance particle properties. The microparticles were synthesized via emulsion-evaporation followed by lyophilization, then characterized using optical microscopy and SEM. Control particles measured 1.2–4 μm , while biopolymer-reinforced formulations reached 79 μm . SEM revealed chitosan induced dense, interconnected polymeric networks, whereas pectin created homogeneous dispersions within the lipid matrix. Stability studies in PBS and *in vitro* release assays (using ibuprofen as model drug) demonstrated chitosan-beeswax formulations exhibited prolonged release profiles. (Statistical analysis (ANOVA-Tukey) indicated non-significant differences among biopolymer concentrations ($p>0.1$), suggesting robustness across tested ranges. The optimal formulation (0.25% chitosan with beeswax) achieved sustained release ($>80\%$ over 24h) while maintaining structural integrity, highlighting its potential for oral delivery of lipophilic drugs. These findings provide a foundation for tailoring biodegradable microparticles to modulate drug release kinetics.

Keywords: lipid microparticles, controlled drug delivery, chitosan, pectin, phosphate-buffered saline (PBS).

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	10
2. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	13
2.1 Fabricación de micropartículas.....	13
2.2 Morfología y tamaño de partícula.....	14
2.3 Estabilidad.....	14
2.4 Encapsulación y liberación de ibuprofeno.....	15
2.5 Análisis estadístico.....	16
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
3.1 Tamaño y morfología de las micropartículas.....	17
3.2 Estabilidad de las micropartículas en condiciones fisiológicas	23
3.3 Encapsulación y liberación de ibuprofeno.....	26
4. CONCLUSIONES	32
5. REFERENCIAS.....	33
6. ANEXOS	36
ANEXO A: RESULTADOS EXPLORACIÓN: TAMAÑOS DIÁMETRO EN CADA CONCENTRACIÓN DE REFORZANTE	36
ANEXO B: MICROGRAFÍAS ÓPTICAS 40X DE CONCENTRACIÓN 0.5% P/V DE REFORZANTE	42
ANEXO C: TABLAS ANOVA Y TUKEY	44
ANEXO D: PREPARACIÓN PBS.....	48
ANEXO E: CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LIBERACIÓN IBUPROFENO. ...	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) control de cera de abeja y (b) control de manteca de cacao.	18
Figura 2. Histogramas del diámetro de micropartículas control de (a) cera de abeja y (b) manteca de cacao.	19
Figura 3. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) Cera de abeja con pectina al 0.25% y (b) Manteca de cacao con pectina al 0.25%. (c) Cera de abeja con pectina al 0.125% y (d) Manteca de cacao con pectina al 0.125%.	20
Figura 4. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%.	20
Figura 4. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%. Barra de calibración: 10µm .	21
Figura 6. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas a 20kV y x1000 (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%. Barra de calibración: 10µm.....	22
Figura 7. Grafica de diámetro vs tiempo de concentraciones de reforzante con cera de abeja. Se utiliza AB como referencia para cera de abeja, pec125 y pec25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que qui125 y qui25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.	24
Figura 8. Grafica de diámetro vs tiempo de concentraciones de reforzante con manteca de cacao. Se utiliza CA como referencia para manteca de cacao, pec125 y pec25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que qui125 y qui25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.	25
Figura 9. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas con ibuprofeno a 20kV y x500 de (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%. Barra de calibración: 10µm	27
Figura 10. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas con ibuprofeno a 20kV y x1000 (a) Cera de abeja con pectina al 0.25% y (b) Manteca de cacao con pectina al 0.25%. (c) Cera de abeja con pectina al 0.125% y (d) Manteca de cacao con pectina al 0.125%. Barra de calibración: 10µm	28
Figura 11. Concentración de ibuprofeno durante 48h de micropartículas de cera de abeja. Se utiliza ab como referencia para cera de abeja, p125 y p25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que q125 y q25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.	29

Figura 12. Concentración de ibuprofeno durante 48h de micropartículas de manteca de cacao. Se utiliza ca como referencia para manteca de cacao, p125 y p25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que q125 y q25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente..... 30

1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda constante por mejorar la administración de medicamentos, la ciencia farmacéutica ha evolucionado hacia los sistemas de liberación controlada, tecnologías capaces de modificar la velocidad, el tiempo y el lugar de acción del fármaco en el organismo, transformando el enfoque tradicional de la dosificación [11]. Estos sistemas no solo aumentan la eficacia terapéutica, sino que también disminuyen los efectos secundarios y mejoran la comodidad del paciente, una necesidad creciente en el tratamiento de enfermedades crónicas y complejas [12].

Entre estos sistemas, las micropartículas destacan por su capacidad para encapsular principios activos, protegerlos de condiciones adversas y liberarlos de manera sostenida. Su versatilidad es clave, puesto que su tamaño, forma y composición pueden ajustarse según las características del fármaco y las necesidades terapéuticas individuales [26]. Una de las decisiones más importantes en su diseño es la elección de los materiales de fabricación, y aquí es donde los lípidos naturales, como la manteca de cacao y la cera de abeja, han demostrado un gran potencial debido a su biocompatibilidad y capacidad para formar barreras físicas, mejorando la estabilidad del fármaco y regulando su liberación con precisión [4] [16].

Sin embargo, incluso los mejores sistemas lipídicos pueden beneficiarse del refuerzo de una matriz polimérica, debido a que el uso de una permite menor superficie de contacto permitiendo así un proceso de liberación más lento y prolongado. Es aquí donde el quitosano y la pectina entran en juego. Estos biopolímeros naturales no solo son renovables y de bajo costo, sino que también poseen propiedades funcionales

excepcionales. El quitosano, derivado de la quitina presente en los exoesqueletos de crustáceos, destaca por su biodegradabilidad, bioadhesividad y capacidad para formar películas y estructuras tridimensionales que facilitan la liberación controlada del fármaco [8][3]. Su carga positiva en medios ácidos le permite interactuar con las mucosas y mejorar la absorción del fármaco, haciéndolo particularmente útil en aplicaciones farmacéuticas [16] [21].

Por otro lado, la pectina, un polisacárido presente en las paredes celulares de frutas y vegetales, ha sido ampliamente utilizada en la industria alimentaria, pero también ha demostrado un gran potencial como material de encapsulación. Su capacidad para formar geles en presencia de iones multivalentes y su sensibilidad a las condiciones gastrointestinales la convierten en una herramienta ideal para liberar fármacos en segmentos específicos del tracto digestivo [6]. Además, la pectina actúa como una red estabilizante dentro de las micropartículas, mejorando su integridad estructural y controlando la difusión del compuesto encapsulado [18] [4].

A pesar de sus numerosas ventajas, la combinación de estos polímeros no está exenta de limitaciones. Estudios recientes han demostrado que tanto el quitosano como la pectina son altamente sensibles a las condiciones fisiológicas, especialmente al pH y la composición del medio. Esta sensibilidad puede alterar su comportamiento de hinchamiento y, en consecuencia, generar liberaciones poco predecibles o incluso aceleradas [19] [20]. Esta inestabilidad compromete la eficiencia del sistema y limita su aplicabilidad en escenarios clínicos donde se requiere una liberación prolongada y

consistente. Además, la variabilidad en sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas hace necesario un ajuste cuidadoso de las concentraciones y condiciones de formulación [17].

La motivación de este proyecto radica en la creación de una formulación que combine lo mejor de ambos mundos: la capacidad protectora y estructural de la manteca de cacao y la cera de abeja, con la funcionalidad del quitosano y la pectina. Se espera desarrollar un sistema de micropartículas lipídicas que permita encapsular fármacos liposolubles de manera eficiente y liberar su contenido de forma controlada. Esta propuesta busca superar las limitaciones actuales de estabilidad y liberación inconsistente, y abrir nuevas posibilidades para aplicaciones farmacéuticas sostenibles, seguras y adaptables a distintos principios activos.

Para lograrlo, este proyecto explorará cómo la concentración de quitosano y pectina influye en la morfología y el tamaño de las micropartículas, dos factores clave en la cinética de liberación y en la eficiencia de encapsulación [14]. Posteriormente, se evaluará la estabilidad de las formulaciones seleccionadas en condiciones fisiológicas simuladas, analizando su capacidad de resistir el hinchamiento y mantener la integridad de la estructura polimérica en soluciones acuosas. Finalmente, se estudiará su perfil de liberación, con el fin de identificar combinaciones de materiales que permitan un sistema robusto, funcional y clínicamente viable.

Así, esta investigación busca ofrecer una alternativa basada en materiales naturales, no tóxicos y accesibles, que mejore la liberación de medicamentos y contribuya al avance de la tecnología farmacéutica nacional e internacional, con impacto potencial también en sectores como la cosmética, la alimentación funcional y la biomedicina.

2. MATERIALES Y METODOLOGÍA

Los materiales usados como bases lipídicas en la formulación de micropartículas fueron cera de abeja y manteca de cacao obtenidos de mercados locales. Los reforzantes empleados fueron pectina cítrica brasileña (con grado de metoxilación de aproximadamente 69%) y quitosano (obtenido de cáscara de camarones con grado de desacetilación $\geq 75\%$) de sigma-aldrich (nro. De catálogo: c3646). Como fármaco modelo se usó ibuprofeno al 98% obtenido de sigma-aldrich (nro. De catálogo: i4883).

2.1 Fabricación de micropartículas.

En la fase de investigación, se examinaron diversas concentraciones de agentes reforzantes para identificar la más adecuada para la futura encapsulación de ibuprofeno. En este procedimiento, se aplicó el método de emulsión-evaporación utilizando concentraciones de pectina y quitosano de 0.125%, 0.25% y 0.5% p/v las cuales fueron añadidas en una fase acuosa con TWEEN 80, mientras la fase orgánica consistió en acetato de etilo y la base lipídica, como se menciona en el estudio de Wang et al., empleando acetato de etilo como disolvente orgánico (CITA). Se modificó el surfactante a Tween80. Este método se divide en dos etapas: inicialmente, se calentó la fase orgánica a 65°C (que contiene 0.5 g de base lipídica y 10 ml de acetato de etilo) para combinarla con 50 ml de la fase acuosa (que contiene Tween80 al 0.5% y el biopolímero de refuerzo) que había sido calentada previamente a 80°C, durante 1 minuto utilizando un homogeneizador a 1200 rpm. Tras esta homogeneización, se añadió 25 ml de agua destilada a 4°C y se homogeneizó por otros 10 segundos. Luego, la mezcla se mantuvo en

agitación a 400 rpm durante 24 horas para permitir la evaporación del disolvente orgánico a temperatura ambiente. Para el refuerzo de las micropartículas, previamente se disolvió el material de refuerzo (pectina o quitosano), en la fase acuosa, a las concentraciones previamente mencionadas. Como controles, se prepararon micropartículas sin agentes reforzantes siguiendo el mismo protocolo, lo que permitió compararlas con las micropartículas que contenían pectina y quitosano. Finalmente, las muestras fueron congeladas y liofilizadas, y se mantuvieron a -4°C hasta su uso.

2.2 Morfología y tamaño de partícula

Para verificar la formación de las micropartículas, luego de la formación de la emulsión, se analizaron alícuotas utilizando un microscopio LEICA DM 500, en aumentos de 10x y 40x. Finalmente, se seleccionaron las imágenes apropiadas para su análisis con el software ImageJ, obteniendo mediciones del diámetro y área de las partículas. En el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300 se analizó la topografía de las micropartículas con diferentes concentraciones. Las micropartículas fueron liofilizadas previamente y congeladas a -20°C. Las muestras fueron espolvoreadas y fijadas en la cinta adhesiva de carbón en el disco porta muestras y, se tomaron registros en resoluciones de 500x, 1000x y 3000x con un voltaje de 20 kV y presión de 30 Pa.

2.3 Estabilidad

Para la fase de estabilidad, se usó una solución de búfer fosfato salino (PBS, por sus siglas en inglés) a pH 7.4 para emular ambiente fisiológico imitando electrolitos y pH

para lograr conocer la degradación de las micropartículas a través del tiempo. Las micropartículas se suspendieron en PBS a 3mg/mL: esto se realizó por triplicado en los controles y en las concentraciones de 0.125% y 0.25% de Pectina y Quitosano tanto para cera de abeja como para manteca de cacao obteniendo un total de 30 muestras en la fase de estabilidad. Luego se incubaron a 37°C y se tomaron alícuotas a las 24h, 48h, 72h y 168h, para su posterior análisis de tamaño, como se detalló en la sección 2.2.

2.4 Encapsulación y liberación de ibuprofeno

El ibuprofeno se encapsuló utilizando la técnica de emulsión-evaporación agregando el ibuprofeno a la fase lipídica en una concentración de 50 mg por cada 10 ml de acetato de etilo, manteniendo la fase acuosa con las concentraciones de reforzante seleccionadas con el surfactante TWEEN 80.

Para el proceso de liberación controlada, se suspendieron las micropartículas en PBS, a una concentración de 3mg/mL en 5 mL, y se incubaron a 37°C. Se tomaron alícuotas de 200 μ L, y se realizaron mediciones de concentración utilizando espectroscopia UV-Vis, con la ayuda de un espectrofotómetro Geneys 50 en una onda de 222nm. Estas alícuotas se tomaron en intervalos de 1,3,5,24 y 48 horas a las cuales se logró obtener la concentración utilizando una curva de calibración que tenía un rango de 10 μ g/mL hasta 40 μ g/mL de ibuprofeno en PBS. Finalmente, se obtuvo la curva de concentración del ibuprofeno a través del tiempo.

2.5 Análisis estadístico

Con ayuda del software Minitab, se realizó un análisis de varianza, ANOVA, para determinar efectos significativos, y una prueba de comparación de pares por Tukey, con un grado de confianza del 95% ($p < 0.05$). Los valores son representados como el promedio de al menos tres mediciones $\pm$ desviación estándar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el objetivo de mitigar los problemas de efectos secundarios, como la sobredosis, ocasionados por la liberación acelerada de fármacos, se han investigado diversos sistemas de liberación controlada y encapsulación. Por ejemplo, en el Laboratorio de Biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito se han realizado estudios sobre el sistema de liberación en micropartículas de cera de abeja y el efecto de surfactantes naturales en la elaboración de micropartículas, demostrando que existen áreas de mejora en los protocolos existentes [27][28]. No obstante, hasta el momento, no se ha logrado obtener el nivel de liberación controlada deseado. Es por esta razón que se busca obtener una formulación reforzada con polisacáridos capaz de mejorar los problemas existentes. Se empleó ibuprofeno como un fármaco modelo al tener una solubilidad baja en un sistema acuoso asemejándose así a diferentes fármacos hidrofóbicos.

3.1 Tamaño y morfología de las micropartículas

Esta fase tuvo como objetivo identificar las concentraciones adecuadas de quitosano y pectina que permitieran formar micropartículas lipídicas homogéneas, sin aglomeraciones significativas y con características morfológicas adecuadas para la encapsulación de compuestos lipofílicos como el ibuprofeno. La técnica utilizada fue la de emulsión-evaporación de solvente, método que ha sido ampliamente utilizado por su eficiencia en la formación de micropartículas esféricas, con un control aceptable del tamaño y con buena compatibilidad con diferentes materiales tanto hidrofílicos como

hidrofóbicos [16] [14]. Se ensayaron concentraciones de 0.125%, 0.25%, 0.5% de quitosano o pectina en combinación con dos bases lipídicas: manteca de cacao y cera de abeja. Las micrografías ópticas de las formulaciones control (sin reforzante), mostradas en la figura 1, permitieron observar partículas esféricas, en rangos de 1.2-4 μm de diametro, con una concentración mayoritaria en el intervalo de 1.2-1.9 μm como se observa en la figura 2. Estos tamaños son apropiados para obtener perfiles de liberación acelerada, como se ha demostrado en sistemas con características similares [3].

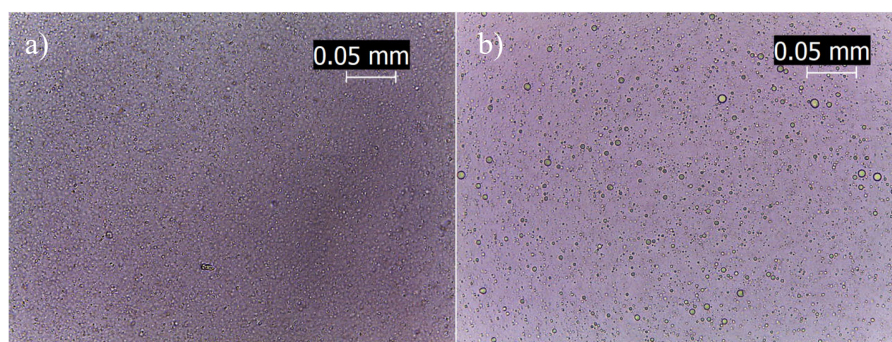
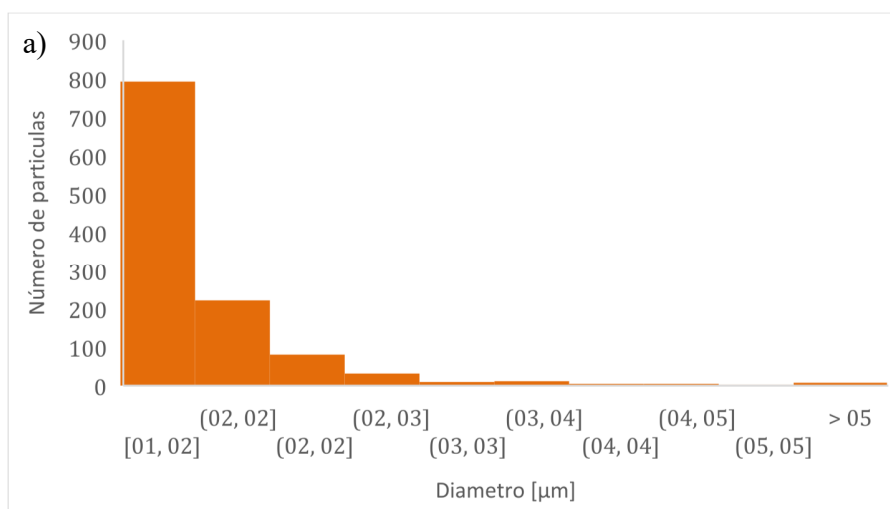


Figura 1. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) control de cera de abeja y (b) control de manteca de cacao.



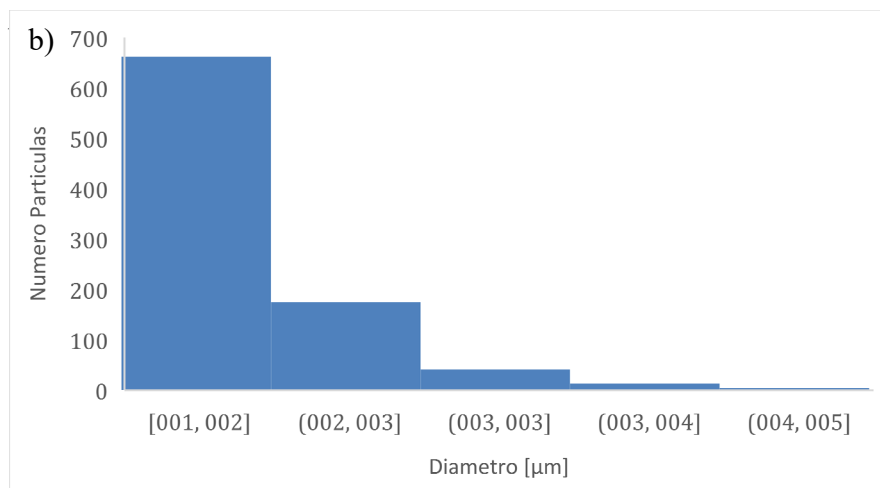


Figura 2. Histogramas del diámetro de micropartículas control de (a) cera de abeja y (b) manteca de cacao.

Al conocer la morfología de las partículas se seleccionaron las concentraciones de los reforzantes que infieren o asemejan una mejor interacción con la base lipídica, esto se logró no solo mediante el tamaño de la partícula, ya que se aprecia que, al añadir el reforzante el diámetro aumento, sino también la cantidad de aglomeración por lo que, analizando los resultados (Anexo A en el que se presentan todas la concentraciones inicialmente consideradas) se seleccionaron las concentraciones de 0.125% y 0.25%, tanto de quitosano como de pectina, como las propicias para proseguir con el proyecto. En las figuras 3 y figura 4 se aprecia la morfología en microscopia óptica de las micropartículas reforzadas con pectina y quitosano, respectivamente, en las cuales se observa mayor cantidad en las de manteca de cacao a comparación de las de cera de abeja.

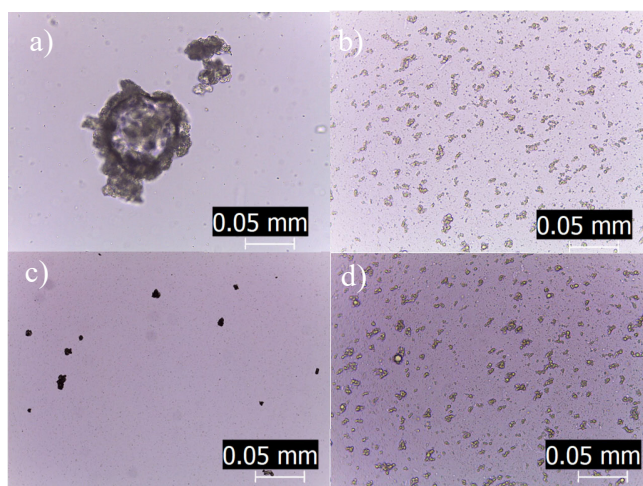


Figura 3. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) Cera de abeja con pectina al 0.25% y (b) Manteca de cacao con pectina al 0.25%. (c) Cera de abeja con pectina al 0.125% y (d) Manteca de cacao con pectina al 0.125%.

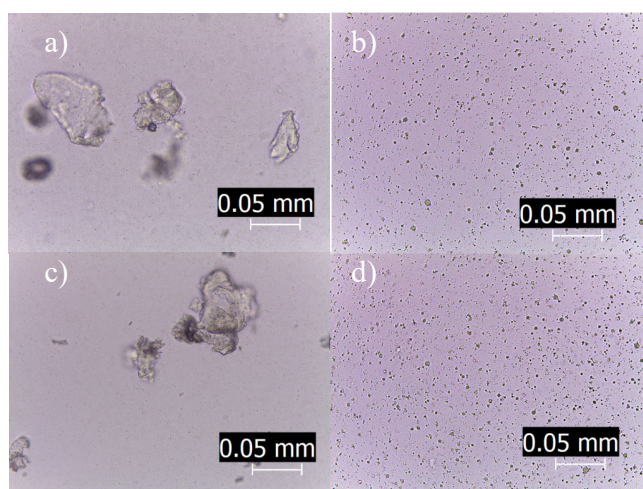


Figura 4. Micrografías ópticas de micropartículas 40x (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%.

A continuación, se realiza el análisis en Image J para conocer los diámetros predominantes en las concentraciones y se observa un aumento considerable en los diámetros (Anexo B), obteniendo valores que rondan entre los 30 μm y los 79 μm , después se procede a observar en microscopia electrónica de barrido la formación de las micropartículas.

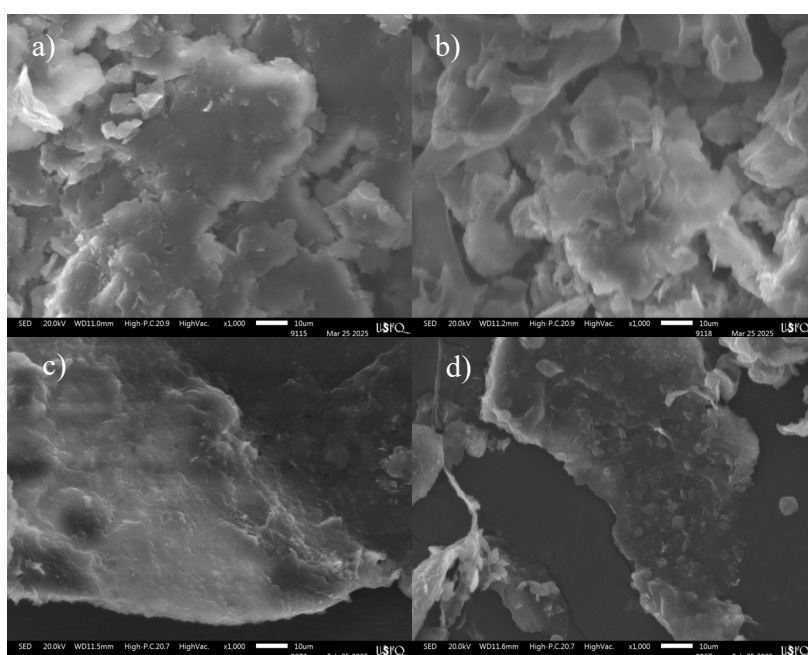


Figura 5. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas a 20kV y x1000
(a) Cera de abeja con pectina al 0.25% y (b) Manteca de cacao con pectina al 0.25%.
(c) Cera de abeja con pectina al 0.125% y (d) Manteca de cacao con pectina al
0.125%. Barra de calibración: 10 μm

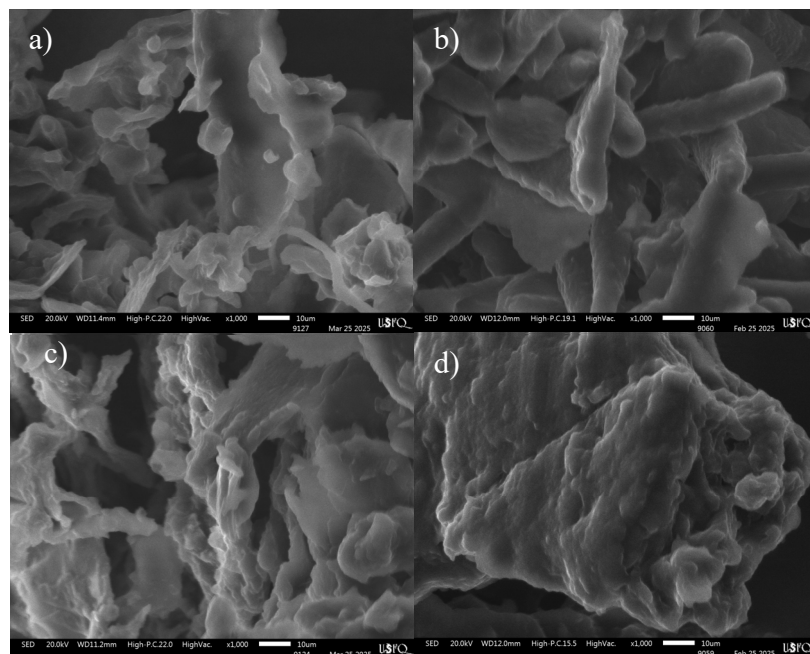


Figura 6. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas a 20kV y x1000 (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%. Barra de calibración: 10µm

Se muestra con claridad las diferencias estructurales generadas por cada polímero en donde las formulaciones con pectina mostraron partículas con contornos suaves, embebidas en una matriz continua, lo que indica una distribución uniforme del reforzante. Por su parte, el quitosano generó una estructura entrelazada más rígida, formando un entramado polimérico que encapsula las partículas, probablemente facilitando una interacción electrostática más fuerte [6] [7]. Esta diferenciación morfológica es fundamental, ya que los estudios previos han reportado que la estructura superficial de las micropartículas tiene un impacto directo en la velocidad de disolución y en la protección del principio activo frente a medios hostiles [25]. En

particular, investigaciones como las de Günter et al. y Jiang et al. Han mostrado mediante SEM que las matrices formadas por pectina adoptan estructuras características de hidrogeles, con redes reticulares que permiten la retención de y la difusión gradual, lo cual coincide con las observaciones obtenidas en este estudio [15][19]. Las estructuras observadas para el quitosano también han sido descritas en la literatura como redes poliméricas densas que favorecen una liberación mas sostenida debido a su menor porosidad y mayor resistencia a la degradación [8][7]. Así, las concentraciones de 0.125% y 0.25% fueron seleccionadas para la fase de estabilidad por presentar una morfología favorable, mínima aglomeración y tamaños compatibles con una liberación sostenida.

3.2 Estabilidad de las micropartículas en condiciones fisiológicas

La segunda fase consistió en estudiar la estabilidad estructural de las micropartículas formuladas, evaluando su comportamiento en un medio fisiológico simulado (PBS, pH 7.4). Este tipo de estudio permite predecir la integridad de los sistemas de liberación en contacto prolongado con los fluidos corporales. La elección de PBS como medio se fundamenta en su capacidad de simular las condiciones osmóticas y de pH del cuerpo humano, además de su uso generalizado en pruebas de liberación y estabilidad en formulaciones farmacéuticas [11] [17].

Durante los siete días de observación (alícuotas a 24 h, 48 h, 72 h y 168 h), se observó que las micropartículas con cera de abeja conservaron una mayor integridad estructural que las formuladas con manteca de cacao. Las figuras 7 y 8 muestran una tendencia creciente en el diámetro de las micropartículas con cera de abeja, lo que sugiere

hinchamiento progresivo y retención de la estructura, tal como se ha descrito en estudios de hinchamiento de matrices poliméricas como indicador indirecto de estabilidad física [14], mientras que las de manteca de cacao evidencian una reducción en el número y tamaño de partículas hacia las 72 h. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre las diferentes formulaciones

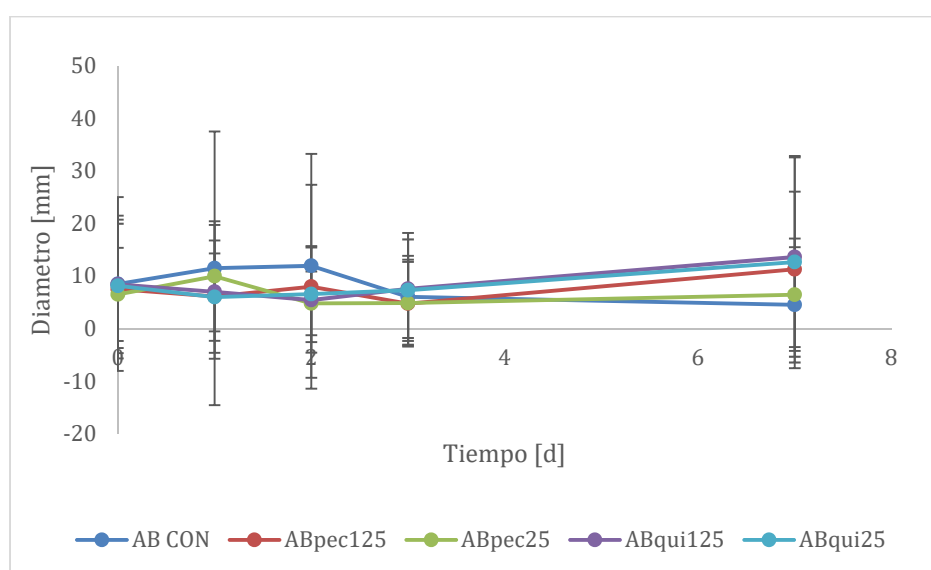


Figura 7. Grafica de diámetro vs tiempo de concentraciones de reforzante con cera de abeja. Se utiliza AB como referencia para cera de abeja, pec125 y pec25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que qui125 y qui25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.

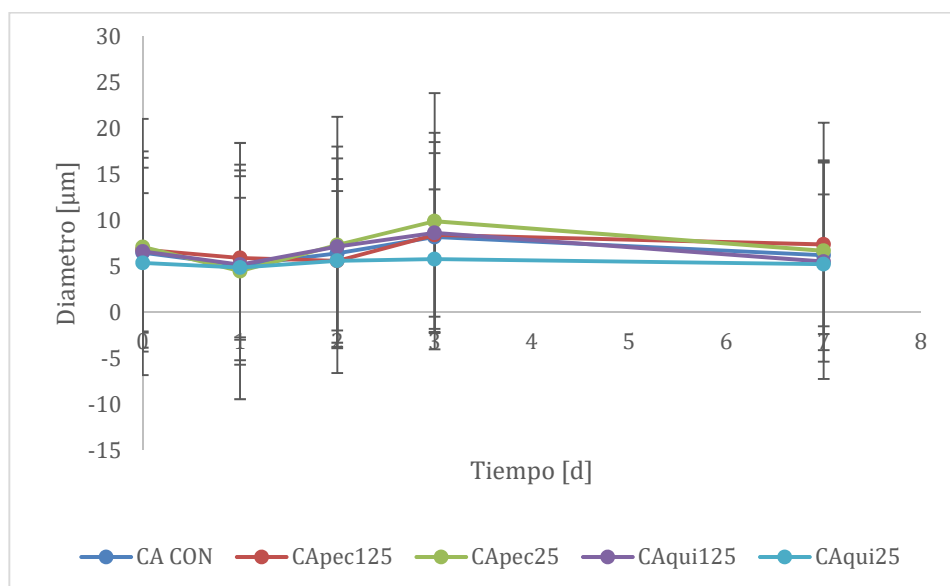


Figura 8. Grafica de diámetro vs tiempo de concentraciones de reforzante con manteca de cacao. Se utiliza CA como referencia para manteca de cacao, pec125 y pec25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que qui125 y qui25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.

Al observar las figuras se puede apreciar que se usó el diámetro de las micropartículas esto se debe a que permite apreciar de mejor manera la evolución de las mismas, sin embargo hay que tener en cuenta el hecho de que la manteca de cacao al tener un menor punto de fusión se disuelven más rápido logrando así que al tercer día haya menor cantidad de partículas mientras que la cera de abeja presenta una resiliencia mayor al paso del tiempo observando mayor cantidad de micropartículas al séptimo día en comparación con las de manteca de cacao.

Este fenómeno puede explicarse por las diferencias en los puntos de fusión y la composición química de ambas bases lipídicas. La cera de abeja, con un punto de fusión

mas alto y una mayor resistencia a la hidrolisis, confiere una matriz más estable, como lo reportaron también Peito et al.[24] en sistemas similares aplicados en cosmética. En contraste, la manteca de cacao tiende a fundirse más fácilmente a temperaturas fisiológicas, comprometiendo la integridad del sistema. Aunque observando las barras de error se puede apreciar que no existe diferencias significativas entre los grupos ya que las barras se superponen, las tendencias observadas indican que el tipo de lípido y la concentración de reforzante influyen en el comportamiento a largo plazo del sistema. Estas observaciones coinciden con los hallazgos de Gunter et al. [14], quienes demostraron que la composición del polímero y la matriz lipídica afectan directamente el hinchamiento y la estabilidad del sistema.

3.3 Encapsulación y liberación de ibuprofeno.

Una vez acabada la fase de estabilidad en la cual debido a los resultados no se pudo delimitar aun mas las concentraciones se procede a la fase de liberación en la cual se usa el mismo método de emulsión-evaporación, pero como ya se conoce las concentraciones a usar se procede a utilizar nuestro fármaco modelo para realizar las liberaciones del mismo al añadir el fármaco en la fase lipídica y proceder a liofilizar.

En esta última etapa, se evaluó la liberación del fármaco modelo(ibuprofeno) desde las micropartículas seleccionadas, utilizando PBS a 37°C como medio de disolución. Previamente a los ensayos de liberación, se realizó una caracterización morfológica mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) de las micropartículas cargadas, lo cual permitió observar la integridad estructural tras la encapsulación. Las micrografías SEM mostraron que las partículas mantenían una morfología similar a la

observada antes de la carga, conservando su forma esférica y superficie continua, aunque con una ligera disminución de la textura superficial, posiblemente por la interacción del ibuprofeno con la matriz polimérica. En particular, las formulaciones con quitosano presentaron superficies mas rugosas y compactas, compatibles con una red mas densa de encapsulación, mientras que las de pectina conservaron un aspecto más liso y poroso. Estas observaciones sugieren que la encapsulación no comprometió la integridad morfológica del sistema, y que las diferencias en la estructura superficial pueden influir directamente en cinética de la liberación del fármaco. La técnica de espectrofotometría Uv-Vis permitió obtener una curva de concentración en función del tiempo para las formulaciones con quitosano y pectina, tanto en cera de abeja como en manteca de cacao.

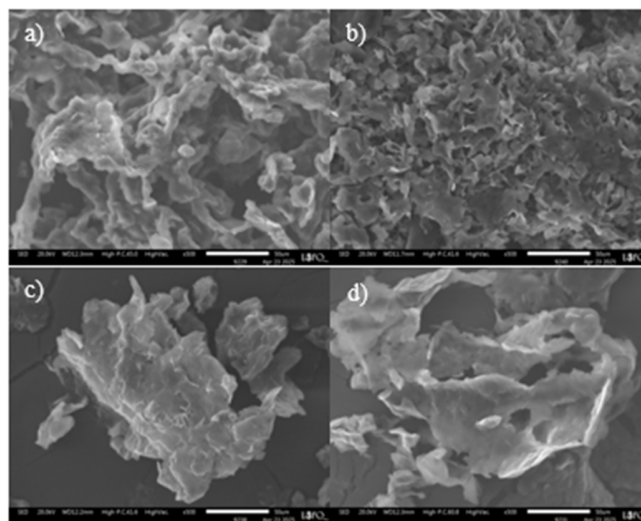


Figura 9. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas con ibuprofeno a 20kV y x500 de (a) Cera de abeja con quitosano al 0.25% y (b) Manteca de cacao con quitosano al 0.25%. (c) Cera de abeja con quitosano al 0.125% y (d) Manteca de cacao con quitosano al 0.125%. Barra de calibración: 10μm

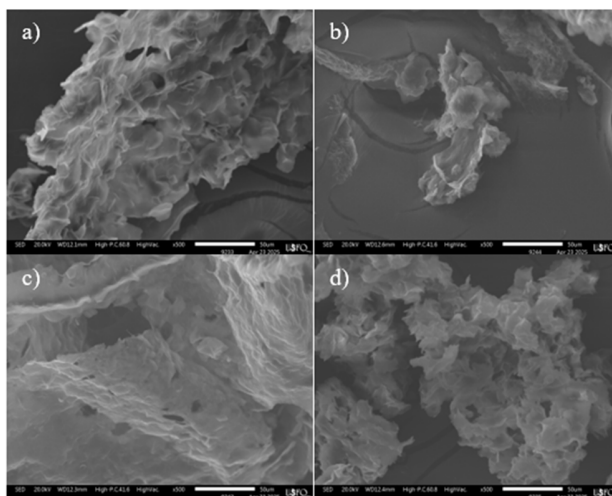


Figura 10. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas con ibuprofeno a 20kV y x1000 (a) Cera de abeja con pectina al 0.25% y (b) Manteca de cacao con pectina al 0.25%. (c) Cera de abeja con pectina al 0.125% y (d) Manteca de cacao con pectina al 0.125%. Barra de calibración: 10µm

Las figuras 11 y 12 muestran que las formulaciones con cera de abeja presentan un perfil de liberación mas sostenido que las formuladas con manteca de cacao, confirmando su mayor estabilidad estructural. Se observo una liberación gradual durante las primeras 24 h, con una acumulación más rápida en formulaciones con pectina, en comparación con las formulaciones con quitosano. Esta diferencia puede atribuirse a la menor densidad de red de la pectina y su mayor solubilidad en PBS, lo que facilita la difusión del fármaco [10] [9].

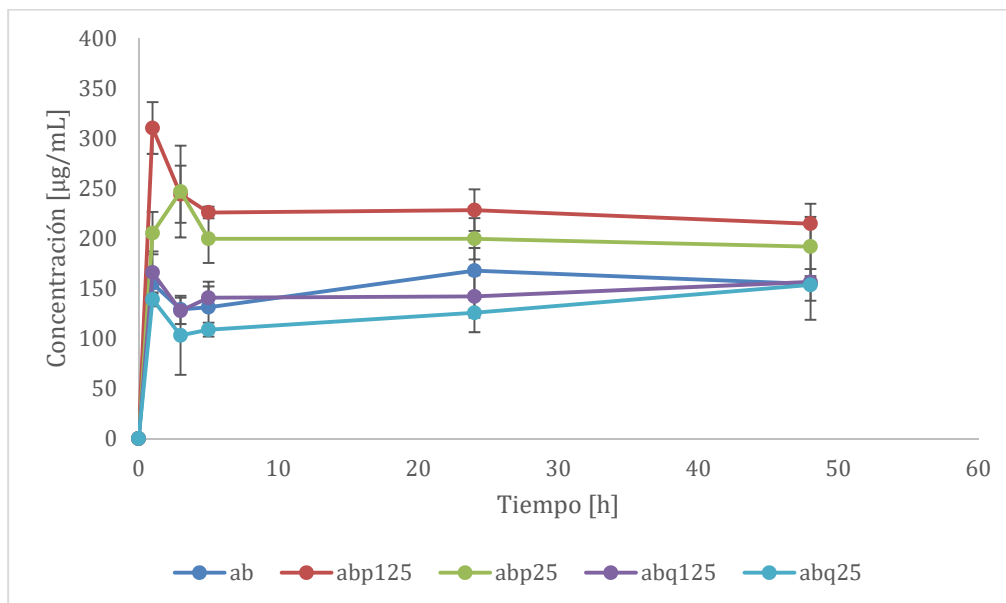


Figura 11. Concentración de ibuprofeno durante 48h de micropartículas de cera de abeja. Se utiliza ab como referencia para cera de abeja, p125 y p25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que q125 y q25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.

Por otro lado, el quitosano, con su capacidad para formar complejos iónicos mas densos y una mayor afinidad por compuestos hidrofóbicos, parece ralentizar la liberación del ibuprofeno, creando un efecto barrera mas marcado [6] [8]. Este comportamiento es para terapias que requieren una liberación sostenida, como tratamientos antiinflamatorios de largo plazo. Los resultados obtenidos confirman que la combinación de cera de abeja con quitosano al 0.125% y 0.25% proporciona el sistema mas estable y con liberación mas prolongada, cumpliendo con los objetivos planteados. Este sistema demuestra ser una alternativa natural, biodegradable y efectiva para la administración oral de fármacos lipofílicos.

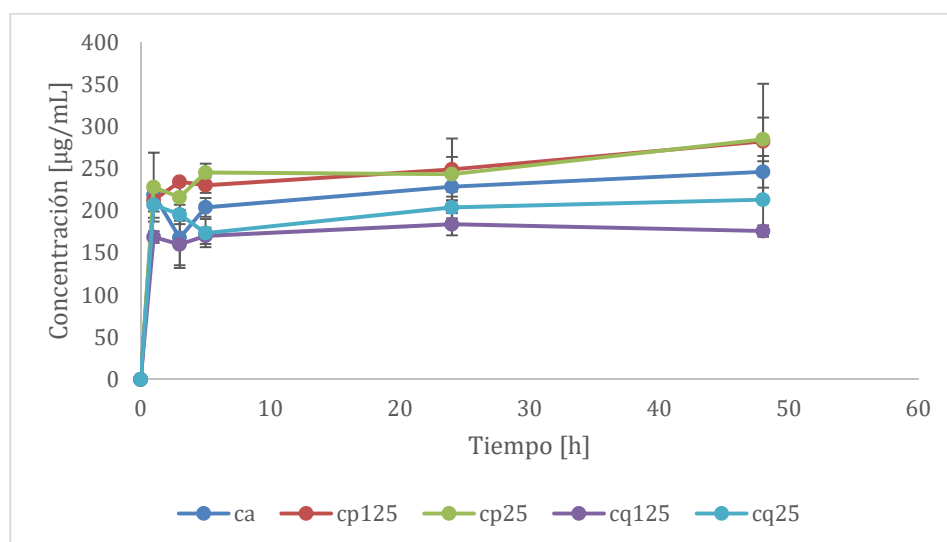


Figura 12. Concentración de ibuprofeno durante 48h de micropartículas de manteca de cacao. Se utiliza ca como referencia para manteca de cacao, p125 y p25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de pectina respectivamente, mientras que q125 y q25 para las concentraciones de 0.125% y 0.25% de quitosano respectivamente.

Aunque visualmente se aprecian diferencias entre materiales y reforzantes, los análisis estadísticos revelan una realidad mas matizada. El modelo lineal general aplicado mostro que el material (pectina o quitosano) fue el factor mas influyente en la liberación de ibuprofeno, con valores en análisis Anova (Anexo C) de $p < 0.001$ tanto para las formulaciones con manteca de cacao como para las de cera de abeja ($p = 0.000$ en ambos casos). Sin embargo, al analizar los efectos de concentración de biopolímeros y el tiempo, los valores p no fueron siempre significativos. Además, los resultados del test de Turkey mostraron que aunque hay diferencias entre grupos como PEC 0.125 y Qui 0.125

($p < 0.05$), otros pares como PEC 0.25 y PEC 0.125 no presentan diferencias significativas entre si, a pesar de mostrar trayectorias visualmente distintas en las curvas de liberación. Por tanto, las diferencias apreciadas en las figuras 11 y 12 deben interpretarse con cautela, entendiendo que, aunque algunas tendencias apuntan a una liberación mas sostenida con quitosano, esta no siempre es estadísticamente diferente a la pectina en ciertos momentos de la prueba. En conjunto, se puede afirmar que aunque el tipo de material influye significativamente al igual que la base lipídica, debido al punto de fusión, en el comportamiento de liberación, las diferencias asociadas a la concentración y su interacción con el tiempo requieren estudios adicionales para establecer conclusiones definitivas.

4. CONCLUSIONES

El desarrollo de micropartículas lipídicas reforzadas con biopolímeros naturales como la pectina y el quitosano permitió explorar distintas combinaciones para la liberación controlada de ibuprofeno. Sin embargo, los resultados estadísticos obtenidos matizan algunas de las observaciones iniciales y permiten concluir que, aunque el tipo de biopolímero tuvo un efecto estadísticamente significativo en la liberación del fármaco, las diferencias entre concentraciones de reforzantes no fueron consistentes a lo largo del tiempo. Las formulaciones con cera de abeja mostraron una tendencia a mayor estabilidad y menor tasa de liberación que las de manteca de cacao, aunque algunas diferencias entre material y concentración fue significativa, pero se requiere mayor profundidad experimental para confirmar estas tendencias y su efecto farmacocinético. El método de emulsión-evaporación se consolidó como técnica efectiva para la fabricación de micropartículas estables, aunque la evaluación cuantitativa posterior debe considerar tanto parámetros visuales como estadísticos. Si bien se identificaron formulaciones con buen desempeño preliminar, los resultados sugieren la necesidad de ensayos adicionales para optimizar y validar estas formulaciones bajo condiciones fisiológicas más exigentes y con criterios biofarmacéuticos más rigurosos.

5. REFERENCIAS

- [1] M. G. Devi, S. Dutta, A. T. al Hinai, and S. Feroz, "Studies on encapsulation of Rifampicin and its release from chitosan-dextran sulfate capsules," *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 32, pp. 118–124, Aug. 2015,, 10.1007/s11814-014-0161-9
- [2] M. G. Devi, S. Dutta, A. T. al Hinai, and S. Feroz, "Studies on encapsulation of Rifampicin and its release from chitosan-dextran sulfate capsules," *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 32, pp. 118–124, Aug. 2015,, 10.1007/s11814-014-0161-9
- [3] Aranaz et al., "Chitosan: An overview of its properties and applications," *Polymers*, vol. 13, no. 19. 2021, 10.3390/polym13193256
- [4] Roman-Benn et al., "Pectin: An overview of sources, extraction and applications in food products, biomedical, pharmaceutical and environmental issues," *Food Chemistry Advances*, vol. 2. 2023, 10.1016/j.focha.2023.100192
- [5] X. Lin, S. Chen, R. Wang, C. Li, and L. Wang, "Fabrication, characterization and biological properties of pectin and/or chitosan-based films incorporated with noni (*Morinda citrifolia*) fruit extract," *Food Hydrocolloids*, vol. 134, 2023,, 10.1016/j.foodhyd.2022.108025
- [6] V. Chandel, D. Biswas, S. Roy, D. Vaidya, A. Verma, and A. Gupta, "Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications," *Foods*, vol. 11, no. 17. 2022, 10.3390/foods11172683
- [7] S. Ahadian et al., "Micro and nanoscale technologies in oral drug delivery," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 157. 2020, 10.1016/j.addr.2020.07.012
- [8] N. Desai et al., "Chitosan: A Potential Biopolymer in Drug Delivery and Biomedical Applications," *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 4. 2023, 10.3390/pharmaceutics15041313
- [9] R. Liu et al., "Advances of nanoparticles as drug delivery systems for disease diagnosis and treatment," *Chinese Chemical Letters*, vol. 34, no. 2, 2023,, 10.1016/j.ccllet.2022.05.032
- [10] T. C. Ezike et al., "Advances in drug delivery systems, challenges and future directions," *Heliyon*, vol. 9, no. 6. 2023, 10.1016/j.heliyon.2023.e17488
- [11] Adepu S. and Ramakrishna S., "Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. ," *Molecules*, Sep. 2021
- [12] M. Vargason, A. C. Anselmo, and S. Mitragotri, "The evolution of commercial drug delivery technologies," *Nat Biomed Eng* 5, pp. 951–967, Apr. 2021

- [13] S. Saadi et al., "A review on trends in microencapsulation of bioactive compounds: coating materials, design, and applications," *European Food Research and Technology*, vol. 249, no. 12. 2023, 10.1007/s00217-023-04354-2
- [14] P. Yang, M. Du, L. Cao, Z. Yu, and S. Jiang, "Preparation and characterization of emulsion-based peony seed oil microcapsule," *Journal of Oleo Science*, vol. 69, no. 3, 2020,, 10.5650/jos.ess19235
- [15] Z. Jiang, S. Zhao, M. Yang, M. Song, J. Li, and J. Zheng, "Structurally stable sustained-release microcapsules stabilized by self-assembly of pectin-chitosan-collagen in aqueous two-phase system," *Food Hydrocolloids*, vol. 125, 2022,, 10.1016/j.foodhyd.2021.107413
- [16] S. Goli et al., "Microencapsulation of *Lysiphyllum strychnifolium* extract using pectin as a carrier matrix and its characterization," *Life Sciences, Medicine and Biomedicine*, vol. 6, no. 1, 2022,, 10.28916/lsm.6.1.2022.102
- [17] Z. Motalebi Moghanjoughi, M. Rezazadeh Bari, M. Alizadeh Khaledabad, S. Amiri, and H. Almasi, "Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* BB-12 in pectin and sodium alginate: A comparative study on viability, stability, and structure," *Food Science and Nutrition*, vol. 9, no. 9, 2021,, 10.1002/fsn3.2470
- [18] R. Morales-Medina et al., "Structure, controlled release mechanisms and health benefits of pectins as an encapsulation material for bioactive food components," *Food and Function*, vol. 13, no. 21. 2022, 10.1039/d2fo00350c
- [19] E. A. Günter, A. K. Melekhin, V. S. Belozerov, E. A. Martinson, and S. G. Litvinets, "Preparation, physicochemical characterization and swelling properties of composite hydrogel microparticles based on gelatin and pectins with different structure," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 258, 2024,, 10.1016/j.ijbiomac.2023.128935
- [20] E. A. Günter, V. v. Martynov, V. S. Belozerov, E. A. Martinson, and S. G. Litvinets, "Characterization and swelling properties of composite gel microparticles based on the pectin and κ -carrageenan," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 164, 2020,, 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.024
- [21] Paolina Lukova, "Utilization of pectin as a polysaccharide microcarrier for drug delivery," *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, vol. 15, no. 2, 2023,, 10.30574/wjbphs.2023.15.2.0364
- [22] G. C. Raddatz et al., "Use of prebiotic sources to increase probiotic viability in pectin microparticles obtained by emulsification/internal gelation followed by freeze-drying," *Food Research International*, vol. 130, 2020,, 10.1016/j.foodres.2019.108902

- [23] P. Lukova, P. Katsarov, and B. Pilicheva, "Application of Starch, Cellulose, and Their Derivatives in the Development of Microparticle Drug-Delivery Systems," *Polymers*, vol. 15, no. 17. 2023, 10.3390/polym15173615
- [24] S. Peito et al., "Nano- and microparticle-stabilized Pickering emulsions designed for topical therapeutics and cosmetic applications," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 615. 2022, 10.1016/j.ijpharm.2022.121455
- [25] Vlachopoulos et al., "Poly(Lactic Acid)-Based Microparticles for Drug Delivery Applications: An Overview of Recent Advances," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 2. 2022, 10.3390/pharmaceutics14020359
- [26] M. Lengyel, N. Kállai-Szabó, V. Antal, A. J. Laki, and I. Antal, "Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery," *Scientia Pharmaceutica*, vol. 87, no. 3. 2019, 10.3390/scipharm87030020
- [27] D. D. P. Romo Rodríguez, *Combinación de micropartículas de cera de abeja e hidrogeles a base de pectina y quitosano para la liberación controlada de ibuprofeno como fármaco modelo*, Tesis de pregrado, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, 2023
- [28] K. M. Álvarez Narváez, *Evaluación del uso de saponinas de quinua como agente emulsificante en la producción de micropartículas de manteca de cacao para la liberación controlada de fármacos*, Tesis de pregrado, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, 2020

6. ANEXOS

ANEXO A: RESULTADOS EXPLORACIÓN: TAMAÑOS DIÁMETRO EN CADA CONCENTRACIÓN DE REFORZANTE

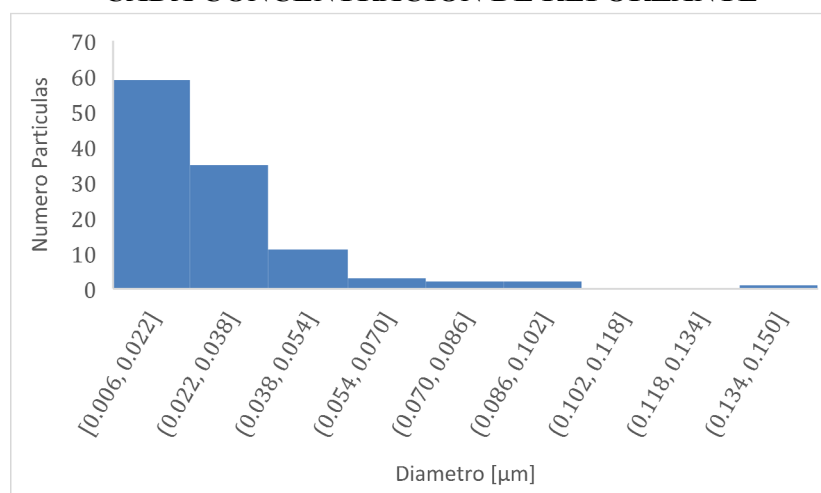


Figura 1A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con quitosano al 0.5% p/v.

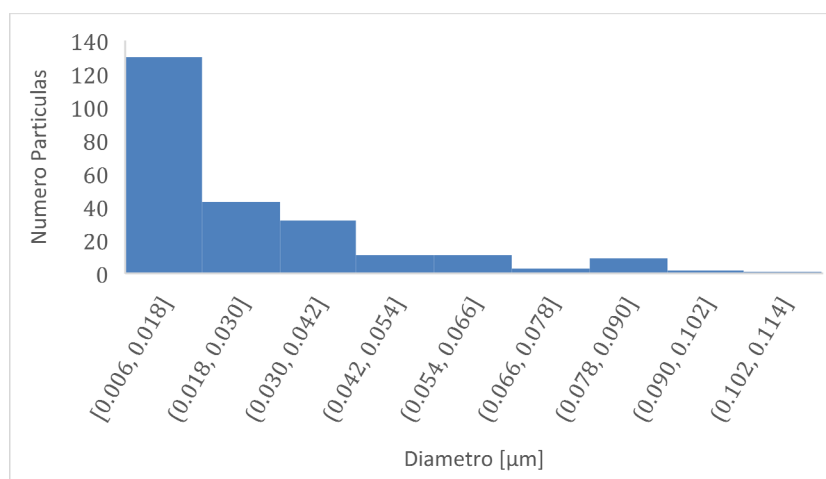


Figura 2A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con pectina al 0.5% p/v.

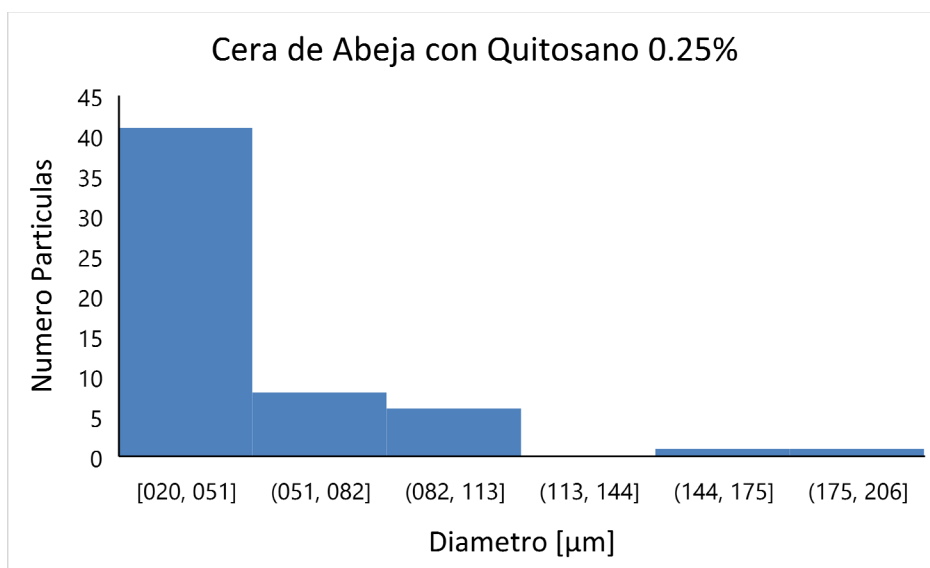


Figura 3A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con quitosano al 0.25% p/v.

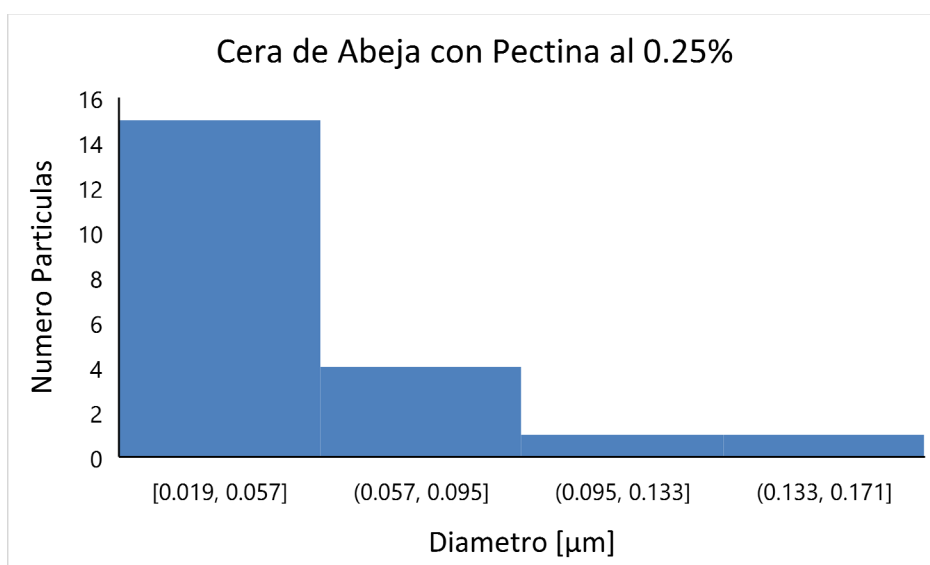


Figura 4A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con pectina al 0.25% p/v.

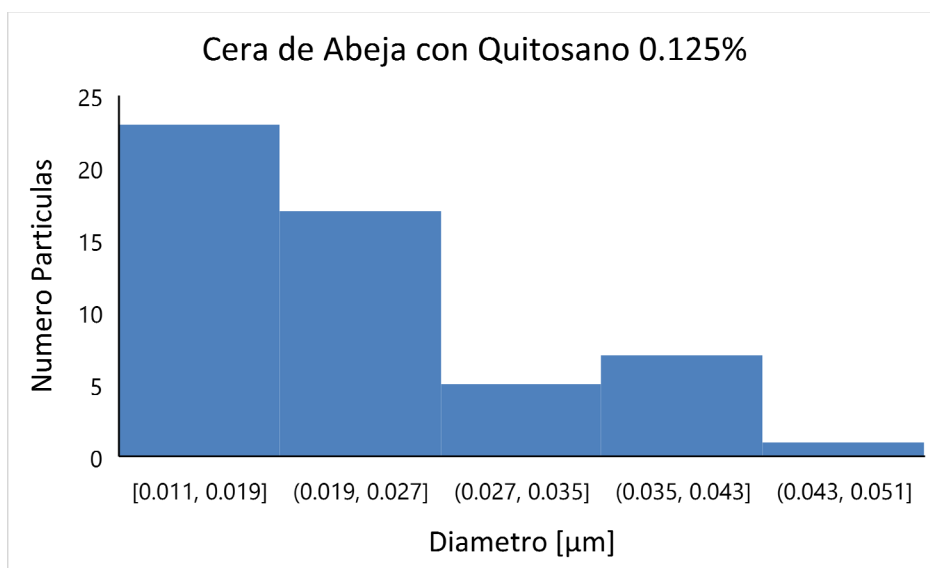


Figura 5A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con quitosano al 0.125% p/v.

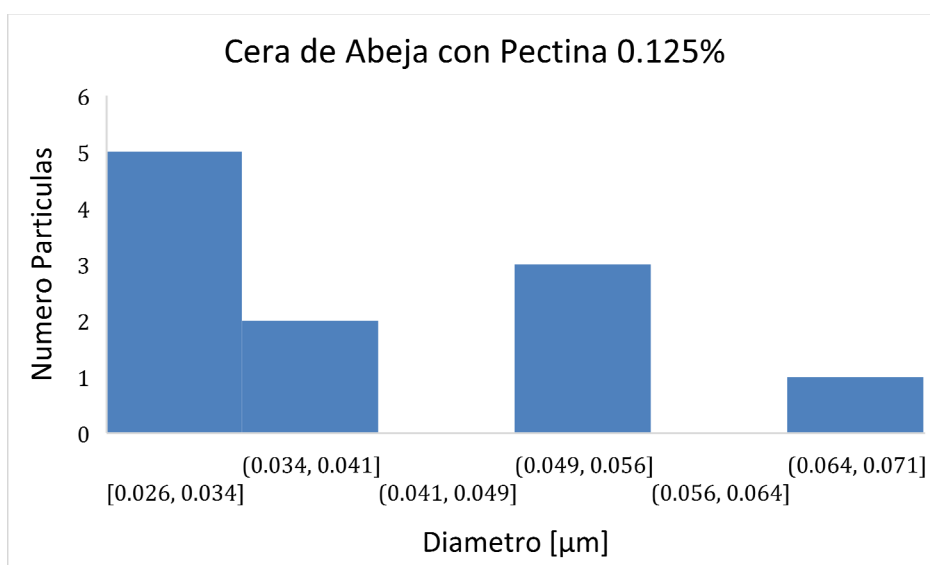


Figura 6A. Histograma del diámetro de micropartícula de cera de abeja con pectina al 0.125% p/v.

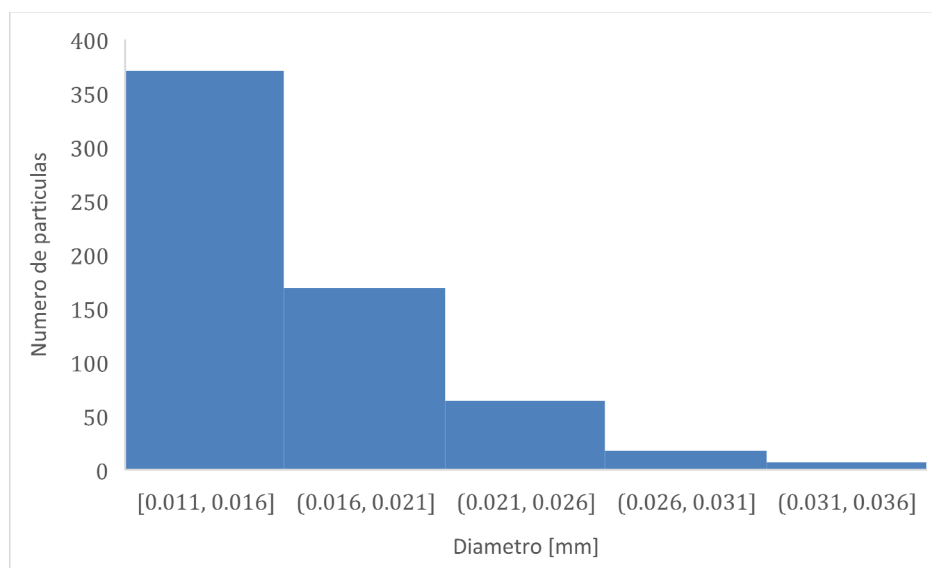


Figura 7A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con quitosano al 0.125% p/v.

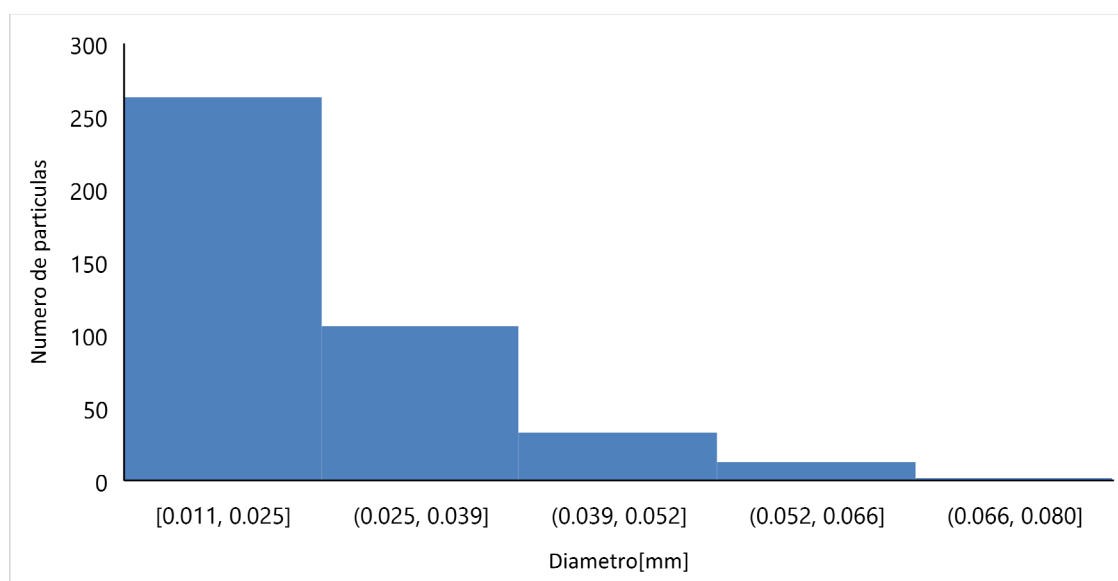


Figura 8A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con pectina al 0.125% p/v.

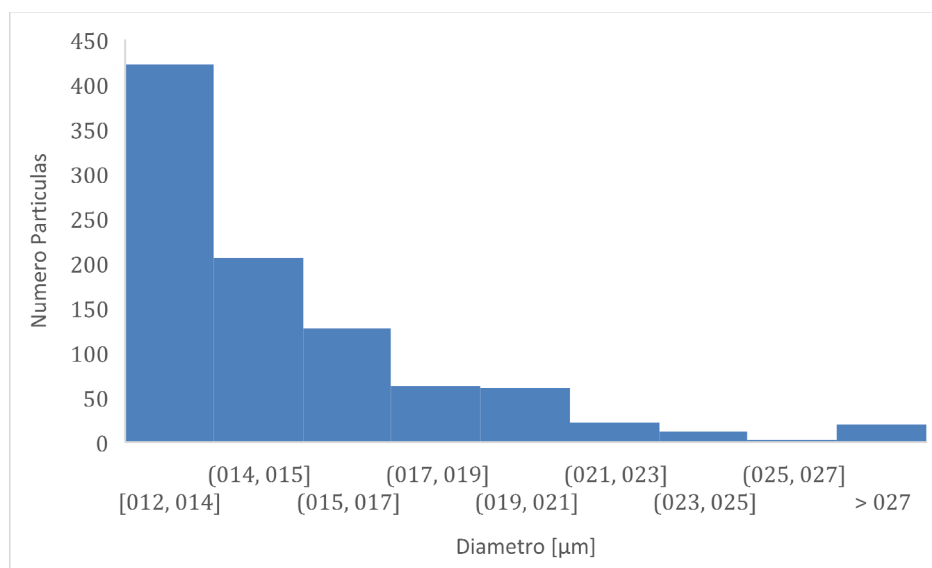


Figura 9A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con quitosano al 0.25% p/v.

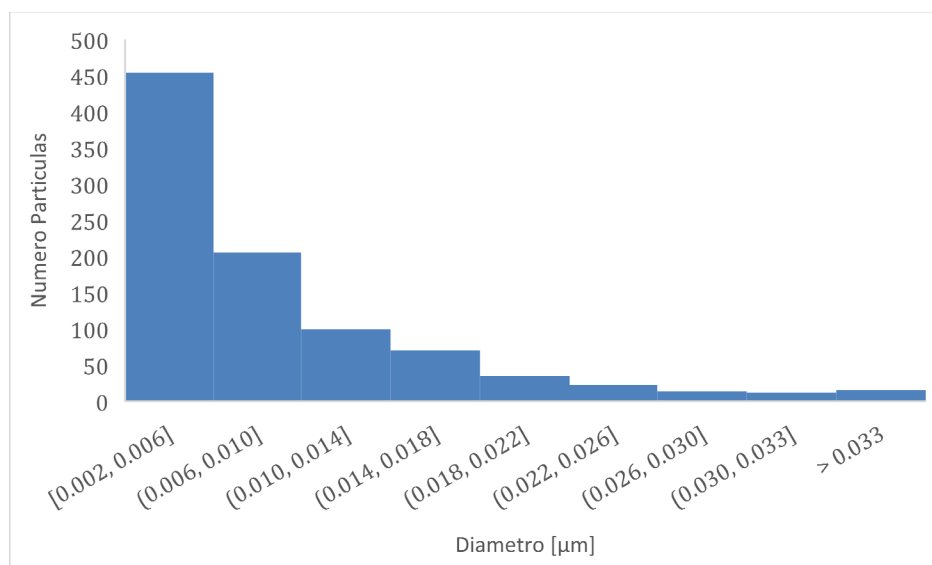


Figura 10A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con pectina al 0.25% p/v.

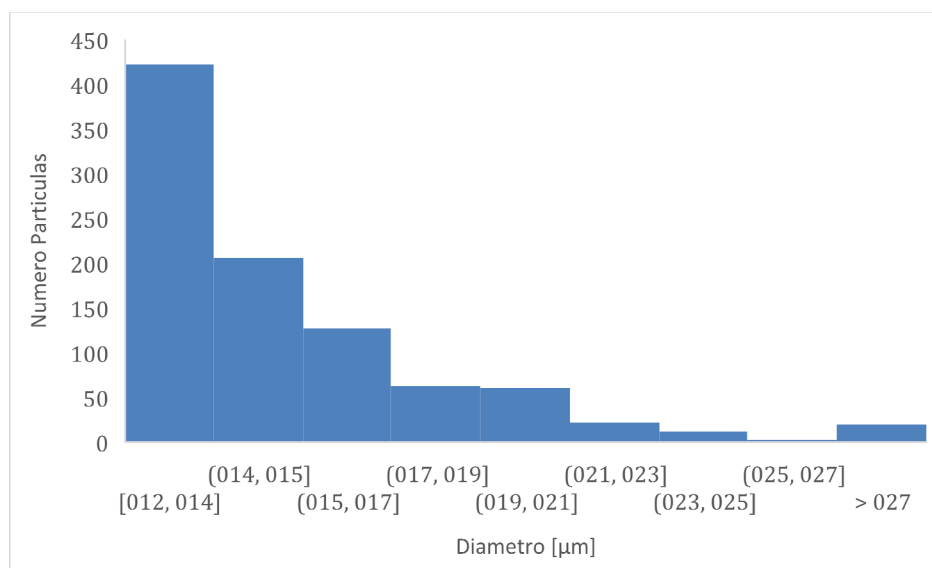


Figura 11A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con quitosano al 0.5% p/v.

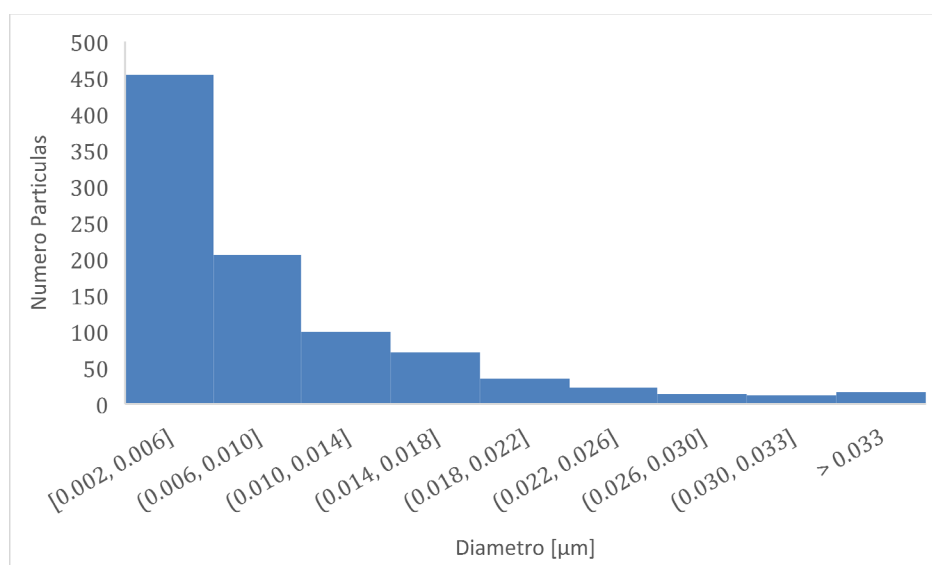


Figura 12A. Histograma del diámetro de micropartícula de manteca de cacao con pectina al 0.5% p/v.

**ANEXO B: MICROGRAFÍAS ÓPTICAS 40X DE CONCENTRACIÓN 0.5% P/V
DE REFORZANTE**

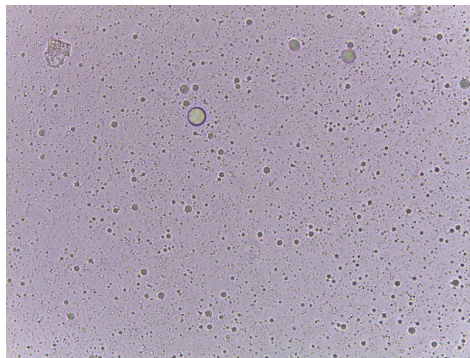


Figura 1B. Micrografía óptica de micropartículas 40x Manteca de cacao con quitosano al 0.5% p/v.

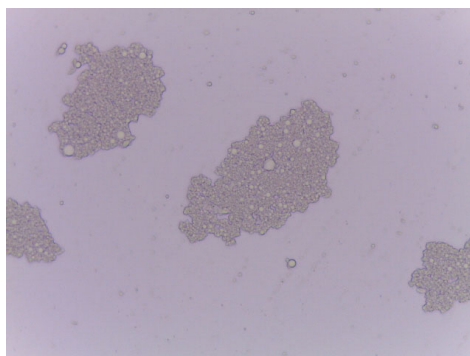


Figura 2B. Micrografía óptica de micropartículas 40x Manteca de cacao con pectina al 0.5% p/v.

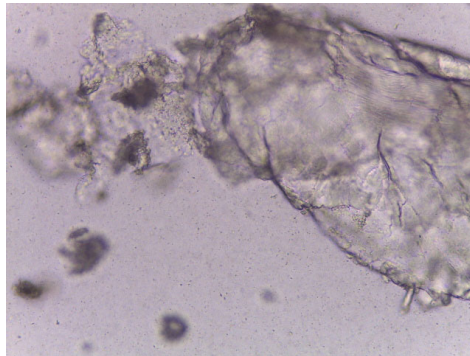


Figura 3B. Micrografía óptica de micropartículas 40x cera de abeja con quitosano al 0.5% p/v.

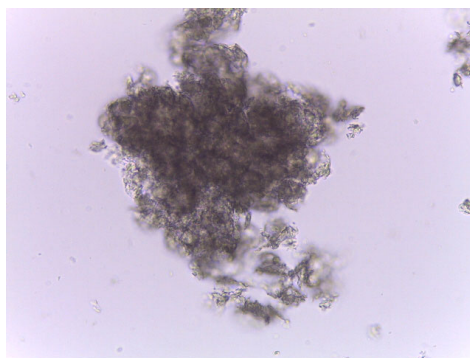


Figura 4B. Micrografía óptica de micropartículas 40x cera de abeja con pectina al 0.5% p/v.

ANEXO C: TABLAS ANOVA Y TUKEY

Encapsulante	N	Media	Agrupación
Cacao	90	213,702	A
C Abeja	90	170,122	B

Tabla 1C. Comparaciones por parejas de Tukey: Encapsulante.

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	213,70	2,92	73,11	0,000	
Material					
PEC	19,12	2,92	6,54	0,000	1,00
Concentracion					
0,000	-0,54	4,13	-0,13	0,897	1,33
0,125	-6,87	4,13	-1,66	0,101	1,33
Tiempo					
1	-4,50	5,85	-0,77	0,444	1,60
3	-23,35	5,85	-3,99	0,000	1,60
5	-9,10	5,85	-1,56	0,124	1,60
24	9,22	5,85	1,58	0,119	1,60
Material*Concentracion					
PEC 0,000	-19,12	4,13	-4,63	0,000	1,33
PEC 0,125	15,85	4,13	3,83	0,000	1,33
Material*Tiempo					
PEC 1	-8,34	5,85	-1,43	0,158	1,60
PEC 3	-3,35	5,85	-0,57	0,569	1,60
PEC 5	2,84	5,85	0,49	0,628	1,60
PEC 24	-1,71	5,85	-0,29	0,771	1,60
Concentracion*Tiempo					
0,000 1	10,49	8,27	1,27	0,209	2,13
0,000 3	-21,90	8,27	-2,65	0,010	2,13
0,000 5	-0,03	8,27	-0,00	0,997	2,13
0,000 24	6,12	8,27	0,74	0,462	2,13
0,125 1	-11,53	8,27	-1,40	0,168	2,13
0,125 3	13,84	8,27	1,67	0,099	2,13
0,125 5	2,57	8,27	0,31	0,757	2,13
0,125 24	0,56	8,27	0,07	0,947	2,13

Tabla 2C. Coeficientes ANOVA para manteca de cacao del Modelo lineal general:

Liberacion vs. Material; Concentracion; Tiempo.

Material	N	Media	Agrupación
PEC	45	232,823	A
QUI	45	194,582	B

Tabla 3C. Comparaciones por parejas de Tukey para manteca de cacao: Material.

Tiempo	N	Media	Agrupación
48	18	241,434	A
24	18	222,923	A B
1	18	209,204	B C
5	18	204,602	B C
3	18	190,348	C

Tabla 4C. Comparaciones por parejas de Tukey para manteca de cacao: Tiempo

Material*Concentracion	N	Media	Agrupación
PEC 0,250	15	243,507	A
PEC 0,125	15	241,796	A B
QUI 0,000	15	213,164	B C
PEC 0,000	15	213,164	B C
QUI 0,250	15	198,721	C D
QUI 0,125	15	171,861	D

*Tabla 5C. Comparaciones por parejas de Tukey para manteca de cacao:Material*Concentracion*

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	170,12	2,90	58,61	0,000	
Material					
PEC	30,10	2,90	10,37	0,000	1,00
Concentracion					
0,000	-22,61	4,11	-5,51	0,000	1,33
0,125	25,44	4,11	6,20	0,000	1,33
Tiempo					
1	18,27	5,81	3,15	0,002	1,60
3	-6,84	5,81	-1,18	0,243	1,60
5	-13,90	5,81	-2,39	0,019	1,60
24	1,69	5,81	0,29	0,771	1,60
Material*Concentracion					
PEC 0,000	-30,10	4,11	-7,33	0,000	1,33
PEC 0,125	18,93	4,11	4,61	0,000	1,33
Material*Tiempo					
PEC 1	4,98	5,81	0,86	0,394	1,60
PEC 3	13,24	5,81	2,28	0,026	1,60
PEC 5	-0,79	5,81	-0,14	0,892	1,60
PEC 24	-3,41	5,81	-0,59	0,558	1,60
Concentracion*Tiempo					
0,000 1	-10,80	8,21	-1,32	0,193	2,13
0,000 3	-11,56	8,21	-1,41	0,164	2,13
0,000 5	-2,41	8,21	-0,29	0,770	2,13
0,000 24	18,58	8,21	2,26	0,027	2,13
0,125 1	24,23	8,21	2,95	0,004	2,13
0,125 3	-2,90	8,21	-0,35	0,725	2,13
0,125 5	1,64	8,21	0,20	0,843	2,13
0,125 24	-12,20	8,21	-1,49	0,142	2,13

Tabla 6C. Coeficientes ANOVA para cera de abeja del Modelo lineal general:

Liberacion vs. Material; Concentracion; Tiempo.

Material	N	Media	Agrupación
PEC	45	200,219	A
QUI	45	140,025	B

Tabla 7C. Comparaciones por parejas de Tukey para cera de abeja: Material.

Concentracion	N	Media	Agrupación
----------------------	----------	--------------	-------------------

0,125	30	195,560	A	
0,250	30	167,299		B
0,000	30	147,507		C

Tabla 8C. Comparaciones por parejas de Tukey para cera de abeja: Concentración.

Tiempo	N	Media	Agrupación
1	18	188,391	A
24	18	171,816	A
48	18	170,896	A
3	18	163,284	A
5	18	156,223	A
			B
			B
			B
			B
			B

Tabla 9C. Comparaciones por parejas de Tukey para cera de abeja: Tiempo

Material*Concentracion	N	Media	Agrupación
PEC 0,125	15	244,582	A
PEC 0,250	15	208,567	
QUI 0,000	15	147,507	
PEC 0,000	15	147,507	
QUI 0,125	15	146,537	
QUI 0,250	15	126,030	
			B
			C
			C
			C
			C

Tabla 10C. Comparaciones por parejas de Tukey para cera de abeja:

*Material*Concentracion.*

ANEXO D: PREPARACIÓN PBS

Component	Amount	Concentration
Sodium chloride (mw: 58.44 g/mol)	8 g	0.137 M
Potassium Chloride (mw: 74.55 g/mol)	0.2 g	0.0027 M
Sodium Phosphate Dibasic (mw: 141.96 g/mol)	1.44 g	0.01 M
Potassium Phosphate Monobasic (mw: 136.09 g/mol)	0.245 g	0.0018 M

Tabla 1D. Cantidades para la elaboración de buffer fosfato salino (PBS).

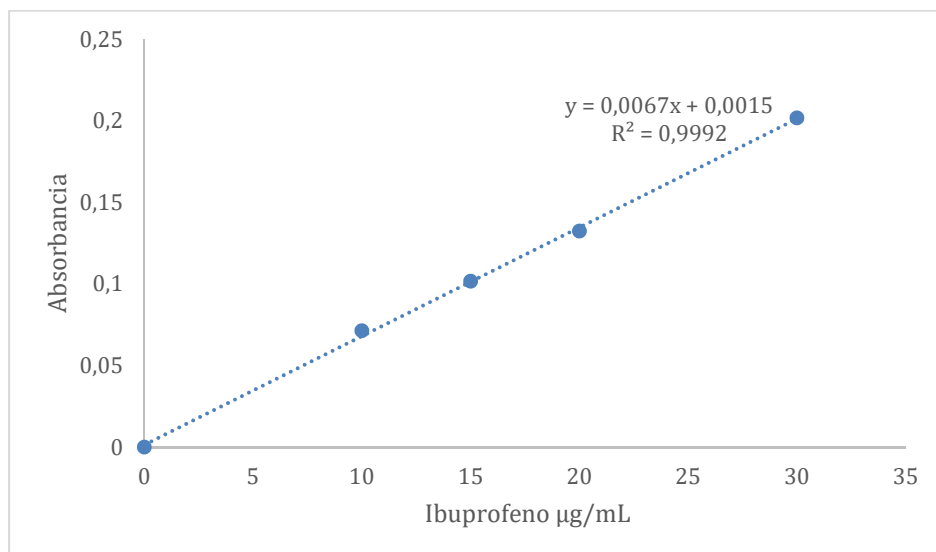
ANEXO E: CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LIBERACIÓN IBUPROFENO.

Figura 1E. Curva de calibración de ibuprofeno $\mu\text{g/mL}$ vs Absorbancia.