

Primera Edición

2017

# TECNOLOGÍAS DE NANO/MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS



nanobio

Editores:

Dr. Hugo Espinosa Andrews

Dr. Eristeo García Márquez

Centro de Investigación y  
Asistencia en Tecnología y Diseño  
del Estado de Jalisco A.C.

ISBN: 978-607-97548-3-9



**Primera Edición, 2017**

**ISBN 978-607-97548-3-9**

**Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco,  
A.C**

**Av. Normalistas 800. Colinas de la Normal, Guadalajara Jalisco, México. CP 44270.**

**CIA760825**



**Sello Editorial: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (607-97548)**

<Se prohíbe la reproducción total o parcial de este documento por cualquier medio sin el previo y expreso consentimiento por escrito del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. a cualquier persona y actividad que sean ajenas al mismo>

## **Editores**

### **Dr. Hugo Espinosa Andrews.**

El Dr. Espinosa obtuvo el título de Doctor en Ciencias (Ingeniería Química) en la Universidad Autónoma Metropolitana en la Ciudad de México. Actualmente es investigador titular “C” del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Unidad Zapopan. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel 1.



Sus intereses de investigación se centran en el diseño de sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos. Ha publicado quince artículos científicos en revistas internacionales (h-index 7). Ha editado un libro con registro ISBN. Cuenta con tres solicitudes de patente con registro en PCT y cinco solicitudes de patente registradas en el IMPI.

### **Dr. Eristeo García Márquez**

El Dr. García Márquez obtuvo el título de Doctor en Biotecnología en la Universidad Autónoma Metropolitana en la Ciudad de México. Actualmente es investigador titular “A” del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Unidad Noreste. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel Candidato.



Sus intereses de investigación se centran en el desarrollo de sistemas micro y nanoensamble intermolecular. Principalmente, en estabilizar sustancias antioxidantes, y minerales catiónicos de interés biológico. Ha publicado ocho artículos científicos en revistas internacionales (h-index 3). Ha editado un libro con registro ISBN. Cuenta con una solicitud de patente registrada en PCT.

# LISTA DE AUTORES.

## **Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías,**

### **Universidad de Guadalajara**

Dr. Enrique Arriola Guevara

## **Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.**

### **Universidad Autónoma Metropolitana.**

Dra. Angélica Román Guerrero

## **Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química.**

### **Universidad Autónoma de Querétaro.**

Karen Magaly Soto Martínez.

Jenny Alexandra Rincón Aguirre.

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz

### **Departamento de Recursos del Mar.**

#### **CINVESTAV Unidad Mérida**

Dr. Norberto Ulises García Cruz.

### **Ingeniería en Industrias Alimentarias.**

## **Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey**

Dra. Diana Karina Baigts Allende.

### **Universidad Autónoma de Nayarit.**

Dr. Jesus Bernardino Velázquez Fernández.

### **Catedrática CONACYT-CIATEJ, A.C.**

Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona.

Dra. Tanya Amanda Camacho Villegas.

**Catedrática CONACYT-Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.**

Dra. Miriam Fabiola Fabela Morón

Dra. Claudia Figueroa-Hernández

Dr. Rodrigo Alonso-Villegas

**Tecnología Alimentaria, CIATEJ, A.C.**

Dr. Inocencio Higuera Ciapara.

Dra. Eugenia del Carmen Lugo Cervantes.

Dra. Guadalupe María Guatemala Morales

M en C. Norma Morales Hernández.

Dr. Pedro Martín Mondragón Cortez.

Dr. Gustavo Adolfo Castillo Herrera.

Dr. Hugo Espinosa Andrews.

**Biotecnología Médica y Farmacéutica, CIATEJ, A.C.**

Oscar Miguel Bermejo Gallardo

Dra. Zaira Yunuen García Carvajal

**Unidad Noreste, CIATEJ, A.C.**

Dra. Angela Suárez Jacobo.

Dr. Eristeo García Márquez.

**Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.**

Dra. Ingrid Rodríguez-Buenfil

Dra. Neith Aracely Pacheco López.

Dra. María de los Ángeles Sánchez Contreras.

**Unidad de Servicios Analíticos y Metrológicos, CIATEJ, A.C.**

M en C. Evelin Martínez Benavidez.

**Posgrado en Ciencias en Innovación Biotecnológica, CIATEJ, A.C.**

IBT. Rosa Jarumy López Rivera.

M en C. Jorge Armando Jiménez Avalos.

M en C. Rogelio Rodríguez Rodríguez.

Rolando Guadalupe Ordaz Mendoza.

Alejandro Rodríguez Ávila.

## Contenido

LISTA DE AUTORES.....	III
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. TENSOACTIVOS Y LÍPIDOS .....	13
Introducción .....	13
Tensoactivos.....	14
Lípidos.....	16
Lípidos saponificables.....	17
Fosfolípidos.....	18
Lípidos insaponificables.....	20
Referencias.....	25
3. POLIELECTROLITOS.....	26
Introducción .....	26
Tipos de polielectrolitos.....	26
Propiedades .....	27
Obtención de polielectrolitos .....	29
Polielectrolitos sintéticos.....	29
Polielectrolitos naturales .....	30
Áreas de aplicación .....	31
Conclusión.....	32
Referencias.....	32
4. INTERACCIONES MOLECULARES.....	34
Introducción .....	34
Interacciones electrostáticas.....	34
Interacciones de van der Waals.....	36
Puente de hidrógeno.....	37
Interacciones entre biopolímeros.....	39
Interacciones intramoleculares.....	43
Referencias.....	43
5. EMULSIONES .....	46
Introducción .....	46
Tensioactivos.....	49
Emulsiones simples.....	51

Aplicación de emulsiones simples .....	52
Estabilidad de emulsiones .....	53
Determinación de tamaño y distribución de partícula.....	62
Formación controlada de micro-partículas y micro-sistemas desde el nivel molecular.....	66
Conclusiones .....	71
Referencias .....	72
<b>6. NANOEMULSIONES/EMULSIONES SUB-MICRÓNICAS: MÉTODOS DE ALTA ENERGÍA.</b> ....	<b>77</b>
Introducción .....	77
El sistema termodinámicamente inestable. ....	78
La estabilidad a través de los métodos “top-down” y “bottom-up” .....	80
Homogeneizadores a alta y ultra-alta presión. ....	80
Homogeneización por Ultrasonido.....	83
Referencias .....	85
<b>7. ENCAPSULACIÓN POR COACERVACIÓN COMPLEJA</b> .....	<b>90</b>
Introducción .....	90
Tipos de Coacervación.....	90
Microencapsulación de compuestos bioactivos .....	92
Conclusión.....	99
Agradecimiento .....	99
Referencias .....	99
<b>8. ELECTROESTIRADO: PRODUCCIÓN DE FIBRAS CON BIOPOLÍMEROS DE INTERÉS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.</b> ....	<b>103</b>
Introducción .....	103
Proceso de electroestirado.....	104
Parámetros importantes en el proceso.....	106
Parámetros de la solución.....	107
Parámetros de procesamiento.....	110
Parámetros ambientales.....	112
Caracterización de fibras.....	113
Biopolímeros de interés en la industria de alimentos usados en el proceso de electroestirado... ..	115
Aplicaciones de nanofibras .....	123
Conclusiones .....	124

Referencias .....	124
9. HIDROGELES .....	137
Introducción .....	137
Clasificación de hidrogeles .....	138
Formación de los hidrogeles .....	139
Aplicaciones de los hidrogeles .....	140
Micro y nanogeles .....	146
Referencias .....	150
10. INCLUSIÓN MOLECULAR .....	154
Introducción .....	154
Inclusión molecular .....	154
Aplicaciones .....	156
Referencias .....	162
11. LIPOSOMAS .....	164
Introducción .....	164
La estructura de los liposomas .....	165
Ventajas de los liposomas .....	166
Referencias .....	169
12. MICRO Y NANOPARTÍCULAS MEDIANTE LA RÁPIDA EXPANSIÓN DE SOLUCIONES SUPERCRÍTICAS (RESS) .....	171
Introducción .....	171
Micronización por RESS .....	173
Bibliografía .....	177
13. OLEOSOMAS .....	179
Introducción .....	179
Composición y origen .....	180
Métodos de obtención .....	182
Aplicaciones .....	183
Referencias .....	186
14. SECADO POR ASPERSIÓN .....	189
Introducción .....	189
Secado por aspersión .....	190
El secado por aspersión como método encapsulación de compuestos bioactivos .....	194

Conclusiones .....	197
Referencias .....	198
15. NANOSECADO POR ASPERSIÓN .....	200
Introducción .....	200
Aplicaciones de la tecnología.....	202
Conclusiones .....	206
Agradecimiento.....	207
Referencias.....	207
16. CRIOGENIA COMO ESTRATEGIA DE ENCAPSULACIÓN DE NUTRACÉUTICOS. 209	
Introducción .....	209
Proceso criogénico y liofilización.....	211
¿Por qué encapsular nutraceuticos mediante criogenia y para qué sería aplicado?.....	215
Conclusiones y perspectivas.....	218
Agradecimiento .....	218
Referencias .....	218
17. LOS PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA: GENERALIDADES, ACTIVIDADES Y USO DE LA NANOENCAPSULACIÓN PARA AUMENTAR SU BIODISPONIBILIDAD.....	222
Introducción .....	222
Generalidades.....	224
Bioactividades.....	225
Métodos de producción y separación de los péptidos bioactivos.....	230
Biodisponibilidad de los péptidos bioactivos.....	232
Nanoencapsulación de péptidos y proteínas con actividad biológica .....	234
Referencias.....	241
18. PROCESAMIENTO DE SÓLIDOS GRANULARES EN LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA Y ALIMENTARIA: FLUIDIZACIÓN Y FUENTEADO.....	250
Introducción .....	250
Regímenes de Fuenteado y Fluidización.....	254
El Lecho Fuente .....	256
El Lecho Fuente de Arriola (2007) .....	257
Los lechos fluidizado y los lechos fuente en la industria farmacéutica y alimentaria.....	259
Referencias.....	266

19. OPORTUNIDADES PARA EL DESARROLLO DE LOS NANOALIMENTOS EN MÉXICO .....	273
El mercado de los nanoalimentos.....	273
Procedimientos para la producción de nanoestructuras con aplicaciones en la cadena agroalimentaria.....	275
Aplicaciones de nanoestructuras en la agricultura .....	276
Procesamiento de alimentos .....	276
Envasado de alimentos .....	277
Áreas de oportunidad para los nanoalimentos.....	278
Retos para la vinculación academia-empresa.....	279
Referencias .....	282

# 1. INTRODUCCIÓN

**Eristeo García Márquez**  
**Unidad Noreste. CIATEJ, A.C.**  
**egarcia@ciatej.mx**

El libro que tiene entre sus manos, recopila los avances de procesos aplicados para la encapsulación de compuestos bioactivos. Igualmente estrategias que permiten prolongar estabilidad química y funcionalidad contenida en los principios bioactivos en nuestros alimentos. En este libro, que esperamos sea de importancia para el lector, reúne el esfuerzo de diferentes expertos en sus áreas de investigación. Los temas abordados son tecnologías para proteger sustancias altamente lábiles, debido a efectos del medio ambiente, por ejemplo, luz, oxígeno, pH, temperatura, entre otros. Esta revisión intenta brindar información reciente, e incluye temas que reflejan el uso de tecnologías para conservar o potenciar la dispersión de sustancias alimenticias. La información acumulada en este volumen consta de diecinueve capítulos. Se tratan temas tan diversos como: Tensioactivos y lípidos, Polielectrolitos, Interacciones moleculares, Emulsiones, Nanoemulsiones submicrónicas por métodos de alta energía, Encapsulación por coacervación compleja, Electroestirado: producción de fibras con biopolímeros de interés en la industria de alimentos, Hidrogeles, Inclusión molecular, Liposomas, Micro y nanopartículas mediante la rápida expansión de soluciones supercríticas (RESS), Oleosomas, Secado por aspersión, Nanosecado por aspersión, Criogénica como estrategia de encapsulación de nutraceuticos, Procesamiento de sólidos granulados en las industrias farmacéutica y alimentaria: fluidización y fuenteado, Los péptidos y proteínas con actividad biológica: generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Por supuesto, sin faltar las perspectiva en el desarrollo de nanoalimentos. Cada tema aborda, aplicaciones, propiedades fisicoquímicas, y perspectivas.

Los tensioactivos son empleados para estabilizar muchos productos (alimenticios, farmacéuticos, químicos, y cosméticos). Pero, debido al gran desarrollo de productos, solo se menciona la aplicación de tensioactivos en alimentos. La industria alimenticia, frecuentemente fabrica emulsiones, espumas y suspensiones, en forma de bebidas, helados, y aderezos, entre otros. La dispersión de principios bioactivos hidrofílicos e hidrófobos. Frecuentemente, la estabilidad de estos sistemas depende de la tensión interfacial entre ambos compuestos e ingredientes utilizados. Los tensioactivos son especialmente necesarios para estabilizar la estructura en los alimentos. Existe una amplia variedad de tensioactivos de bajo peso molecular. Por ejemplo, químicamente pueden dividirse en dos grupos; no iónicos y iónicos. Los lípidos son fuente nutricia. Es el combustible de mayor importancia después de la glucosa y, vehículo para dispersar sustancias insolubles en agua. Los lípidos, se dividen principalmente en cuatro grupos; grasas, lípidos, hormonas y esteroides. La diferencia entre grasas y lípidos, es que, las grasas son un conjunto molecular de lípidos. Tienen mayor peso molecular que aquellos lípidos sencillos. El peso molecular, modifica sus propiedades fisicoquímicas. En general, puede decirse que la grasa es el principal reservorio de energía, su hidrólisis proporciona ácidos grasos de fácil metabolismo. Los lípidos en forma de triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol, y tensioactivos naturales, o modificados químicamente tienen diferentes aplicaciones tanto a nivel biológico como industrial. Estos últimos, son aplicados para integrar diferentes proporciones de líquidos no miscibles. Especialmente, por su importancia biológica y, estabilización de muchos productos de uso común en el área doméstica como industrial. Desde luego, esta mínima introducción, es sólo un panorama general, para interesar al lector. La recopilación y experiencia del tema se expone en el capítulo dos de este volumen.

Los polímeros con pesos moleculares mayores de  $2 \cdot 10^5$  se denominan macromoléculas. Si, estas unidades monoméricas, tienen unidades repetidas y ionizadas, se les denomina policationes y polianiones. La naturaleza química, depende de la fuente, o método de preparación. Donde, la desolvatación en agua de polielectrolitos –efectos electrostáticos– es una propiedad ampliamente utilizada en la industria. Frecuentemente para microencapsular y liberar de forma controlada una considerable cantidad de ingredientes,

por ejemplo fitoquímicos, fármacos, vitaminas, lípidos y minerales como suplementos alimenticios. Las aplicaciones, son diversas en el caso de alimentos. Por ejemplo, la prolongación de sabor o enmascaramiento de aroma, control de efectos organolépticos, protección de ingredientes que químicamente son inestables durante el almacenamiento o durante su preparación. La aplicación de polielectrolitos permite prolongar el valor nutritivo de muchos ingredientes alimenticios. Tema, que es tratado en el capítulo tres de este volumen.

La textura en alimentos, requiere del conocimiento de interacción molecular. Las interacciones intermoleculares juegan un papel decisivo en el proceso de estructuración. Por lo tanto, el conocimiento entre las diferentes entidades moleculares es una solución en el proceso de alimentos. Diferentes estudios han demostrado que, el acomplejamiento de compuestos con diferente solubilidad, requiere de una interfase de interacción de estos. Donde la matriz que contiene los compuestos hidrofílicos y lipofílicos favorezca su interacción intermolecular, obteniendo la textura deseada. El consumo de este tipo de sistemas en forma de emulsiones, al pasar por el tracto gastrointestinal, con modificación de pH, y presencia de sales biliares, sufren cambios de estructura, permitiendo la liberación de los principios bioactivos. La interacción entre polisacárido–polisacárido, polisacárido–proteína y proteína–proteína son un ejemplo de interacción intermolecular. Tales interacciones asociativas entre las macromoléculas, forman redes capaces de proteger contra factores deteriorativos ambientales. Liberando controladamente los principios bioactivos y complejos de macromoléculas disociadas. Por tal motivo, las interacciones intermoleculares, son tratadas en el capítulo cuatro de este volumen, donde el autor, explica y reflexiona de manera sobria, los hechos contundentes al respecto.

Muchos productos alimenticios están basados en emulsiones. Por ejemplo, el helado, bebidas de fruta, el yogurt, la leche fortificada, crema, los aderezos, la mantequilla, entre otros. Las emulsiones son esa clase de productos que permiten obtener productos turbios y translucidos estables. La diversidad de ingredientes usados en estas, modifican las características fisicoquímicas, sensoriales y de textura, en productos alimenticios. La

estabilidad es el principal problema. La estabilidad ha sido estudiada ampliamente y se han observado múltiples mecanismos de desestabilización. La estabilidad ha sido la primera en determinarse. Por lo tanto, el capítulo escrito, no es un compendio, solo se mencionan definiciones y los mecanismos de inestabilidad, que en términos generales ayudaran a explicar la importancia de este tema. Por lo cual se ha incluido el capítulo cinco.

Muchos productos utilizados en la vida cotidiana, como los cosméticos, fármacos y alimentos, son el producto combinado de dos o más sustancias que no se mezclan, es decir emulsiones, fabricadas por métodos que involucran energía para su formación. Pero la necesidad de estos, ha promovido el desarrollo de tecnologías para obtenerlos. Por ejemplo, los productos para el cuidado personal, serían imposibles si no estuviese compuesta por una mínima cantidad de agua en mayor cantidad de aceite. La relación de aceite-agua produce una amplia gama de productos: desde aquellos que son translucidos hasta los que presentan turbidez. Las diferentes relaciones másicas, permite obtener, microemulsiones, nanoemulsiones y macroemulsiones. Estos productos son obtenidos por los diferentes equipos con los que se dispersan. La industria puede proveerse de mezcladores de alto corte, homogeneizadores, equipos de sonicación para estos propósitos. El tamaño de partícula, forma, distribución y relación de componentes, permite obtener productos emulsionados con diferentes aplicaciones. La tecnología de homogeneización ha permitido poner a la mano productos en muchas áreas, desde, domésticas hasta el área química. Quizá, este sea el motivo, para que diferentes formas de pensar tengan interés en el capítulo seis de este volumen.

La asociación entre dos o más polímeros debido al efecto de atracción electrostática equivalente, se denomina coacervación. Proceso que ocurre bajo condiciones específicas, tanto físicas como químicas. El rendimiento y propiedades fisicoquímicas dependen del equilibrio químico entre los polímeros asociados. Esta asociación polimérica, compleja, ha sido aplicada para encapsular compuestos de interés alimenticio. Esta asociación ha sido especialmente importante, porque logra formar sistemas estables a partir de compuestos inmiscibles. Logrando mantener en el seno complejo, compuestos susceptibles a temperatura, luz, oxígeno, y cambios de pH. Las asociaciones forman matrices capaces de

contener productos aplicados en la industria alimenticia. Este proceso de asociación ha sido preferido, sobre aquellos que usan energía para reducir el tamaño de partícula y obtener emulsiones. Quizá, una limitante sea el proceso de captura de compuestos insolubles, debido al proceso de saturación en los polímeros asociados. Pero, ha sido un proceso útil para obtener microcápsulas con diversos compuestos bioactivos. Este proceso, ha sido aplicado frecuentemente con alta eficiencia de encapsulación y productos con alta estabilidad. Pero, esta nota de introducción, solo intenta invitar al lector y, conocer los pormenores de coacervación compleja en el capítulo siete, que brinda información detallada.

El desarrollo de nuevos productos, ha propiciado la búsqueda de nuevas tecnologías como el electroestirado. Esta tecnología ha permitido adicionar diversos compuestos bioactivos, para preparar tejidos y películas inteligentes. Productos aplicados en la industria textil y biomédica. La tecnología de electroestirado, protege y distribuye de manera uniforme, dichos compuestos bioactivos. El área superficial, contenida en concentraciones mínimas de producto, los convierte en un acarreador preferente, para dosificar diversos productos, porque frecuentemente se fabrican en el orden nanométrico. Diversos polímeros naturales y sintéticos han sido utilizados para fabricar nanofibras. Polímeros naturales y sintéticos han sido usados para fabricar nanofibras, los polímeros, en forma de nanofibras, adquieren diversos grados de biodegradación y compatibilidad en sus aplicaciones finales. El electrohilado, ha sido una tecnología potencial para fabricar empaques y aditivos inteligentes con aplicación en alimentos. Pero, ésta introducción, solo tiene la intención de mostrar el esfuerzo del autor en este tema. Explicando con mayor detalle en el capítulo ocho.

La tecnología para obtener geles o hidrogeles, no es nueva, se ha datado que sus primeras aplicaciones, tienen al menos 3,500 años. Su principal aplicación al parecer fue cosmética. Pero, en los últimos 60 años, los hidrogeles han tenido diversas aplicaciones, por demás, impresionante. La industria alimenticia ha puesto a disposición del consumidor, por ejemplo, geles bebibles para deportistas de alto rendimiento, películas de gel para proteger enzimas digestivas, empaques para prolongar y conservar productos alimenticios, entre

otros. Los geles, son estructuras macroscópicas tridimensionales, fabricadas principalmente con polisacáridos. La concentración y relación de polisacáridos, pH, temperatura, fuerza iónica, y cantidad de agua, involucran el estado físico final, observándose líquidos consistentes, viscosos, semisólidos y sólidos con propiedades elásticas. Los hidrogeles, tienen amplia aplicación tecnológica, desde productos alimenticios convencionales hasta productos de ingeniería reconstructiva (implante de tejido). Esta tecnología es imprescindible en un volumen, donde se trata de aglutinar todos los temas para estabilizar y conservar compuestos bioactivos. Ello, ha motivado a explicar las bases, productos y aplicaciones de hidrogeles. Por eso, los autores disertan sus experiencias y recopilaciones en el capítulo nueve.

La inclusión molecular es una tecnología acarreadora, con las siguientes ventajas; aumenta la solubilidad de compuestos hidrófobos, forma soluciones translúcidas, mantiene la actividad del compuesto bioactivo entre moléculas huésped y hospedadora es estable, el complejo formado es altamente soluble en agua. Éstas son sólo algunas características que deben resaltarse de esta tecnología para prolongar la estabilidad de compuestos bioactivos. Flavonoides, compuestos fenólicos, ésteres, aldehídos y cetonas, incluidos en matrices poliméricas con geometrías altamente definidas. El producto formado tiene múltiples aplicaciones, por ejemplo, para impartir sabor, aroma y color, en productos alimenticios. Sin menospreciar, a aquellos productos de alto valor con aplicaciones médicas y cosméticas. Los compuestos fenólicos, han sido un tema de relevancia e interés, porque su consumo tiene una relación inversa contra la inflamación, y enfermedades degenerativas. Se sabe que el consumo frecuente de compuestos fenólicos reduce o previene la aparición de enfermedades hipertensivas. Además de sus propiedades anti-radicales, anti-envejecimiento, antioxidantes. Pero, la inestabilidad a efectos de luz, temperatura, oxígeno, baja solubilidad en agua y disponibilidad, requiere de protección. La tecnología de inclusión molecular es una alternativa para potenciar las propiedades ya mencionadas. Por tal motivo, pensamos que es un tema imprescindible, y el autor ha contribuido con el capítulo diez de este volumen.

Los liposomas se pueden definir como vesículas delimitadas por una o más capas o bicapas lipídicas. Fabricadas, principalmente a partir de fosfolípidos. Los liposomas, son una herramienta útil para administrar compuestos bioactivos, en sitios específicos. Sus principales ventajas son, por ejemplo; incremento en la eficacia de principios bioactivos, incremento en la estabilidad por encapsulación de compuestos bioactivos, atóxicos, biocompatible, biodegradable, deformables, y permiten la liberación controlada. La fabricación de liposomas en el orden nanométrico y micrométrico, permite una amplia aplicación, principalmente en los diversos campos científicos e industriales. La tecnología de liposomas ha sido usada para estabilizar, administrar y prolongar la estabilidad de drogas, compuestos anti-envejecimiento, y compuestos antioxidantes. Recientemente, el progreso de formulación de liposomas y administración de compuestos a nivel intracelular y mitocondrial, son un ejemplo de liberación de drogas de forma controlada. Esta última, para combatir diferentes tipos de cáncer, tanto a nivel de modelos animales como a nivel preclínico. En la industria cosmética, los liposomas, han sido utilizados como sistemas acarreadores de compuestos químicos para liberación tópica y controlada, para potenciar la humectación de piel. En la industria alimenticia ha explorado ésta tecnología para incorporar componentes lipo e hidrofílicos entre capas bi-lipídicas, como medios encapsulantes de antioxidantes, vitaminas, sabores, y antimicrobianos. Esta breve descripción de liposomas, es tardado en el capítulo once de este volumen, en el cual, el autor, detalla con interés.

La fabricación de micro y nanopartículas por medio de expansión rápida de fluidos supercríticos (ERFS, acrónimo en inglés), ha sido una opción para potenciar la solubilidad y reducir la degradación de compuestos termosensibles. Las aplicaciones prácticas de ésta tecnología ha sido empleada para estabilizar colorantes naturales (carotenos, bixina) y flavonoides. Sustancias de interés alimenticio, farmacéutico y cosmético. La reducción de tamaño de partícula y/o encapsulación, ha sido usada con éxito para resolver las desventajas mencionadas. La ERFS comúnmente se desarrolla a temperatura moderada y presiones, relativamente altas, para lograr la solubilización en cosolventes adecuados, y controlar el tamaño de partícula. La temperatura y presión del CO<sub>2</sub> en estado supercrítico, evita la degradación de éstas. El CO<sub>2</sub>, puede removerse fácilmente, no es tóxico, no reacciona con

los productos que solubiliza, y no es inflamable, por lo que es seguro, a diferencia de disolventes empleados en procesos tradicionales. En el proceso de ERFS, frecuentemente se utilizan tensioactivos para estabilizar estéricamente las partículas producidas. Los tensioactivos, impiden el crecimiento y aglomeración de partículas, potenciando su fácil disolución. Pero, las ventajas y desventajas de esta tecnología, se describen con mayor detalle en el capítulo doce de este volumen.

Los oleosomas son vesículas que contienen triglicéridos y vitaminas, almacenados en una bicapa de proteínas, y fosfolípidos. Las proteínas que forman la parte estructural limitante se denominan oleosinas. Estos orgánulos esféricos especializados, contenidos frecuentemente en las células eucariotas, almacenan lípidos como una reserva y, se movilizan durante el metabolismo activo. Desde el punto de vista práctico, los oleosomas, son útiles en todos aquellos productos que en su manufactura, contengan emulsiones. Una aplicación sobresaliente, son los cosméticos con compuestos antioxidantes anti-envejecimiento. Los oleosomas se encuentran en tejidos vegetales, con diámetro aproximado entre 1 a 3  $\mu\text{m}$ . En forma aislada son sistemas elásticos y su forma depende del medio ambiente donde se encuentren. El tamaño de estos cuerpos de aceite especializados, forman una emulsión natural, que dependiendo de la fuente tienen influencia importante en el tamaño de partícula. Variando en el nivel de turbidez. La estabilidad, se atribuye a la formación de la bicapa lipídica constituida por fosfolípidos. Los oleosomas han sido propuestos en la manufactura de productos. Principalmente como acarreadores de vitaminas hidrosolubles y liposolubles, porque son altamente estables a procesos oxidativos. Se ha reportado que la estabilidad de oleosomas es superior, comparada con emulsiones preparadas con otros tensioactivos sintéticos. Estas ventajas convierte a los oleosomas, en un tema de interés, por lo cual, se incluye un capítulo trece, donde se trata este tema al detalle.

El manejo de líquidos, evidentemente es práctico, y puede distribuirse fácilmente, especialmente fluidos alimenticios. Pero, durante el transporte y almacenamiento, significa costo y espacio. Una forma de evitarlo, es utilizando la tecnología de secado por aspersión, para reducir el volumen. Proceso que ha sido aplicado exitosamente, para encapsular

sabores, aceites esenciales, colorantes naturales y facilitar la manipulación. Durante la evaporación del disolvente, que frecuentemente es agua, el compuesto de interés, queda atrapado rápidamente, por una sustancia comúnmente inerte que lo protege contra los procesos de degradación. La mayoría de compuestos y, especialmente aquellos lipófilos, previamente, deben prepararse en una emulsión. El proceso de microencapsulación provee de una barrera física alrededor del núcleo del compuesto, una película externa o capa homogénea alrededor del mismo. Entre las principales ventajas, se puede decir que, se reduce la reactividad del compuesto de interés con los factores ambientales, se controla la masa de compuesto activo en el núcleo y se evita la evaporación, promueve fácil manejo, se controla la liberación del producto contenido en el núcleo, se enmascara sabores desagradables como los ácidos grasos derivados de pescado y, se requieren cantidades mínimas para igualar la cantidad de sólidos, similar al producto inicial y potenciando la solubilidad. Por supuesto que, la tecnología de secado por aspersión, ha sido preferida en muchas aplicaciones industriales por su bajo costo, cuando se compara con otras tecnologías, principalmente en el área de alimentos. Lo anterior, motivó al autor, incluir un capítulo, para explicar la tecnología de secado por aspersión, el cual se incluye en el lugar catorce.

En términos prácticos, desde hace cien años, la reducción de volumen, se convirtió en uno de los métodos elegidos para atomizar productos líquidos. Pero, la distribución de tamaño de partícula de orden micrométrico y, el problema de humedad, reduce la dispersión e integración rápida de productos atomizados. La introducción de membranas selectivas en cilindro del secador, reduce contundentemente el tamaño de partícula obteniendo productos de tamaño nanométrico con una distribución uniforme. El proceso es conocido como nanosecado por aspersión. Otro cambio importante, en este proceso fue la temperatura. Los procesos de nanosecado no superan 120°C. Pero este punto crítico es dependiente de otros procesos, la homogeneización, top-down o bottom-up. La aplicación de este proceso es de creciente interés, especialmente, en el campo de compuestos bioactivos con aplicaciones en muchas áreas de ciencias biológicas. Por ello, ha sido incluido el capítulo quince, que explica de manera amena, este tema que, sin duda es relevante en los procesos para obtener nanopartículas con dimensiones menores al 500 nm.

Las tecnologías para aislar, purificar, reducir tamaño de partícula, realizar modificación estructural o potenciar la solubilidad por métodos tradicionales, tiene como desventaja el decremento de actividad, en muchos productos bioactivos o drogas altamente específicas. Es decir, son sustancias altamente sensibles. Requieren de una técnica amigable para modificar su estructura y potenciar su obtención, estabilización, solubilidad y reducir el uso de solventes. Se ha reportado que la tecnología de secado por congelación y aspersion a presión atmosférica es una solución al problema de bioactivos altamente sensibles a factores ambientales. Esta tecnología reduce el tamaño de partícula, aumenta el área superficial y solubilidad de compuestos, por lo tanto, la tecnología criogénica puede ser una solución al problema de estabilidad de compuestos lábiles. Recientemente se ha reportado que los procesos nanotecnológicos, controlan el tamaño de partícula, aumentan la solubilidad, la absorción y biodisponibilidad de compuestos bioactivos, cuando el tamaño de partícula sea menor a 50 nm. En muchos casos, para obtener las propiedades mencionadas, se ha aplicado la combinación de diferentes procesos. Incluyendo la utilización de disolventes hidrófilos compatibles e incompatibles para preparar dispersiones sólidas solubles, en conjunto con la criogenia. Pero, no queremos distraer demasiado al lector, para ello, se ha escrito el capítulo dieciséis donde el autor lo explica a detalle.

El consumo de alimentos en relaciones y proporciones adecuadas proporciona todos los nutrientes necesarios, y tienen efecto en el bienestar y salud en los consumidores. Bajo este principio, se ha mencionado que existe un “aporte nutricional adecuado”. Pero, cuando un alimento va más allá del aporte nutricional y contiene uno o más ingredientes específicos, y cumple una función específica, por ejemplo prevenir enfermedades crónico degenerativas, se les ha llamado “alimentos funcionales”. Los ingredientes frecuentemente mencionados, pueden ser fibra soluble e insoluble, péptidos bioactivos, proteínas, compuestos fenólicos, prebióticos individuales o combinación de estos. Cada ingrediente cumple una función específica. Las proteínas individuales o en conjunto con los polisacáridos forman la estructura celular y tejidos. Es decir, son la base durante el desarrollo, mantenimiento y reparación de tejidos. Las proteínas son también importantes en las propiedades fisicoquímicas y de textura. Pero, en los últimos años se ha mencionado que los

ingredientes mencionados, deben entregarse en forma protegida. Es decir, en forma de micro o nanopartículas para lograr mayor absorción logren su objetivo, prevenir enfermedades. Este prólogo al capítulo diecisiete, solo tiene la intención mencionar la importancia de péptidos y proteínas con actividad biológica.

El desarrollo de micro y nano-bolsas herméticas, llamadas cápsulas, facilitan el manejo, enmascaran o mejoran el sabor, aroma y color de muchos productos alimenticios. Buscando reducir el costo de producción en muchas áreas industriales. El proceso de fluidización de partículas semisólidas o sólidas suspendidas en una cámara, a humedad y temperatura controladas, por medio de un fluido, que frecuentemente, es aire a alta velocidad, las partículas, son recubiertas con una matriz protectora. También, ha sido un método de elección para proteger muchos compuestos bioactivos. Especialmente, sustancias de interés farmacéutico y después compuestos bioactivos nutricios. Por ejemplo para aislar minerales de vitaminas, en productos multivitamínicos y alimentos fortificados, es frecuente el proceso de encapsulación por el método de fluidización. Diversos cambios tecnológicos, han modificado al proceso de fluidización para hacer mayormente eficiente el proceso. Pero, ésta introducción, sólo trata de describir su importancia y para no dejar de mencionar este proceso tan importante, el autor ha de adentrarse detalladamente en el capítulo dieciocho.

Es evidente que el desarrollo de tecnologías, se ha centrado en dos principios fundamentales. El primero es conservar las características organolépticas y el segundo, la actividad de principios bioactivos adicionado en alimentos. Ambas características, se mantienen si se evita el deterioro de los alimentos. Muchos vehículos y procedimientos han sido usados. Desde vehículos emulsionantes, matrices para protección. Igualmente, diferentes tecnologías, han puestas en práctica a nivel experimental e industrial, pero todas, de alguna forma tienen interacción química para su estabilización, para prolongar la vida de anaquel.

Cuando las características organolépticas son suficientemente logradas, la ingesta de alimento, sacia el apetito, y se cumple con la falta de energía que proporcionan los alimentos. Mientras que, los productos nutritivos cumplen su función si logran entregar,

macronutrientes y micronutrientes, responsables del beneficio fisiológico. Cuando se cumple con el estado fisiológico, macroscópicamente se manifiesta en bienestar en la salud.

Pero, recientes hipótesis se han centrado en la identificación de compuestos biológicamente activos, para mejorar el bienestar de la salud y reducir el riesgo de enfermedades crónico degenerativas. A través del consumo de cantidades específicas de fitoquímicos, en conjunto con macronutrientes. También, se sabe que moléculas biológicamente activas derivadas de fuentes naturales, actúan en rutas específicas del metabolismo, modulan, y atenúan el exceso de radicales libres. Aun así, las moléculas involucradas, deben poseer estabilidad fisicoquímica, absorción y biodisponibilidad para asegurar el efecto biológico deseado. Estas propiedades pueden lograrse a través de procesos nanotecnológicos, donde el autoensamble permite autoensamblar bioactivos específicos. Como ha mencionado, en ésta introducción, solo se trata de involucrar al lector, o animarlo a leer el capítulo diecinueve, el cual contiene la información mínima necesaria y dará cuenta de los avances de esta disciplina.

## 2.TENSOACTIVOS Y LÍPIDOS

**Alba Adriana Vallejo Cardona**

**Catedrática CONACYT-CIATEJ, A.C.**

[avallejo@ciatej.mx](mailto:avallejo@ciatej.mx)

### **Introducción**

El tema de los fosfolípidos y tensoactivos, puede abordarse desde el entendimiento del significado del término anfipático. El término anfipático es aplicado a las moléculas que tienen una cabeza polar unida a una larga cola hidrófoba, el término también se puede mencionar con su sinónimo anfifílico o anfífilo. De acuerdo a las definiciones molécula anfipática, se puede relacionar la parte de la molécula polar (soluble en agua) y la parte de la molécula no polar (insoluble en agua) con la definición de las regiones llamadas hidrofóbicas e hidrofílicas. Existe una gran diversidad de biomoléculas anfifílicas, como los son: los fosfolípidos, el colesterol, los glicolípidos, los ácidos grasos, el ácido biliar (tensoactivo), las saponinas, los fosfolípidos, entre otros.

De acuerdo a la región de la molécula anfipática, la cadena hidrófoba o hidrofóbica, perteneciente a la molécula anfipática, es una molécula apolar de carbonos e hidrógenos, de cadena acíclica o alifática saturada o insaturada, dentro de esta cadena pueden existir también compuestos cíclicos. La cadena hidrófoba es una cadena apolar, es decir que es una molécula que posee igual electronegatividad la unión de sus átomos (enlace), y por ende las fuerzas de atracción de los electrones existentes en el enlace son iguales y por ello las sustancias apolares no se disuelven en el agua a pesar de ser líquidas. Mientras que la cabeza hidrofílica está compuesta por una molécula polar, y esto sucede porque uno de sus extremos está cargado positivamente y el otro negativamente, por lo que es altamente soluble en los solventes polares, como lo es el agua, debido a que se establecen puentes moleculares entre las partículas del disolvente y del soluto.

## Tensoactivos

Las moléculas anfífilas forman algunas estructuras dentro del agua y esto se debe a la región hidrofóbica e hidrofílica que conforma la molécula. Cuando la estructura solo tiene una cadena apolar, el comportamiento de la molécula va a depender de su concentración dentro del solvente (agua), es decir que existe una concentración para cada tipo de estructura que formará la molécula anfífilica como se aprecia en la Fig. 1, donde se describen en un diagrama de fase las estructuras en función a su concentración del tensoactivo y el comportamiento del tensoactivo en la interfase del aceite en agua (Marques y Silva, 2013). En la misma figura 1 del lado izquierdo, se muestra la interacción de tensoactivo en la superficie del agua durante el incremento de concentración del tensoactivo, lo que favorece el cambio de la tensión superficial en superficie del agua, este fenómeno se favorece conforme se incrementa la formación de la capa anfífilica en la interfase agua-aire. Si el incremento de la concentración aumenta, se favorece la formación de estructuras micelares, siendo el punto crítico para formar estas estructuras, la concentración micelar crítica (CMC) la cual es diferente para cada tensoactivo.

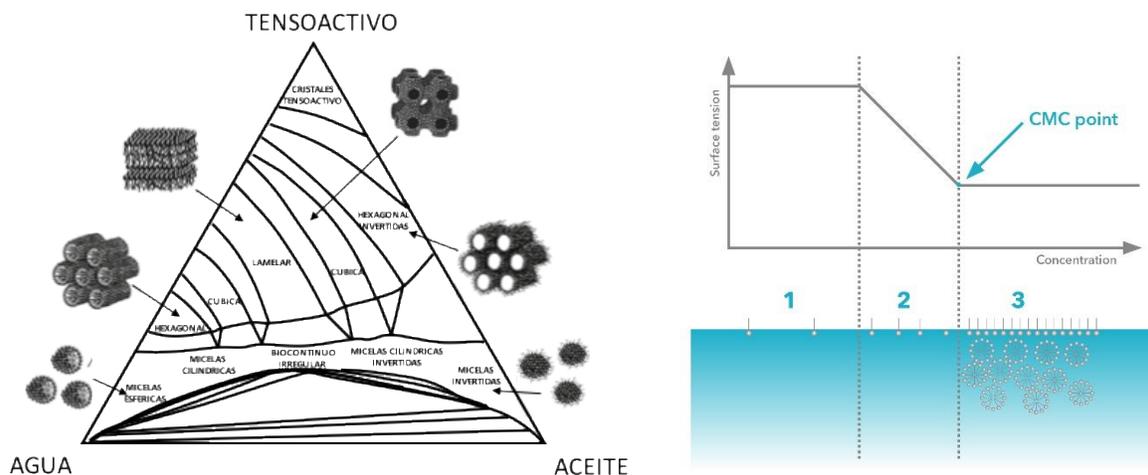


Fig. 1 Esquemas de diagramas de la formación de estructuras micelares, dependientes de la concentración.

Los tensoactivos, que de acuerdo al diccionario de la Real Academia Española es el adjetivo químico del término surfactante, están clasificados de acuerdo a la disociación que tiene la molécula en el agua: surfactantes aniónicos, no iónicos, catiónicos, anfóteros

(aniónico y catiónico), poliméricos y acetilénicos. Y su origen, puede ser natural, como lo son los provenientes de aceites y grasas naturales o los provenientes de extractos de madera, plantas o frutos; y los sintéticos, provenientes del petróleo, como lo son los provenientes de las olefinas, parafinas y alquilatos lineales, así como de algunos compuestos aromáticos con cadenas alifáticas (Salager, 2002). En la tabla 1 se nombran algunos surfactantes utilizados en el área de alimentos, esta lista puede encontrarse con un mayor número de compuestos en la página: <http://www.aditivos-alimentarios.com/p/listado-de-aditivos.html>

Tabla 1. Emulsificantes utilizados en el área de alimentos

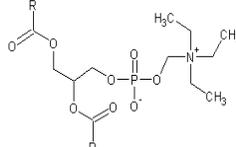
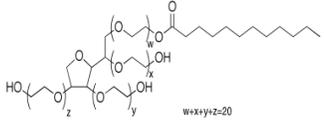
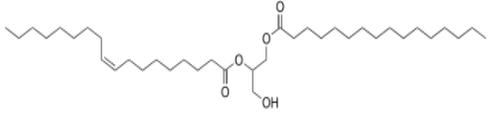
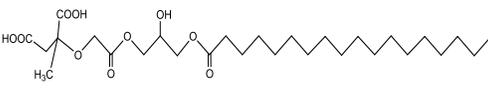
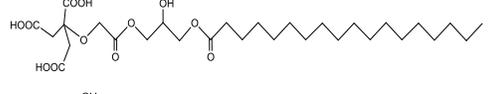
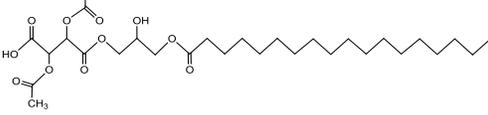
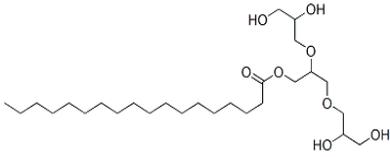
Nombre (surfactante/Emulsificante)	Nombre en código	E-número	Estructura química
Lecitinas	Lecitinas	E 322	
Polioxietilen sorbitan éster	Polisorbato/Tweens	E432-436	
Mono y di-glicéridos de ácidos grasos	MDG (mono di-glicéridos)	E472	
Esteres de ácido acético de MDG	ACETEM	E 472 <sup>a</sup>	
Esteres de ácido láctico de MDG	LACTEM	E 475b	
Esteres de ácido cítrico de MDG	CITREM	E 475c	
Esteres de ácido mono y di-acetil tartárico de MDG	DATEM	E 475e	
Esteres poliglicéridos de ácidos grasos.	Esteres de poliglicerol	E 475	

Tabla 1 (continuación)

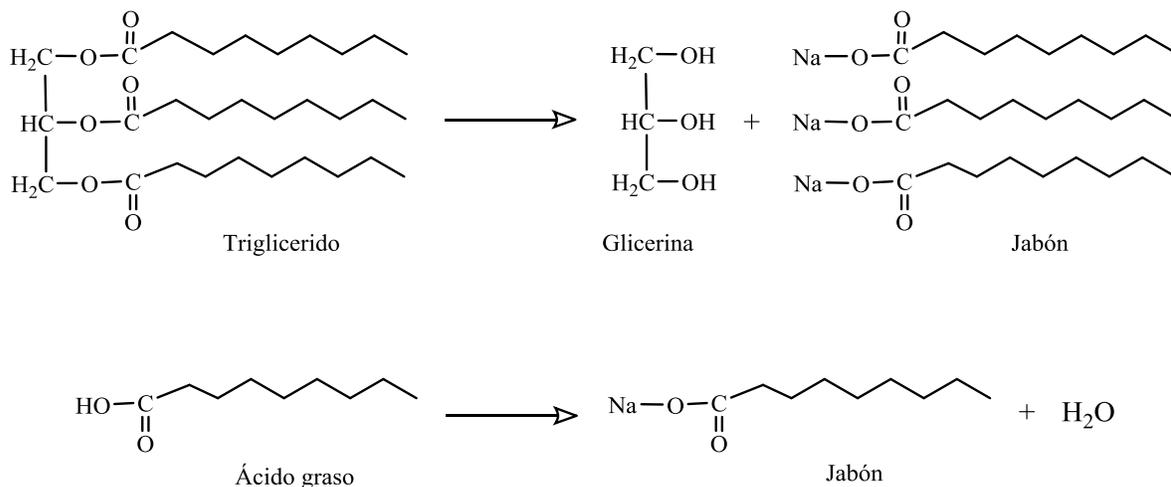
Nombre (surfactante/Emulsificante)	Nombre en código	E-número	Estructura química
Polirricinoleato de poliglicerol	PGPR	E 476	
Esteres de propano-1,2-diol de ácido graso	Esteres propilenglicol	de E 477	
Esteroil-2-lactilato de sodio	SSL	E 481	
Esteroil-2-lactilato de calcio	CSL	E 482	
Esteres de sorbitán de ácido graso	SPANS	E491-495	

## Lípidos

Por otro lado, las moléculas anfifílicas que contienen en su estructura dos o tres cadenas apolares se les conoce como moléculas lipídicas, las cuales sus estructuras están definidos tanto por la concentración como por el tipo de cadenas que está conformada la molécula. En término general los lípidos se clasifican en lípidos saponificables e insaponificables (Valenzuela B. And Sanhueva C. 2002)

## Lípidos saponificables

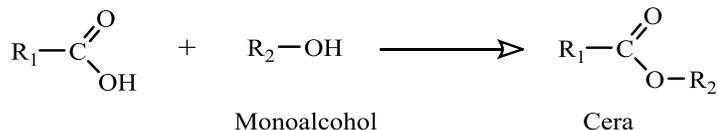
Los lípidos saponificables tienen la capacidad de reaccionar con las moléculas alcalinas para formar una sal sódica (jabón) y glicerina o agua, dependiendo del lípido saponificado (Reacc. 1).



Reacción 1. Reacción de saponificación de lípidos

Los lípidos saponificables se subdividen en simples y complejos, siendo lípidos saponificables simples las grasas, que son las estructuras neutras, compuestas de un esqueleto de glicerol y de una o hasta tres estructuras de ácidos grasos (monoésteres, diésteres o triésteres). El estado agregado de las grasas depende de la composición de sus ácidos grasos y de las insaturaciones de la cadena carbonada, así es que el estado agregado de las grasas puede estar en fase gel o líquido cristalino. Este estado agregado se relaciona muchas veces con el estado físico de las grasas, como lo es el estado líquido, presente en aceites, cremas semilíquidas, plásticas como la manteca y mantequillas; y sólidas, conocidas como sebos. Y las ceras que también están dentro de los lípidos saponificables simples, estas se componen de ésteres, hidrocarburos de cadena larga, cetonas, terpenoides, etc., cuya propiedad interesante es que sus puntos de fusión oscilan entre 40 a 100°C y no son solubles. La cera es producto de la esterificación de un ácido graso con un alcohol monohidroxílico de cadena larga (de 16 a 30 átomos de carbono) (Reacc.2). Algunos ejemplos de ceras, encontramos a la lanolina (mezcla de esteroles y ésteres de ácidos grasos de entre 7 y 40 átomos de carbono), el cerumen del conducto auditivo (mezclas de

secreciones de las glándulas sebáceas, y productos finales como el escualeno, el lanosterol y el colesterol entre otros), la cera de las abejas (palmitato de mirícilo).



Reacción 2. Reacción de esterificación para obtener ceras

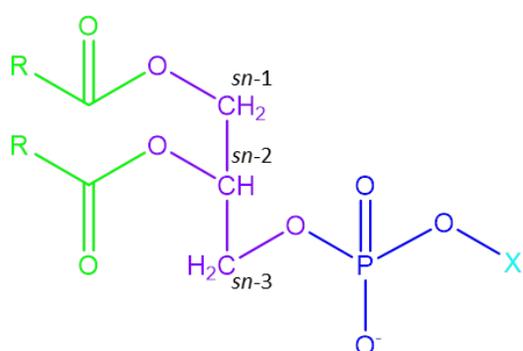
## Fosfolípidos

Dentro de la clasificación de lípidos saponificables complejos, se encuentran los fosfoglicéridos: fosfolípidos, glicolípidos, sulfolípidos y esfingolípidos, todos ellos compuestos estructuralmente de un esqueleto glicerol, dos cadenas de grupos acilios provenientes de ácidos grasos saturados o insaturados, en posición *sn*-2 y *sn*-3 del glicerol, y el grupo funcional como el fosfato, los grupos glucósidos y el grupo sulfonilo en posición *sn*-1 o el grupo amino en posición *sn*-2 (Fig. 1). Estas estructuras se encuentran generalmente en la membrana celular y se les clasifica como lípidos polares estructurales (Meza *et al.* 2010)

Fosfoglicéridos	Fórmula
Fosfolípidos	
glicerofosfolípidos	
sulfolípidos	
esfingolípidos	

Fig. 1 Clasificación de los fosfoglicéridos, constituidos por el cuerpo del grupo glicerol (cadena carbonada en morado), dos grupos acilios (cadenas en verde) y el grupo funcional (azul y cian).

Cabe mencionar que los fosfolípidos están clasificados de acuerdo al grupo funcional que se encuentra a la cabeza del grupo fosfato, los cuales confieren propiedades específicas a los fosfolípidos, así como las cadenas acílicas saturadas o insaturadas presentes, confieren a la molécula propiedades de fluidez que se reflejan en las estructuras complejas tridimensionales que forman en estado agregado los lípidos. Los grupos funcionales de los fosfolípidos están mencionados en la tabla de la figura 2.



Nombre del Fosfolípido	Grupo en la cabeza del fosfato (X) <i>sn</i> -3
Ac. fosfático	—H
Fosfatidilcolina	—H <sub>2</sub> C—CH <sub>2</sub> —N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
Fosfatidiletanolamina	—H <sub>2</sub> C—CH <sub>2</sub> —H <sub>3</sub> N <sup>+</sup>
Fosfatidilserina	—H <sub>2</sub> C—CH(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )—COO <sup>-</sup>
Fosfatidilinositol	HO—CH <sub>2</sub> —(CHOH) <sub>4</sub> —CH <sub>2</sub> —OH
Fosfatidilglicerol	—H <sub>2</sub> C—CH(OH)—CH <sub>2</sub> —OH

Fig. 2 Fosfolípidos, lípido dependiente del grupo (X) y de la longitud de las cadenas del grupo acilo (R). Cadena del glicerol (morado), cadenas acílicas (verde), grupo fosfato (azul), grupo funcional X (cian)

Otros lípidos que pertenecen a otros lípidos complejos estructurales son los glicolípidos, cuya estructura central es la esfingosina, característica de los esfingolípidos y del cual se sustituye al grupo fosfato con un mono u oligosacárido. La figura 3 muestra los compuestos del grupo de los glicolípidos.

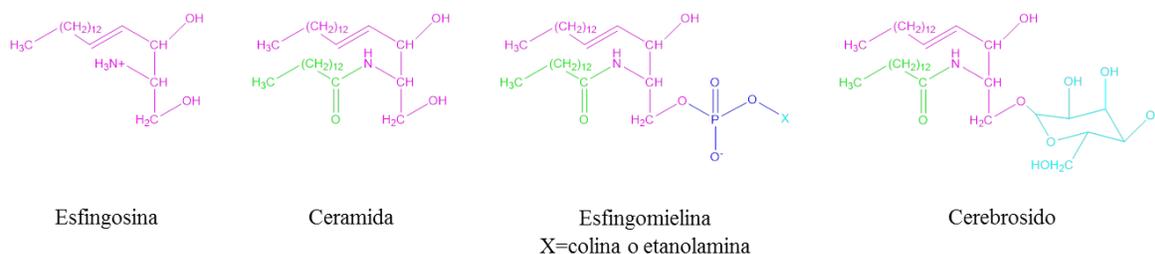
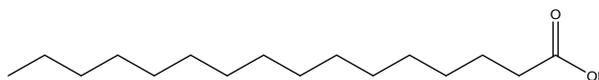


Fig. 3 Glicolípidos, constituidos de la esfingosina (magenta), un grupo acílo (verde) y el grupo variable de fosfocolina o fosfoetanolamina (azul) y mono u oligosacárido (cian)

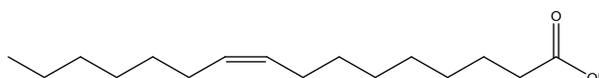
## Lípidos insaponificables

En cuanto a los lípidos insaponificables (no esterificados, ni amidados) se encuentran los lípidos que no contienen al grupo glicerol, dentro de los cuales están considerados los ácidos grasos, los terpenos, los esteroides y los eicosanoides, también son clasificados como lípidos neutros, no polares (hidrófobos). Los ácidos grasos, son estructuras constituidas por cadenas hidrocarbonadas saturadas e insaturadas, ejemplo.

C16:0 Ácido palmítico

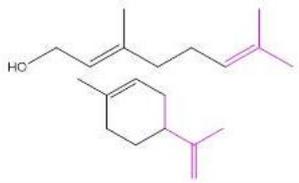
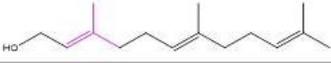
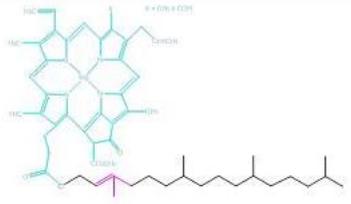
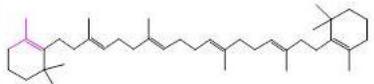
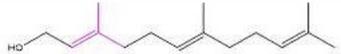


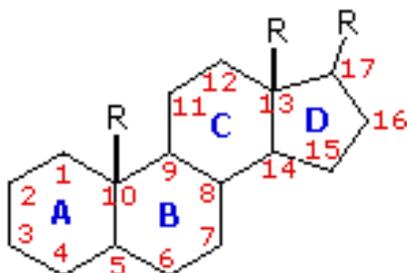
C16:7 Ácido palmitoleico



Los terpenos, son estructuras químicas que están constituidas por una unidad de isopropeno, estos actúan como antioxidantes protegiendo del ataque de radicales libres de especies del oxígeno a los lípidos, la sangre, entre otros fluidos corporales. Los terpenos desprenden olores característicos, debido a liberación como compuesto volátil, forman pigmentos, actúan como vitaminas y son intermediarios en la formación del colesterol (Edgar VC. 2003). Unos ejemplos de la amplia diversidad de moléculas isoprenoides se pueden nombrar a continuación:  $\alpha$ -pineno, humileno, paclitaxel,  $\beta$ -caroteno (vitamina A), ubiquinona (coenzima Q), colesterol, entre otras. En la tabla 1 se dan algunas estructuras químicas de los terpenos

Tabla 1 Clasificación terpenos, constituidos por la unidad repetitiva del isopreno (unidad en rosa), que en el caso del látex, es la unidad que se repite n veces

Nombre del Terpeno	No. de isoprenos que componen la molécula	Función	Ejemplo	Estructura
Monoprenos	2	Aromas y esencias de plantas	Geraniol limoneno	
Sesquiterpenos	3	Intermediario en la síntesis del colesterol, actúan como compuestos antibióticos y repelentes	Farnesol	
Diterpenos	4	Forman pigmentos y vitaminas las cuales son necesarias para el crecimiento y desarrollo de los huesos, mantenimiento y reparación de las células mucosas, epitelios, piel, visión, uñas, cabellos y dientes entre otras funciones.	Fitol (clorofila), vitamina A, E, K	
Triterpenos	6	Intermediario en la síntesis del colesterol	Escualeno: origina todos los esteroides	
Tetraterpenos	8	Pigmentos vegetales	Carotenos y xantofilas	
Politerpenos	n	Aislantes	Látex, caucho	



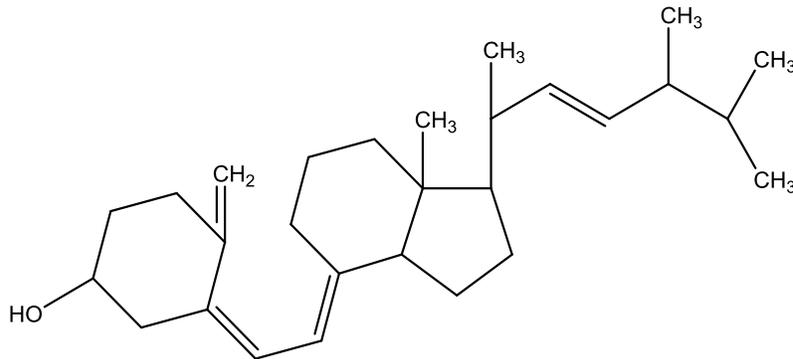
Los Esteroides son moléculas lipídicas que derivan del ciclohexano perhidrofentreno, denominado gonano (antiguamente esterano). Su estructura la forman cuatro anillos de carbono (A, B, C y D). Los esteroides se diferencian entre por el número y localización de los sustituyentes.

Se conforma de un esqueleto tetracíclico de los esteroides que consiste en tres anillos fusionados de 6 carbonos y uno de cinco carbonos. R, a menudo corresponden a sustituyentes de grupos alquilo y el sustituyente en C-17 es el que varía considerablemente en comparación a las otras R.

Los esteroides más representativos son:

**Esteroles.** Todos ellos derivados del colesterol y son biológicamente, los de mayor interés debido a que forman parte de las membranas biológicas y es un precursor de casi

todos los demás esteroides. Otro esteroide importante es el grupo de la vitamina D o calciferol, imprescindible en la absorción intestinal del calcio y su metabolización.

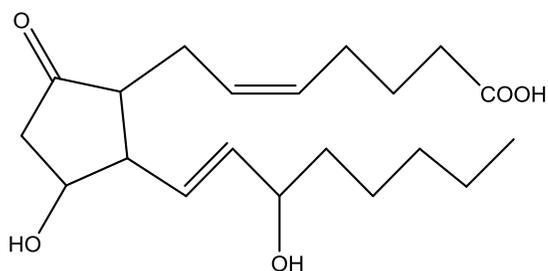


Vitamina D (calciferol)

**Ácidos biliares.** Derivan de los ácidos cólico y quenodesoxicólico (ácidos biliares primarios), desoxicólico y litocólico (ácidos biliares secundarios), y estos se conjugan con sales biliares (glicina o taurina entre otras), las cuales son moléculas anfipáticas que forman micelas y emulsionan las grasas, por lo que favorecen su digestión y absorción intestinal.

**Hormonas esteroideas.** Incluyen las de la corteza suprarrenal, que estimulan la síntesis del glucógeno y la degradación de grasas y proteínas (cortisol) y las que regulan la excreción de agua y sales minerales por las nefronas del riñón (aldosterona). También son de la misma naturaleza las hormonas sexuales masculinas y femeninas (andrógenos como la testosterona, estrógenos y progesterona) que controla la maduración sexual, comportamiento y capacidad reproductora. En la tabla 2, los esteroides se describen de acuerdo a su función, y se ejemplifica cada una de las divisiones.

Por último, tenemos los eicosanoides, estos son moléculas con actividad hormonal de tipo paracrina que tienen como precursor común el ácido araquidónico (C<sub>20</sub>:<sub>4</sub>), son moléculas hidrófobas y no requieren de transportador, no se almacenan, ya que su estabilidad es baja y por ello actúan en un nivel local, actúan sobre receptores de superficie de membrana. Existen dos grupos de eicosanoides, dependientes de la ruta de síntesis: las prostaglandinas y tromboxanos de la ruta de la ciclooxigenasa y los leucotrienos y lipoxinas, productos de la ruta de la lipooxigenasa.



Prostaglandina, PGE2

Su función es amplia, ya que intervienen en procesos alérgicos e inflamatorios, así mismo provocan la contracción del musculo liso, como ejemplo en la menstruación y en el parto, por ello se dice que existen eicosanoides buenos y malos, debido a que favorecen o reprimen diferentes funciones bioquímicas dentro de las rutas metabólicas de manera positiva o negativa, por lo que estas moléculas tienden a estar en equilibrio.

Tabla 2 Clasificación de esteroides

Nombre del Esteroide	Función	Ejemplo	Estructura
Esteroles	Componente esencial de la membrana y forman parte del cuerpo de muchas de las hormonas.	Colesterol	
Ácidos Biliares	Tienen acción de detergente para fragmentar las grasas. Así como ayuda a la absorción de ácidos grasos, monoglicéridos, colesterol y lípidos.		
Hormonas esteroideas	Corticosteroides	Cortisona	
	Andrógenos	Progesterona	
		Testosterona	

Aunque estos compuestos funcionan como señales químicas, difieren de las hormonas en dos aspectos importantes, el primero es que se sintetizan prácticamente en todos los tejidos y no en la glándula endocrina y segundo es que son moléculas químicamente inestables.

Los compuestos químicos considerados emulsificantes o lipídicos, que tienen estructuras químicas con características anfífilas o anfipáticas, solubles o insolubles en agua, saponificables o no, son consideradas como acarreadores de moléculas activas hidrosolubles o liposolubles. Así mismo, también pueden ser utilizadas para fluidificar compuestos altamente viscosos.

En el área de alimentos es factible utilizar diferentes moléculas de tensoactivos o lípidos, los cuales son evaluados de acuerdo a las normas de la FAO o por otras organizaciones similares, en donde se emiten recomendaciones de uso para los diferentes compuestos químicos, algunas de estas recomendaciones emitidas en el 2016, pueden leerse en el resumen y conclusiones de la 82a. sesión conjunta de las organizaciones: *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) y *World Health Organization* (WHO) dentro este informe se encuentra una lista de aditivos evaluados que se consideran para ser utilizados dentro del área de alimentos, el contenido de este documentos puede ser útil para conocer la viabilidad del uso de ciertos tensoactivos y lípidos dentro del área de alimentos. <http://www.fao.org/documents/card/en/c/43707867-e0b1-45fc-9537-e60af9249e72/>

Por lo tanto el uso de estas moléculas anfífilas pueden ser utilizadas dentro del área de alimentos considerando tanto sus propiedades químicas como físicas estructurales, como lo menciona Sagalowicz en el artículo donde estudio el autoensamble de los compuestos de fosfolípidos y monoglicéridos que pueden ser incorporados en productos alimenticios y la ventaja química que muchas veces pueden tener el contacto de estos compuestos con algunas de las reacciones propias de los alimentos, como puede ser la oxidación. (Sgalowicz *et al.* 2016).

## Referencias

Marques E.F. and Silva B.F.B. Surfactants, phase behavior. Encyclopedia of Colloid and Interface Science. Springer Verlin Heidelberg 2016, 190-1333.

Salager J.L. Surfactantes, Tipos y Usos. Cuaderno FIRP S300-A. Universidad de los Andes Facultad de Ingenieria, Escuela de <ingeniería Química. Mérida-Venezuela, V2, 2002. 53pp

Edgar VC. Características Generales. Terpenos. Universidad Nacional de México- Facultad de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto de Química. Ciudad de México. 2003.10pp

Meza U, Romero-Méndez AC, Licón T, Sánchez-Armáss S. La membrane plasmática: Modelos, Balsas y Señalización. REB 2010, 29, 125-134.

82<sup>nd</sup> Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives (JECFA) meeting-Food additives. Summary and conclusions, 2016. <http://www.fao.org/documents/card/en/c/43707867-e0b1-45fc-9537-e60af9249e72/>

Sagalowicz L., Moccand C., Davidek T., Ghanbari R., Martiel I., Negrini R., Mezzenga R., Leser M.E., Blank I., and Michel M. Lipid self-assembled structures for reactivity control in food. Phil. Trans. R. Soc. A 374:20150136.

Páginas de internet:

<http://www.aditivos-alimentarios.com/p/listado-de-aditivos.html>

<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/es/>

## 3. POLIELECTROLITOS

**Neith Aracely Pacheco López**

**Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.**

[npacheco@ciatej.mx](mailto:npacheco@ciatej.mx)

**Norberto Ulises García Cruz**

**Departamento de Recursos del Mar. CINVESTAV Unidad Mérida**

### **Introducción**

Un polielectrolito es un polímero que contiene grupos iónicos, los cuales están unidos por enlaces covalentes a la cadena del polímero. Estas moléculas tienen un amplio rango de aplicaciones tanto tecnológicas como industriales, debido a las diferentes propiedades físico-químicas que presentan, las cuales están dadas por factores específicos tales como: naturaleza del polímero, presencia de estructura lineal o ramificada y tipo de grupo iónico (catión o anión) que tiene enlazado. Estas características aunadas a las propiedades fisicoquímicas del monómero que forma al polímero, han hecho que en años recientes se haya incrementado el interés por investigar los diferentes tipos de polielectrolitos ya que se ha visto que entre sus aplicaciones se encuentran el uso de estos compuestos en procesos de separación en las diferentes industrias, liberación de fármacos, compuestos electrónicos, agentes quelantes entre otros (1). Debido a que la literatura es muy amplia, el objetivo de este apartado es conocer de manera general, una breve descripción de los polielectrolitos y sus aplicaciones.

### **Tipos de polielectrolitos**

Los polielectrolitos pueden ser clasificados dentro de varios tipos: A) Basados en su origen, se cuenta con polielectrolitos naturales (ácidos polinucleicos y polipéptidos), naturales modificados (quitosano y celulosa) y sintéticos (poliestireno y sulfonato). B) De acuerdo a su composición (homopolímeros y copolímeros). C) Por su arquitectura pueden ser lineales, ramificados y entrecruzados. D) Por sus propiedades electroquímicas se

pueden clasificar en: poliácidos/polianiones, polibases/policationes y polianfolitos. Algunos de los más importantes polielectrolitos se muestran en la tabla 1. (2)

Tabla 1. Ejemplos de polielectrolitos (3).

Tipo	Nombre	Tipo de carga
Polielectrolitos naturales	Ácidos nucleicos	Polianión
	Poli (L-lisina)	Policación
	Poli (L-ácido glutámico)	Polianión
	Carragenina	Polianión
	Alginatos	Polianión
	Ácido hialurónico	Polianión
Modificados químicamente	Pectina	Polianión
	Quitosano	Policación
	Base-Celulosa	Polianión o policación
	Base-Almidón	Polianión o policación
Sintéticos	Base-Dextrano	Polianión o policación
	Poli (vinil-bencil tri-aquil amonio)	Policación
	Poli (ácido metacrilico)	Polianión
	Poli (ácido vinil sulfónico)	Polianión
	Poli (ácido estireno sulfónico)	Polianión
	Ácido maleico	Polianfolito

## Propiedades

Las propiedades que presentan los polielectrolitos se deben a varios factores como son la naturaleza del monómero, el grupo iónico, el contraion entre otros. Como se mencionó anteriormente, los polielectrolitos pueden presentar carga positiva o negativa, y esta va a depender del grupo iónico que tenga conjugado (anión o catión). En la tabla 2 se muestran los grupos funcionales más representativos (4,5).

Tabla 2. Grupos iónicos más utilizados en los polielectrolitos (4).

Aniones	Cationes
$-\text{COO}^-$	$-\text{NH}_3^+$
$-\text{CSS}^-$	$= \text{NH}_2^+$
$-\text{O} - \text{SO}_3^-$	$\equiv \text{NH}^+$
$-\text{SO}_3^-$	$-\text{NR}_3^+$
$-\text{O} - \text{PO}_3^{2-}$	

En cuanto al grado de disociación, el polímero puede presentarse fuerte o débil. Una disociación es fuerte cuando los grupos iónicos se disocian por completo sin importar el pH de la solución, ejemplo: poli (estirensulfonato de sodio) y el poli (cloruro de alildimetil amonio). Por el contrario, cuando la disociación se lleva a cabo en un pH específico, esta es débil tal es el caso del polielectrolito elaborado a base de poli (etilénimina), el cual solo se disocia cuando la solución tiene un valor de  $\text{pH} < 7$  (1,4).

Existen también los polielectrolitos polianfolitos que tienen la propiedad de ionizarse parcialmente dependiendo del pH de la solución. Cuando el pH es mayor a su punto isoeléctrico pueden adquirir carga negativa, en contraparte cuando el pH está por debajo de su punto isoeléctrico la carga del polielectrolito es positiva y en el caso de que el pH de la solución es igual a su punto isoeléctrico del polielectrolito, este presenta una carga neutra (1). Lo anterior se relaciona con la localización de los complejos iónicos en la cadena del polímero, cuando los complejos se encuentran ubicados a lo largo de la cadena son de tipo integral, mientras que si se encuentran en cadenas laterales del polielectrolito se dice que los enlaces iónicos son del tipo colgante como se muestra en la Fig. 1 (1).

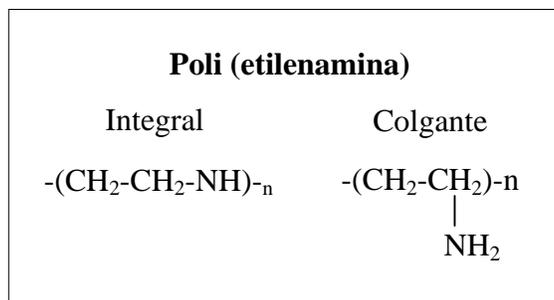


Fig 1. Localización del grupo funcional en el polielectrolito

La densidad de la carga del polielectrolito, va a depender de la distancia que existe entre los grupos iónicos a lo largo de la cadena del polímero. Esta se calcula tomando en cuenta la forma de la molécula que resulta de los enlaces covalentes. En el caso de los copolímeros, la densidad de carga se calcula tomando como promedio los sitios iónicos por unidad (monómero). Esto también va ligado a que tan uniforme se distribuyen los sitios iónicos, es decir cuántas unidades de los monómeros existen entre los grupos. Se ha observado que para que un polielectrolito sea soluble en agua debe de tener un sitio ionizado cada diez monómeros (1).

Por otra parte, los contraiones de los grupos iónicos también juegan un papel muy importante en las propiedades que presentan los polielectrolitos. Un ejemplo es la solubilidad, un polielectrolito que contenga cloruro como contraion presentará una mayor solubilidad comparado con un contraion de iodo. Otro ejemplo se puede observar en la rigidez que presenta el polielectrolito en la fabricación de geles termorreversibles. En el caso de la celulosa, una concentración de sales de sulfato de potasio entre el 1% y 2% forma geles rígidos, mientras que ocupando el mismo polielectrolito bajo las mismas condiciones que contenga como contraion al sodio esta afectara sus propiedades estructurales al grado que solo formara una solución viscosa (1).

### **Obtención de polielectrolitos**

Los polielectrolitos se pueden obtener de forma sintética y natural (4). Químicamente cualquier sustancia capaz de formar un polímero se puede transformar en un polielectrolito, por medio de la unión de varios grupos iónicos de un solo tipo unidos por un enlace covalente. Estructuralmente, aunque existe una amplia variedad de polímeros, solo existe un número limitado de grupos funcionales capaces de ionizarse en un soluto que pueden conjugarse con la cadena del polímero (Tabla 2), siendo los sistemas lineales y ramificados los que más se han estudiado.

### **Polielectrolitos sintéticos**

En la tabla 3 se mencionan algunos de los procesos mediante los cuales se producen polielectrolitos sintéticos. Por lo general la producción de estas moléculas se lleva a cabo por reacciones de polimerización de compuestos alifáticos como son los alcanos, sin embargo, otra de las reacciones ampliamente usadas para la formación de este tipo de compuestos es el mecanismo iónico que es la polimerización de compuestos que contienen anillos (1).

Tabla 3. Reacciones para la síntesis de polielectrolitos.

Reacción química	
Síntesis de radicales libres	Homo y copolimerización de monómeros con carga. Se utiliza para la obtención de PoE* aniónicos, catiónicos y polianfolitos.
Síntesis de polimerización iónica	La polimerización va a depender de la estructura del monómero. Producción de PoE* aniónicos y catiónicos.
Síntesis por modificación química	La polimerización va a depender de: morfología del polímero, longitud y conformación de la cadena y las características de los grupos vecinos. Formación de PoE* aniónicos, catiónicos y polianfolitos.

\*PoE= polielectrolito

### Polielectrolitos naturales

Los polielectrolitos que se sintetizan a partir de biopolímeros son catalogados como polielectrolitos naturales y se pueden obtener por extracción, precipitación, aislamiento a partir de la degradación de sustratos naturales y por derivatización química, estos compuestos presentan características como son la biocompatibilidad lo cual es de suma importancia en áreas como la farmacéutica en donde se utiliza para crear sistemas de liberación controlada de fármacos (1,6). Una limitante para la obtención de polielectrolitos a partir de fuentes naturales es precisamente la fuente de donde se extrae el biopolímero ya que esta puede influir en las propiedades físico-químicas del producto final (6). En la tabla 4 se muestran los principales tipos.

Tabla 4. Tipos de polielectrolitos naturales.

Tipo	Características
Ácidos Nucleicos	Se sintetiza a partir de ADN. Son polianfolitos, en sistemas acuosos funcionan como PoE aniónicos. Se puede mezclar el Na <sup>+</sup> en conjugación con el ácido polifosfórico para obtener diferentes tipos de estructuras.
Ácidos Teicoicos	Se forma a partir de monómeros de glicerolfosfato o ribitol-fosfato. Forma PoE aniónico por tal motivo son muy solubles en agua.
Proteínas y Polipéptidos	Las cadenas se generan a partir de $\alpha$ -aminoácidos. Forma PoE aniónicos, catiónicos y anfóteros.
Polisacáridos	Se pueden formar a partir de: celulosa, galactosa, manosa, carragenano, agar, alginato, goma arábica, pectina, quitosano, xilano, almidón y lignina. Forma PoE aniónicos, catiónicos y anfóteros.

### Áreas de aplicación

Los polielectrolitos tienen diferentes aplicaciones industriales, destacando su uso en soluciones y geles debido a que pueden modificar propiedades fisicoquímicas del compuesto como son la viscosidad y la estabilidad. En este sentido se pueden utilizar como agentes floculantes para la recuperación de compuestos o elementos específicos gracias a que pueden generar precipitados. Dentro de otras de sus aplicaciones se encuentran su uso como: agentes espesantes, emulsificantes, clarificantes, acondicionadores, entre otros. En el área ambiental se han aplicado para la recuperación de compuestos no polares (aceites) en el agua. En la industria cosmetológica se adicionan en la formulación para la fabricación de jabones, champú y cosméticos. Su uso se extiende en la formulación de concreto y en la industria alimenticia, siendo esta última junto con la farmacéutica las que utiliza en su mayoría los polielectrolitos de origen natural gracias a la biocompatibilidad que presentan (1,4,7).

Tabla 5. Algunas aplicaciones de los polielectrolitos.

Tipo de PoE*	Usos
Complejos (polímero-polímero, polímero-molécula o polímero-molécula-polímero)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Procesos de filtración</li> <li>- Procesos de gelatinización</li> <li>- Formación de micelas</li> <li>- Agentes floculantes</li> <li>- Como aditivos</li> <li>- Agentes deshidratantes</li> <li>- Liberación controlada de fármacos</li> <li>- Encapsulación de células</li> </ul>
Multicapas (layer-by-layer)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Producción de micro- y nanocápsulas</li> <li>- Biotecnología</li> <li>- Liberación de fármacos</li> <li>- Microcontenedores</li> <li>- Nanofiltración</li> </ul>
Geles	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Encapsulación</li> </ul>

PoE\*= Polielectrolitos

## Conclusión

El estudio de los polielectrolitos es de gran interés gracias a que se pueden diseñar con el fin de obtener un polímero con propiedades físico-químicas específicas. En la actualidad se siguen descubriendo nuevas propiedades y estructuras, como en el caso de los polielectrolitos funcionales los cuales se han descubierto recientemente (Shanze y Shelton, 2009) y presentan una nueva oportunidad de estudio en el área de materiales debido a que se pueden aplicar en líneas de investigación como son la óptica y la electrónica. Adicionalmente su aplicación en el área alimenticia es prometedora ya que pueden funcionar perfectamente como agentes encapsulantes de compuestos bioactivos y aportar al mismo tiempo características propias.

## Referencias

1. Dautzenberg, H.; Jaeger, W.; Kotz J. *Polyelectrolytes: Formation, Characterization and Application*; Hanser, Munich, 1994.
2. Schanze, K.S.; Shelton, A., H. *Langmuir Perspective*. **2009**. 25(24): 13698-13702.

3. Hess, M.; Jones, R. G.; Kahovec, J.; Kitayama, T.; Kratochvíl, P.; Kubisa, P.; Mormann, W.; Stepto, R. F. T.; Tabak, D.; Vohlídal, J.; Wilks, S. *Pure Appl Chem.* **2006.** 78(11):2067-2074.
4. Lankalapalli, S.; Kolapalli, V.R.M. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **2009.** 71(5): 481-487.
5. Petrov, A.I.; Antipov, A.A.; Sukhorukov, G.B. *Macromolecules.* **2003.** 36: 10079-10086.
6. Kuroiwa, T.; Kobayashi, I.; Chuah, A.M.; Nakajima, M.; Ichikawa, S. *Advances in Colloid and Interface Science.* (2015).
7. Berillo, D.; Elowsson, L.; Kirsebom, H. *Macromolecular Science.* **2012.** 12: 1090-1099.

## 4.INTERACCIONES MOLECULARES

**Norma Morales–Hernández**

**Pedro Martín Mondragón–Cortez**

**Tecnología alimentaria, CIATEJ, A.C.**

[nmorales@ciatej.mx](mailto:nmorales@ciatej.mx)

### **Introducción**

Las interacciones moleculares son uniones débiles que se generan entre moléculas y pueden ser atractivas o repulsivas. Se presentan a cortas distancias y algunas veces duran un instante de tiempo. Son importantes porque cambian las propiedades de los compuestos donde se presentan, por ejemplo, el punto de ebullición y congelamiento, el estado de agregación o de solubilidad de ciertas sustancias. Las interacciones moleculares generalmente son de naturaleza electrostática o del tipo van der Waals. Las interacciones electrostáticas se encuentran clasificadas en varios tipos, los cuales dependen de las características de la polaridad (negativa o positiva) que presentan las moléculas o los iones (ya sea catión o anión) que intervienen, y pueden ser del tipo ion-ion, ion-dipolo, dipolo-dipolo, de puentes de hidrógeno, etc. Las interacciones de van der Waals pueden ser del tipo de dispersión, inducción u orientación entre moléculas. El conocimiento de la naturaleza de las interacciones moleculares involucradas, por ejemplo, en los sistemas alimentarios, puede ser utilizado para formar nuevas estructuras y propiedades fisicoquímicas.

### **Interacciones electrostáticas**

Las interacciones electrostáticas ocurren entre especies moleculares que poseen una carga eléctrica permanente, tales como los iones y las moléculas polares. Un ion es un átomo o molécula que tiene ganancia o pérdida de uno o más electrones externos, de esta manera obtiene una carga positiva o negativa. Una molécula polar no tiene carga, pero tiene un dipolo eléctrico debido a que tiene una distribución irregular de sus cargas. Ciertos

átomos son capaces de extraer los electrones del enlace covalente hacia aquellos átomos más fuertes. Como consecuencia, ellos adquieren una carga parcial negativa ( $\delta^-$ ) y el otro átomo adquiere una carga parcial positiva ( $\delta^+$ ). Si la carga parcial entre una molécula está distribuida simétricamente, se cancelan la una con la otra y la molécula no tiene dipolo, pero si están distribuidos asimétricamente, la molécula tendrá un dipolo. La fuerza de un dipolo está caracterizada por un momento dipolo  $\mu=ql$ , donde  $l$  es la distancia entre dos cargas  $q^+$  y  $q^-$ .

Existen tres tipos de interacciones electrostáticas entre moléculas (Fig. 1); ion-ion, ion-dipolo y dipolo-dipolo (McClements 1999).

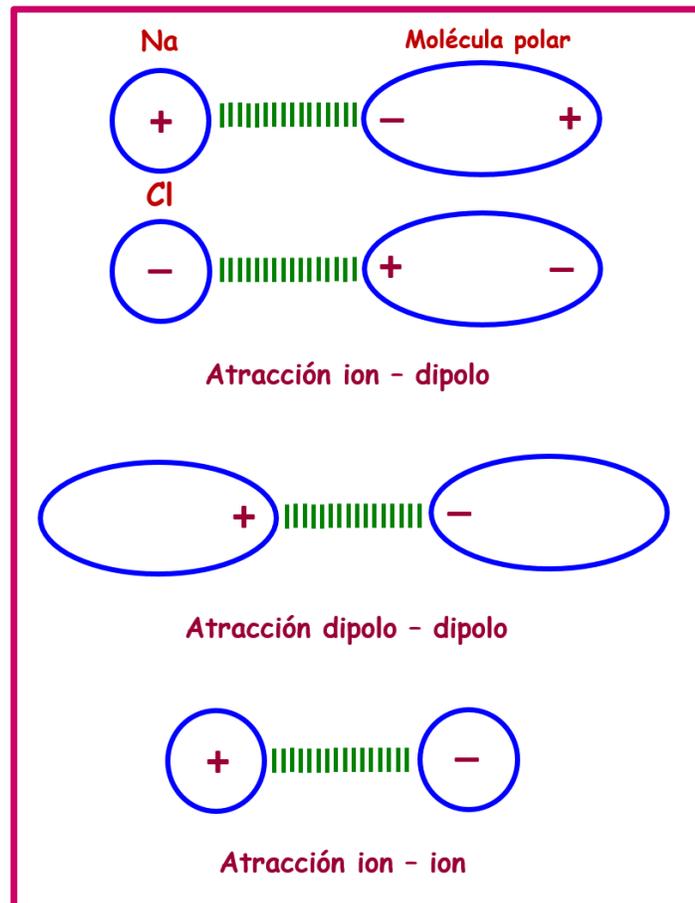


Fig. 1 Representación de las interacciones electrostáticas.

1. *Ion- ion*

Son las fuerzas que se producen cuando se unen iones: aniones y cationes, en una sustancia iónica. La fuerza de esta interacción depende de la carga y del tamaño de los iones. Esta interacción es, en general, una de las más intensas.

1. *Ion-dipolo*

En este tipo de interacciones, se atraen un ion (ya sea catión o un anión) y una molécula polar. La intensidad de esta interacción dependerá de la carga y el tamaño del ion, así como de la magnitud del momento dipolar y del tamaño de las moléculas. La hidratación es un ejemplo de interacción ion-dipolo.

2. *Dipolo-dipolo*

Son las fuerzas de atracción entre moléculas polares, es decir, entre moléculas que poseen momentos dipolares. Su origen es electrostático y se puede entender en función de la Ley de Coulomb. A mayor momento dipolar mayor es la fuerza.

## **Interacciones de van der Waals**

Este tipo de fuerzas actúan entre todos los átomos y moléculas aún las totalmente neutras e hidrocarburos. Estas fuerzas se han conocido como dispersión de fuerzas, fuerzas de London, de carga – fluctuación, electrodinámicas e inducidas dipolo. Las fuerzas de dispersión constituyen las fuerzas más importantes de van der Waals entre átomos y moléculas, porque siempre están presentes (en contraste a otro tipo de fuerzas que pueden o no estar presentes, dependiendo de las propiedades de las moléculas). Estas fuerzas tienen un papel importante en una serie de fenómenos como adhesión, tensión superficial, adsorción física, humectación, propiedades de gases, líquidos y películas delgadas, en la fuerza de sólidos, floculación de partículas en líquidos y las estructuras de macromoléculas tales como proteínas y otros biopolímeros. Las principales características son: Fuerzas de largo alcance, dependiendo de la situación, pueden ser distancias mayores a 19nm o espacios interatómicos cerca de 0.2nm. Estas fuerzas pueden ser repulsivas o atractivas, en general la fuerza de dispersión entre dos moléculas o partículas no siguen una ley determinada (Parsegian 2006).

1. *Fuerzas de dispersión*

Las fuerzas de dispersión no sólo son moléculas juntas sino tienen a alinearse mutuamente u orientarse entre ellas, este efecto de orientación es más débil que las interacciones dipolares. Las fuerzas de dispersión no son aditivas, esto es que la fuerza entre dos cuerpos es afectada por la presencia de otro cuerpo cercano (Parsegian 2006).

2. *Fuerza de inducción*

Estas fuerzas surgen de la interacción entre un dipolo permanente y un dipolo inducido en una molécula vecina por la presencia de un dipolo permanente. Un dipolo permanente causa una alteración en la distribución de los electrones de una molécula vecina, que conduce a la formación de un dipolo inducido. La interacción entre el dipolo permanente y el dipolo inducido conduce a una fuerza de atracción entre las moléculas (McClements 1999). Este dipolo instantáneo genera un campo eléctrico que induce un dipolo en una molécula próxima. Consecuentemente, hay una fuerza atractiva instantánea entre los dos dipolos. En promedio, la atracción entre las moléculas es por tanto finita, aun cuando la carga neta promedio en las moléculas es cero.

3. *Fuerza de orientación*

Estas fuerzas surgen de la interacción entre dos dipolos permanentes que están continuamente rotando. En promedio, estos dipolos en rotación no tienen una carga neta, pero hay aún una fuerza atractiva débil entre ellos debido a que el movimiento de un dipolo induce alguna correlación en el movimiento de un dipolo vecino. Cuando la interacción entre los dos dipolos es suficientemente fuerte para hacer que sean permanentemente alineados, esta contribución es remplazada por las interacciones electrostáticas dipolo-dipolo (McClements 1999).

## **Puente de hidrógeno**

Son un tipo especial de atracción intermolecular que existe entre el átomo de hidrógeno de un enlace polar (sobre todo un enlace H-F, H-O o H-N) y un par de electrones no compartido en un ion o átomo electronegativo pequeño cercano (usualmente un átomo F, O o N de otra molécula). Los puentes de hidrógeno pueden considerarse atracciones dipolo-dipolo únicas (Fig. 2). El átomo de hidrógeno no tiene electrones internos; por tanto,

el lado positivo del dipolo de enlace tiene la carga concentrada del protón parcialmente expuesto del núcleo de hidrógeno. Esta carga positiva es atraída hacia la carga negativa de un átomo electronegativo de una molécula cercana. Dado el tamaño tan pequeño del hidrógeno deficiente en electrones, se puede acercarse mucho a un átomo electronegativo e interactuar fuertemente con él.

El agua es una sustancia inusual que toma un lugar especial con respecto a las fuerzas intermoleculares y los dos tipos de interacciones son los enlaces hidrógeno y el efecto hidrofóbico, que son particularmente las interacciones del agua (entre moléculas del agua). Los enlaces intermoleculares formados tanto en líquido como en hielo persisten debido a que están dependientemente a una orientación debido a que el agua adopta una ordenación tetraédrica. El agua además tiene propiedades inusuales como muy baja compresibilidad y propiedades de solubilidad tanto como soluto y como un solvente. Los enlaces hidrógeno puede ocurrir intermolecular como intramolecularmente y pueden existir en un ambiente no polar y son importantes en particular en sistemas macromoleculares o biológicos como proteínas unidas a diferentes segmentos de moléculas de ADN. Su participación en la creación de uno, dos y tres dimensiones se refieren a veces como polimerización de enlaces de hidrógeno (Parsegian 2006).

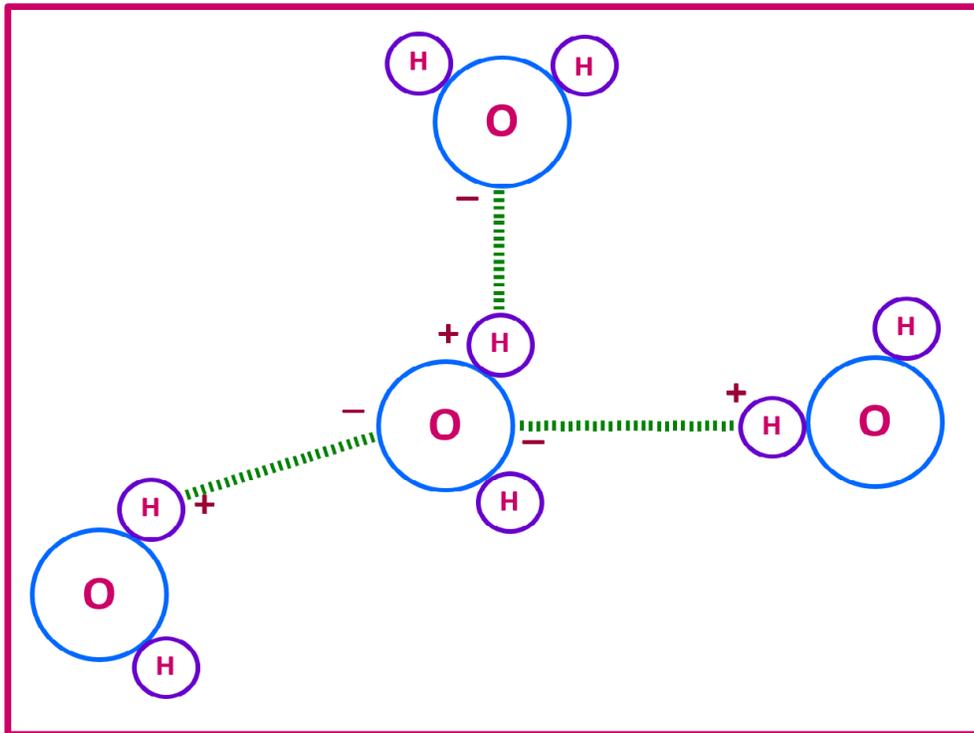


Fig. 2 Representación de enlaces puentes de hidrógeno en una molécula de agua.

### Interacciones entre biopolímeros.

Las interacciones entre macromoléculas son variadas y son determinadas por las características fisicoquímicas de cada biopolímero, concentración y condiciones de disolución. Los biopolímeros pueden crear estructuras nuevas y sistemas de liberación por encapsulación para proteger y liberar ingredientes bioactivos o funcionales tales como lípidos, sabores, péptidos, proteínas, enzimas, fibra dietaria, minerales y vitaminas e incluso fármacos. (Weiss, Takhistov *et al.* 2006, Salminen y Weiss 2014), donde micelas, vesículas, bicapa, cristales líquidos han sido usados por muchos años para encapsular y liberar ingredientes funcionales polares, no polares y/o ingredientes funcionales (Golding y Sein 2004, Garti, Spernath *et al.* 2005).

Las asociaciones coloidales son sistemas termodinámicamente favorables, cuya formación es normalmente por el efecto hidrofóbico, esto es, la reducción del área de contacto entre los grupos no polares del surfactante que componen la asociación coloide y agua. Los tipos de asociación entre los coloides formados y la naturaleza de las estructuras

resultantes dependen de la concentración y características moleculares, así como las condiciones ambientales que prevalecen (temperatura, pH, fuerza iónica), las proteínas y polisacáridos son biopolímeros ampliamente usados como ingredientes funcionales y pueden ser parte de un complejo natural o aislado puede ser un ingrediente funcional (McClements, 2006; Weiss, Takhistov *et al.* 2006).

El tipo, número, secuencia y enlace de los monómeros dentro de un biopolímero alimentario determina sus características moleculares en solución, como es la longitud de cadena, ramificaciones, carga, flexibilidad e hidrofobicidad (Cui, 2005). Las características de las moléculas determinan los atributos funcionales de los biopolímeros en los alimentos como es su capacidad de espesar soluciones, formar geles, retener agua, formar y estabilizar emulsiones y espumas, además de usarse en sistemas donde hay mezcla de biopolímeros, donde se presentan interacciones de manera sinérgica o antagónica entre los diferentes biopolímeros causando cambios en sus propiedades funcionales (de Kruif, Weinbreck *et al.* 2004).

Las interacciones biopolímero-biopolímero juegan un rol importante en las investigaciones modernas en la ciencia y biotecnología de los alimentos debido a que ellos influyen la formación de la microestructura de sistemas que contienen biopolímeros, que son determinantes en la textura, estabilidad mecánica, consistencia, así como su apariencia y sabor (Semenova, 2007).

Estas interacciones son importante para los biopolímeros que tienen una carga eléctrica que poseen grupos ionizados, por ejemplo goma arábiga y goma de mezquite quienes poseen carga negativa debido a la presencia de residuos de ácido D-glucurónico y ácido 4-O-metil-glucurónico) (Imeson 2010) y quitosano quien posee carga positiva debido a la presencia de grupos protonados de residuos D-glucosamina con un pKa de 6.3-7.0 (Klinkesorn and Namatsila, 2009), entre otros.

Estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas dependiendo si los grupos de carga involucrados tienen signos diferentes o iguales. Lee y Hong (2009) reportan las

interacciones atractivas y repulsivas en un rango de pH de 2.0-8.0, entre  $\alpha$ -lactoalbúmina–quitosano. En pH 5.5-8.0 se presentan las interacciones atractivas, debido a que los aminoácidos (albúmina) y residuos n-glucosamina (quitosano) presentan una carga negativa y positiva respectivamente, por ello se atraen, forman complejos y precipitan.

En cambio, a pH menor a 5.5,  $\alpha$ -lactoalbúmina cambia de carga de negativa a positiva (Jamróz, Para et al. 2014), presentando la misma carga que el quitosano, por lo que hay una interacción repulsiva entre ambos biopolímeros, mostrando co-solubilidad en el sistema (McClements 2006). Los aminoácidos básicos se neutralizan por el aumento de la concentración de protones  $H^+$  y los grupos amino catiónicos de los aminoácidos ácidos, se ionizan adquiriendo la carga positiva, lo que conlleva a una repulsión entre los biopolímeros.

Espinosa-Andrews, Enríquez-Ramírez et al. (2013) reportan interacciones entre los biopolímeros goma arábiga y quitosano, las cuales son debidas principalmente a las interacciones electrostáticas entre los residuos ácido glucurónico y N-glucosamina respectivamente. El residuo ácido glucurónico posee grupos carboxilo ( $COO^-$ ) (Weinbreck, de Vries et al. 2003) y el residuo N-glucosamina posee grupos amino ( $NH_3^+$ ), los cuales tienen átomos altamente electronegativos y pueden formar enlaces H-O y H-N, lo que hace que puedan formar puentes de hidrógeno entre moléculas cercanas.

Las interacciones proteína – polisacárido han generado mucha atención durante las últimas décadas debido a su papel de formación de estructura en los alimentos y biomateriales como en el diseño de vehículos de liberación de compuestos bioactivos y farmacéuticos (Elmer, Karaca *et al.* 2011). La formación de complejos proteína – polisacárido se considera en dos pasos: nucleación y proceso cinético tipo crecimiento asociado con la formación de complejos solubles e insolubles. La formación de complejos es seguida por un análisis turbidimétrico durante una titulación de pH con la formación de complejos de solubles a un pH asociado con las interacciones no covalentes entre proteínas y polisacáridos.

Si una solución acuosa contiene dos diferentes tipos de polímeros (A y B) que tienen una gran fuerza de repulsión entre ellos, entonces estos se pueden separar en dos fases acuosas. Una de las fases es rica del polímero A y poca de B, mientras que la otra fase es rica de B y pobre de A. La fuerza para este tipo de separación de fase es de exclusión estérica o repulsión electrostática. Cuando las condiciones de la solución son ajustadas para que la separación se pueda realizar en una mezcla de solución polimérica, el sistema inicialmente forma gotas de una fase dispersa en un medio continuo de la otra fase. Este tipo de sistema puede ser referido a las emulsiones agua en agua (W/W). Mientras que, en los complejos insolubles, las gotas de agua formadas son el resultado de una separación segregativa que son inestables a la coalescencia y a la separación gravitacional y puede ser necesario estabilizarla ajustando la solución (pH, fuerza iónica, orden de adición etc.) (McClements 2006, McClements, Decker *et al.* 2007).

Los principales parámetros que influyen en la formación de complejos solubles e insolubles son el pH, fuerza iónica, la proporción proteína/polisacárido, concentración total de biopolímeros, algunos otros parámetros tales como peso molecular de biopolímeros, densidad de carga, la agitación, presión y temperatura han mostrado tener influencia sobre la formación de complejos (Schmitt y Turgeon 2011).

Klein, Aserin *et al.* (2010) evaluaron las interacciones entre goma arábica (GA) y aislado de proteína de suero de leche (WPI), obteniendo una mezcla 3:1 (WPI:GA) que estabiliza una emulsión aceite en agua mejor que los biopolímeros de manera separada. Jun-xia, Hai-yan *et al.* (2011) evaluaron mezclas de aislado de proteína de soya y goma arábica para la formación de complejos coacervados y poder microencapsular aceite de naranja, para lo cual evaluaron el efecto del pH, fuerza iónica, diferentes proporciones entre los biopolímeros. Los resultados indicaron que el aislado de proteína de soya es muy compatible con la goma arábica para la formación de complejos coacervados. Las microcápsulas generadas se obtuvieron esféricas indicando un buen material de protección.

Diversos trabajos se han realizado en los cuales se especifican aplicaciones entre los complejos y coacervados entre biopolímeros como proteínas y polisacáridos en sistemas

alimenticos (de Kruif, Weinbreck et al. 2004, McClements 2006, Weiss, Takhistov et al. 2006, Kizilay, Kayitmazer et al. 2011) considerando sus propiedades funcionales de estos sistemas para su aplicación en combinación con los procesos tecnológicos con la finalidad de poder estabilizar y liberar compuestos bioactivos o sensibles.

## **Interacciones intramoleculares**

Este tipo de interacciones son la que mantienen fuertemente unidos a los átomos de una molécula, por ejemplo, es el que sucede en el denominado enlace covalente. Los enlaces covalentes comparten los electrones de la capa externa entre dos o más átomos, de modo que los átomos individuales pierden su naturaleza, para formar una molécula, las fuerzas que unen fuertemente a los átomos dentro de la molécula se denominan fuerzas de enlace covalente.

Los enlaces son caracterizados por compartir electrones entre dos o más átomos. El número de electrones en la capa externa de un átomo gobierna su valencia, es decir, el número óptimo de enlaces covalentes que puede formar con otros átomos, dependiendo de la posición de un átomo (o elemento) que ocupa en la tabla periódica, este puede participar en un determinado número de enlaces covalentes con otros átomos (McClements 1999, Israelachvili 2011).

Actualmente para detectar las interacciones moleculares se utilizan técnicas como la espectroscopia de infrarrojo medio, la espectroscopia Raman o la técnica de difracción de rayos X, entre otras.

## **Referencias**

Cui, S. W. (2005). FOOD CARBOHYDRATES Chemistry, Physical Properties and Applications. Boca Raton FL, TAYLOR & FRANCIS GROUP.

de Kruif, C. G., F. Weinbreck and R. de Vries (2004). "Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides." Current Opinion in Colloid & Interface Science **9**(5): 340-349.

Elmer, C., A. C. Karaca, N. H. Low and M. T. Nickerson (2011). "Complex coacervation in pea protein isolate–chitosan mixtures." Food Research International **44**(5): 1441-1446.

Espinosa-Andrews, H., K. E. Enríquez-Ramírez, E. García-Márquez, C. Ramírez-Santiago, C. Lobato-Calleros and J. Vernon-Carter (2013). "Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes." Carbohydrate Polymers **95**(1): 161-166.

Garti, N., A. Spornath, A. Aserin and R. Lutz (2005). "Nano-sized self-assemblies of nonionic surfactants as solubilization reservoirs and microreactors for food systems." Soft Matter **1**(3): 206-218.

Golding, M. and A. Sein (2004). "Surface rheology of aqueous casein–monoglyceride dispersions." Food Hydrocolloids **18**(3): 451-461.

Imeson, A. (2010). Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents. FMC BioPolymer, UK.

Israelachvili, J. N. (2011). Intermolecular and Surface Forces. USA, Academic Press.

Jamróz, E., G. Para, B. Jachimska, K. Szczepanowicz, P. Warszyński and A. Para (2014). "Albumin–fucellaran complexes as cores for nanoencapsulation." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **441**: 880-884.

Jun-xia, X., Y. Hai-yan and Y. Jian (2011). "Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic." Food Chemistry **125**(4): 1267-1272.

Kizilay, E., A. B. Kayitmazer and P. L. Dubin (2011). "Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids." Advances in Colloid and Interface Science **167**(1–2): 24-37.

Klein, M., A. Aserin, P. B. Ishai and N. Garti (2010). "Interactions between whey protein isolate and gum Arabic." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **79**(2): 377-383.

Klinkesorn, U. and Y. Namatsila (2009). "Influence of chitosan and NaCl on physicochemical properties of low-acid tuna oil-in-water emulsions stabilized by non-ionic surfactant." Food Hydrocolloids **23**(5): 1374-1380.

Lee, A.-C. and Y.-H. Hong (2009). "Coacervate formation of  $\alpha$ -lactalbumin–chitosan and  $\beta$ -lactoglobulin–chitosan complexes." Food Research International **42**(5–6): 733-738.

McClements, D. J. (1999). Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques. United States of America, CRC Press.

McClements, D. J. (2006). "Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides." Biotechnology Advances **24**(6): 621-625.

McClements, D. J., E. A. Decker and J. Weiss (2007). "Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components." Journal of Food Science **72**(8): R109-R124.

Parsegian, V. A. (2006). Van der Waals Forces: a Handbook for Biologists, Chemists, Engineers and Physicists. New York, USA, Cambridge University Press.

Salminen, H. and J. Weiss (2014). "Effect of Pectin Type on Association and pH Stability of Whey Protein—Pectin Complexes." Food Biophysics **9**(1): 29-38.

Schmitt, C. and S. L. Turgeon (2011). "Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems." Advances in Colloid and Interface Science **167**(1–2): 63-70.

Semenova, M. G. (2007). "Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems." Food Hydrocolloids **21**(1): 23-45.

Weinbreck, F., R. de Vries, P. Schrooyen and C. G. de Kruif (2003). "Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic." Biomacromolecules **4**(2): 293-303.

Weiss, J., P. Takhistov and D. J. McClements (2006). "Functional Materials in Food Nanotechnology." Journal of Food Science **71**(9): R107-R116.

## 5. EMULSIONES

**Angélica Román-Guerrero**

**Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la**

**Salud. Universidad Autónoma Metropolitana**

**Eristeo García Márquez**

**Unidad Noreste, CIATEJ, A.C.**

[egarcia@ciatej.mx](mailto:egarcia@ciatej.mx)

### **Introducción**

Dentro de las categorías más importantes e interesantes de fluidos complejos se encuentran las emulsiones, debido a sus numerosas aplicaciones en las industrias litográfica, de detergentes, pinturas, agricultura, minera, petrolera, cosmética, farmacéutica y alimenticia. Siendo estas últimas, donde las emulsiones reflejan su importancia como sistemas acarreadores, encapsulantes, y protectores de compuestos bioactivos susceptibles a procesos oxidativos, sistemas de liberación controlada, modificación de las propiedades reológicas y/o atributos organolépticos (Kuentz, 2011; D.J. McClements, 2010). En este sentido, el tecnólogo encargado del diseño dichos sistemas dispersos, controla las propiedades fisicoquímicas de dichos productos –vida útil, apariencia, textura y/o sabor– mediante la selección de compuestos y operaciones de proceso adecuados para su elaboración, conduciendo no sólo a un proceso de fabricación, sino a la obtención de propiedades multifuncionales en un mismo sistema. Por lo que el estudio de las emulsiones, proporciona el conocimiento y comprensión de la relación entre las propiedades de los glóbulos producidos al interior de la emulsión (p. e. tamaño, carga, distribución, interacciones, y consistencia) y sus propiedades fisicoquímicas (estabilidad tanto de los glóbulos en la emulsión como de los principios bioactivos) (D.J. McClements, 2010).

Las emulsiones son sistemas coloidales que consisten de dos o más fases líquidas inmiscibles entre sí, esto hace que sean sistemas termodinámicamente inestables. Pues,

requieren de la adición de una alta cantidad de energía para el rompimiento de las fases en forma de pequeños glóbulos dispersos, los cuales, al cabo de un cierto tiempo tienden nuevamente a la separación de fases. Durante el proceso de separación, ocurren mecanismos fisicoquímicos como la separación gravitacional, floculación y coalescencia, maduración de Ostwald. Sin embargo, las emulsiones pueden llegar a considerarse como sistemas “estables” durante un tiempo razonable. La prolongación de estabilidad puede ocurrir por medio físico o químico. Es decir, los glóbulos de la fase dispersa de la emulsión se encuentran recubiertos con una capa de compuestos con actividad superficial. Los emulsionantes, no sólo facilitan la integración de las dos fases inmiscibles, sino que además las estabilizan contra los distintos fenómenos de agregación (Robins, Watson, & Wilde, 2002).

Un emulsionante –molécula de especial importancia, integra ambos líquidos, y prolonga la estabilidad durante cierto tiempo– es una molécula de bajo peso molecular compuesto de dos fracciones principales que le brindan su actividad funcional, una parte polar afín a un medio hidrofílico y una cadena hidrocarbonada alifática miscible en la oleosa o poco polar. Otro tipo de compuestos con actividad funcional capaces de estabilizar las emulsiones corresponde al uso de los denominados “estabilizantes”, los cuales generalmente son macromoléculas cuyos mecanismos de estabilización de emulsiones se encuentran relacionados principalmente con efectos electrostáticos y estéricos-viscosos, debido a su conformación y estructura química (Mason, Wilking, Meleson, Chang, & Graves, 2006; Robins *et al.*, 2002).

A su vez, un componente muy importante en la formación de las emulsiones corresponde a la energía requerida, ya que ésta integrará el líquido en menor proporción –denominado, fase dispersa– y lo dispersará en forma de glóbulos esféricos y microscópicos en el otro –fase continua–. La fase dispersa en forma de pequeños glóbulos también se le denomina fase interna, mientras que la fase que forma la matriz y que contiene los glóbulos se denomina fase externa o continua (D.J. McClements, 2004). El tamaño de los glóbulos va desde el orden de los nanómetros y hasta micrómetros, dando origen a una de las clasificaciones de las emulsiones, según su tamaño de glóbulo (Tabla 1) (D.J. McClements, 2010; T. Tadros, 2004; T. Tadros, Izquierdo, Esquena, & Solans, 2004;

T. F. Tadros, 2009). A pesar de que la manufactura de emulsiones requiere de una gran cantidad de energía, existen métodos de bajo requerimiento energético. En la mayoría de los casos el tamaño de glóbulos de las emulsiones obtenidas, está determinado por la tecnología utilizada (mezcladores de alto corte, homogeneizadores, microfluidizadores, y equipos de sonicación) para su elaboración. Existen tres clasificaciones importantes: nanoemulsiones (20–100 nm), micro-emulsiones (5–50 nm) y macro-emulsiones (0.1–100  $\mu\text{m}$ ) (D.J. McClements, 2010). A pesar de ello, aún existe controversia sobre dicha clasificación, por ejemplo Mason *et al* (2006), mencionan que las micro-emulsiones se definen en el intervalo de 10 nm a 100 nm, mientras que las mini-emulsiones están definidas entre 100 nm a 1000 nm, y a su vez las macro-emulsiones se definen entre 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$  (Flanagan & Singh, 2006; Mason *et al.*, 2006).

Se considera que, las mini-emulsiones y macro-emulsiones son termodinámicamente inestables, debido al contacto entre las moléculas de agua y aceite, que no son favorables energéticamente (D.J. McClements, 2004). Estas dispersiones no son estables en el sentido absoluto, pues, la interface entre ambos líquidos es la base fundamental de la energía libre interfacial (Sjoblom, 2005). Es decir, es el estado de menor energía que corresponde a ambas fases separadas, minimizando el área de contacto entre el agua y el aceite. Pero, es posible formar emulsiones, cinéticamente estables (meta-estables) por un periodo razonable de tiempo (días, semanas, meses o años) mediante la incorporación de sustancias emulsionantes.

Tabla 1. Clasificación de diferentes tipos de emulsiones de acuerdo con su tamaño de glóbulo.

Tipo de emulsión	Intervalo de diámetro	Estabilidad termodinámica	Relación superficie/masa $\text{m}^2/\text{g}$	Apariencia
Macroemulsión	0.1 a 100 $\mu\text{m}$	Inestable	0.07 a 70	Turbio/opaco
Nanoemulsión	20 a 100 nm	Inestable	70 a 330	Transparente
Microemulsión	5 a 50 nm	Estable	130 a 1300	Transparente

Fuente: McClements, D. J. (2010)

El tipo de emulsión depende del balance entre las propiedades hidrófobas e lipófilas del agente emulsionante (D.J. McClements, 2004). En general se suele cumplir la regla de Bancroft, la cual, brevemente menciona que sí el emulsionante es soluble en una fase acuosa continua, se formará una emulsión de aceite-en-agua, mientras que, sí el emulsionante es soluble en la fase oleosa y es mayoritaria, se obtendrá preferentemente una emulsión de tipo agua-en-aceite (Fligner, Fligner, & Mangino, 1991).

## **Tensioactivos**

La selección de emulsionantes ha sido de forma práctica. Principalmente por experiencia previa o realizando un diseño de experimentos para establecer que el producto seleccionado, cumple con la expectativa esperada. Frecuentemente, el conocimiento químico y recomendaciones del fabricante, ayuda a seleccionar de forma rápida y eficaz el o, la mezcla de tensioactivos, ahorrando con esto tiempo y costos durante la etapa de pre-formulación de la emulsión. El mecanismo de acción de los tensioactivos consiste en lograr que se sitúen en la interfase aceite-agua, a través de su migración desde el seno de cada fase, debido a su estructura química, disminuyen la tensión interfacial y facilitan la formación del sistema disperso de interés –emulsión– (Dickinson, 2009; Guzey & McClements, 2006). Los tensioactivos de uso común en la industria alimenticia, suelen ser no iónicos (compuestos sin carga, por ejemplo, ésteres de sacarosa, ésteres de sorbitano, polisorbatos), aniónicos (compuestos con carga iónica negativa por ejemplo, ácidos grasos) y anfóteros (pueden presentar cargas positivas y negativas de acuerdo con las condiciones del medio, por ejemplo, lecitinas o moléculas proteicas), donde la principal limitante sobre la formación y estabilización de las emulsiones se centra en los niveles de concentración permitidos para su uso (generalmente del orden de gramos por kilogramo de producto).

La estructura de emulsionantes es diverso. Por ejemplo, el grupo hidrófobo en las lecitinas, usualmente consiste en una o más cadenas hidrocarbonadas, entre 10 y 20 átomos de carbono por cadena, estas cadenas pueden ser saturadas o insaturadas, lineales o ramificadas o aromáticas (D.J. McClements, 2010). Mientras las relaciones de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos en la proteína determinarán su característica fisicoquímica para

distribuirse entre la fase hidrófila e hidrófoba. La desventaja de aplicación de tensioactivos es su concentración, el pH de las matrices alimenticias, donde se plantea aplicarse, limitando la vida de anaquel y funcionalidad de las emulsiones.

Una manera alternativa de evaluar la afinidad de un cierto tensioactivo en las fases inmiscibles, es a través del uso del concepto de balance hidrófilo-lipófilo (HLB por sus siglas en inglés), el cual se utiliza para describir la naturaleza de un tensioactivo. Este concepto fue introducido por Griffin (Cameron, Weber, Idziak, Neufeld, & Cooper, 1991), y posteriormente fue ampliado por Davies. En este sentido, la determinación de las fracciones másicas de los componentes tensioactivos suele determinarse aditivamente. El HLB deseado, determina la relación entre los tensioactivos lipófilos e hidrófilos. Aunque las propiedades de los agentes tensioactivos puros no corresponden completamente al valor de HLB determinado, porque cuando los agentes tensioactivos se encuentran en solución el HLB no es el mismo. Pero en términos generales, los tensioactivos con un  $HLB > 9$ , tienden a formar emulsiones O/W, en tanto que valores de  $HLB < 9$ , tienden a formar emulsiones W/O (T. F. Tadros, 2009). Se debe tener especial cuidado, cuando se trabaja con tensioactivos iónicos, sobre todo cuando son adicionados en sistemas que contienen sales y diferentes tipos de aceite, porque la fuerza iónica modifica su compatibilidad y por ende la estabilidad del sistema. Además, los arreglos estructurales en la interface modifican su adsorción y funcionalidad. A pesar de los inconvenientes que los compuestos tensioactivos presentan para su uso extensivo en emulsiones, existen alternativas de sustitución. Los polímeros de alto peso molecular como proteínas, almidones modificados y los arabinogalactanos – macromoléculas con propiedades emulsionantes – representan alternativas factibles para la sustitución parcial o total de los compuestos tensioactivos.

Estas macromoléculas prolongan la estabilidad de las emulsiones de tipo aceite-en-agua mediante su absorción en la superficie de los glóbulos de aceite formando una red densa. Los arabinogalactanos o polisacáridos como la goma arábiga, funcionan de manera similar, formando una capa protectora alrededor del glóbulo de aceite (Guzey & McClements, 2007). Ambas macromoléculas resisten cambios de pH. La ionización en los

residuos o cadenas que forman parte de la macromolécula, forman una barrera electrostática alrededor del glóbulo de aceite. Estas macromoléculas resisten la hidrólisis por cambio de pH, más que aquellas moléculas de menor tamaño, lo que conlleva a prolongar la estabilidad de las emulsiones estabilizadas con dichos compuestos.

## Emulsiones simples

Las emulsiones simples son clasificadas de acuerdo a la organización espacial de los glóbulos de aceite y agua (D.J. McClements, 2010; D.J. McClements, Decker, & Weiss, 2007), tal como se muestra en la Fig. 1. Ambas categorías utilizadas en la industria pueden dividirse en los siguientes grupos: *i*) emulsiones de tipo aceite-en-agua (O/W, acrónimo en inglés), donde glóbulos de aceite se dispersan en agua, por ejemplo: la leche, emulsiones para bebidas, yogurt, crema batida, helados, aderezos para ensaladas, crema para café; y *ii*) emulsiones de tipo agua-en-aceite (W/O), donde glóbulos de agua están dispersos en aceite, por ejemplo: mantequilla, margarina, etc (D.J. McClements, 2010). El tipo de emulsión determina sus propiedades físicas y químicas. Aunque las emulsiones también pueden ser clasificadas en base a su morfología; tamaño y distribución de tamaño de los glóbulos dispersos en el medio continuo.

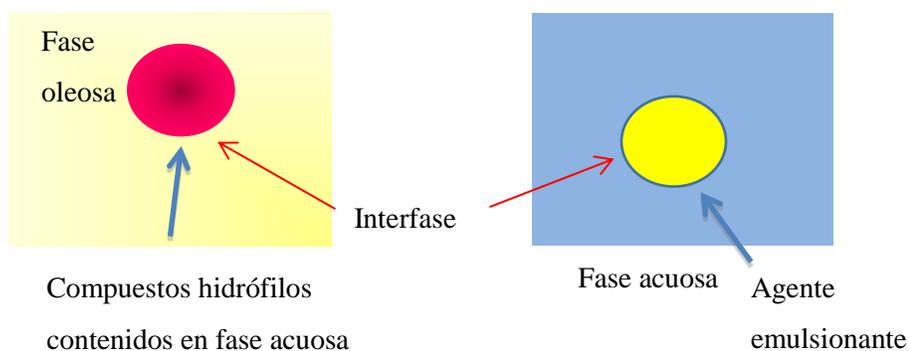


Fig. 1. Diagrama general que ilustra la estructuración de sistemas aceite-agua y agua-aceite.

## **Aplicación de emulsiones simples**

Entre las principales aplicaciones de emulsiones haremos énfasis en su uso como un vehículo de dispersión, especialmente porque una gran cantidad de moléculas son insolubles en medios hidrófilos. La dispersión en emulsiones ha permitido el suministro de muchos compuestos químicos durante las últimas décadas, en diferentes campos de la industria. Por ejemplo, las mayores áreas de aplicación son los fabricantes de medicamentos, cosméticos y alimentos. El principal enfoque en ésta última, donde los diversos materiales de interés se han centrado en el acarreo y protección de fitoquímicos (principalmente compuestos polifenólicos), aceites esenciales, moléculas hidrofóbicas como agentes enturbiantes, vitaminas liposolubles, colores naturales y antioxidantes. Estos compuestos han sido emulsionados para potenciar su dispersión, permitir su aplicación, prolongar su estabilidad y funcionalidad. La adición de polisacáridos para facilitar la dispersión de los glóbulos de aceite ha permitido dosificar y estandarizar dichos compuestos contenidos en emulsiones.

La forma de integrar los diversos compuestos ha sido a través de homogeneización y adición de tensioactivos. En la fase hidrófila se dispersan todas las sustancias solubles en agua, por ejemplo; tensioactivos o polisacáridos con propiedades emulsionantes, los cuales permiten formar emulsiones de orden micrométrico o nanométrico (Piorkowski & McClements, 2014). El tamaño de los glóbulos está relacionado con la modificación de las propiedades fisicoquímicas de la matriz final, que modifica los atributos como la apariencia, textura, color, aroma y sabor. Cabe destacar que la calidad y reproducibilidad de la formación de las emulsiones, depende en gran medida del tipo de materias primas y control de proceso.

Entre las aplicaciones más destacadas, puede mencionarse la encapsulación de compuestos polifenólicos, los cuales pueden ser utilizados en forma líquida o deshidratados, o combinados con algunos aceites poliinsaturados, con la finalidad de potencializar los efectos antioxidantes. Los compuestos fenólicos son compuestos antioxidantes de distinta naturaleza química. La protección por medio de emulsiones puede

reducir su degradación y preservar sus propiedades funcionales (Watson, Preedy, & Zibadi, 2013, pp. 37-38). Lo anterior, lleva a establecer que el diseño de las emulsiones juega un papel importante en la estabilidad y protección de los compuestos polifenólicos contra los factores oxidativos del medio ambiente, y en consecuencia mantener su funcionalidad durante su aplicación en alimentos.

La tecnología de preparación de emulsiones, donde los agentes emulsionantes no están constituidos por tensioactivos o macromoléculas, sino mediante el uso de partículas sólidas, ha comenzado a tener mayor auge. Han sido propuestos para proteger compuestos polifenólicos como la quercetina y el galato de epigallocatequina. Aunque, sigue siendo común el uso de tensioactivos y polisacáridos en la preparación de nanoemulsiones. Porque han prolongan las propiedades antioxidantes de este tipo de compuestos, en comparación los polifenólicos libres en un extracto acuoso, los cuáles al cabo de cuatro horas demuestran haber perdido su funcionalidad (Parisi *et al.*, 2014).

El interés por los compuestos polifenólicos ha explorado otros métodos de preparación como la emulsificación y remoción de solventes y la nanoprecipitación de cristales para lograr su estabilización. El alto porcentaje de encapsulación en matrices de metoxi poli etilenglicol-poli(caprolactona) ha sido de más del 90%, permitiendo obtener productos como el resveratrol y curcumina para tratar diversos padecimientos crónico-degenerativos. Sin embargo, es necesario estimar la estabilidad e inestabilidad de las emulsiones. Para entregar compuestos bioactivos activos que cumplan con sus propiedades funcionales (Huang, Yu, & Ru, 2010).

## **Estabilidad de emulsiones**

Mantener ambas fases aceite-en-agua o agua-en-aceite (emulsiones) durante un determinado tiempo, se denomina “estabilidad de la emulsión”, es una forma de describir que se mantienen las propiedades deseadas. Pero, existen mecanismos fisicoquímicos que modifican sus propiedades y frecuentemente, es necesario discernir cuales son los principales mecanismos que gobiernan la estabilidad de éstas. Los mecanismos son

importantes, porque son una forma de aplicar las estrategias necesarias para prolongar la estabilidad y funcionalidad del sistema en cuestión.

Los mecanismos físicos de inestabilidad que ocurren en las emulsiones son: cremado y sedimentación, ambos fenómenos se originan debido a efectos gravitacionales. Este fenómeno puede reducirse minimizando la diferencia de densidad de las fases inmiscibles (Chanamai & McClements, 2000). El cremado puede describirse como el movimiento ascendente de los glóbulos microscópicos de aceite, principalmente porque la densidad es menor que el líquido acuoso que los contiene; mientras que la sedimentación ocurre cuando los glóbulos microscópicos de aceite tienen densidad mayor que el medio que los contiene, y sedimentan. Ambos procesos son reversibles. Otros mecanismos de inestabilidad son la floculación y coalescencia, los cuales son procesos de agregación de los glóbulos de la fase dispersa. La floculación se produce cuando más de dos glóbulos se agregan conservando su forma y dimensión individual, mientras que la coalescencia ocurre cuando dos o más glóbulos se fusionan y forman un glóbulo de mayor volumen. La agregación continua de glóbulos y formación de glóbulos de mayor volumen, conducen a la formación de una capa superficial de la fase menos densa, y por ende, el rompimiento de la emulsión. La floculación, cremado, coalescencia, coalescencia parcial, inversión de fases, son procesos físicos de inestabilidad de las emulsiones. Una forma de observar la inestabilidad por estos procesos es a través de su distribución de tamaño de los glóbulos en la emulsión. La distribución de tamaño depende del tiempo (D.J. McClements, 2004; Walstra, 2002). A continuación, se describe a detalle cada uno de los mecanismos mencionados anteriormente.

### *1. Cremado*

El cremado en emulsiones de tipo aceite-en-agua puede describirse como el movimiento de los glóbulos hacia la parte superior del sistema, bajo el efecto de gravedad. El movimiento hacia arriba es porque se supera el movimiento de difusión browniana. Generalmente, el cremado se presenta básicamente, por dos efectos principales, el tamaño de glóbulo de aceite y por diferencia de densidad, entre las fases involucradas. En el caso

de tamaño de partícula, cuando el diámetro supera 200 nm. Mientras que, sí se supera una diferencia de densidad ( $\Delta\rho$ ) por arriba de 0.1, ocurre cremado. La difusión browniana se define como el movimiento caótico y choques entre partículas o moléculas no compensadas que se mantienen en una solución ( $kT$ , donde  $k$  es igual a  $1.38064 \times 10^{-23}$  J/K =  $1.38065 \times 10^{-16}$  ergios/K,  $T = K$ ) (T. Tadros, 2004). La ecuación 1, describe de forma particular el movimiento dependiente de la energía. Mientras que, en la sedimentación ocurre un proceso inverso. En ninguna de las dos situaciones, los glóbulos de la emulsión pierden su individualidad, por lo que, su distribución y tamaño de glóbulos no cambian con el tiempo.

$$\frac{4}{3}\pi R^3 \Delta\rho g L \gg kT. \quad \text{Ecuación 1}$$

donde:  $R$  es el tamaño de los glóbulos en la emulsión,  $L$  es la altura del recipiente,  $\Delta\rho$  es la diferencia de densidades entre la fase acuosa y oleosa,  $g = 9.8 \text{ m/s}^2$ . Una forma ilustrativa, se basa en determinar la velocidad inicial ( $v_0$ ) de cremado o sedimentación en función de la ley de *Stokes*, principalmente para emulsiones diluidas (cuando la fracción volumétrica  $\phi < 0.01$ ).

$$v_0 = - \left[ \frac{2R_{particula}^2 \Delta\rho g}{9\eta_o} \right] \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde  $\Delta\rho = \rho_{particula} - \rho_o$ ,  $\eta_o =$  es la viscosidad del medio (agua para emulsiones aceite-en-agua y aceite para emulsiones agua en aceite,  $R_{particula} =$  radio de la partícula,  $\rho_o =$  densidad de la fase acuosa y  $g$  es la aceleración debido a la gravedad ( $9.8 \text{ m/s}^2$ ). El modelo de *Stokes* puede predecir la velocidad de cremado en función del tamaño de partícula, principalmente cuando el valor de diámetro supera 200 nm. Por ejemplo: Cuando el diámetro de los glóbulos de aceite es mayor que  $2 \mu\text{m}$  y, la diferencia de densidad en la emulsión es mayor al 20% de diferencia (fase oleosa-acuosa) la velocidad de cremado o sedimentación es alta  $> 4.4 \times 10^{-5} \text{ ms}^{-1}$  (T. Tadros, 2004).

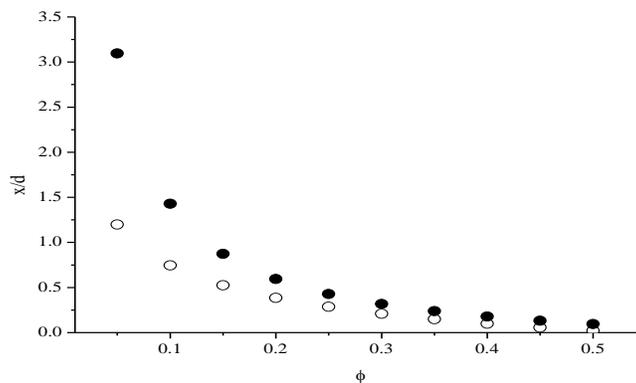
Por otra parte, para emulsiones con una fracción volumétrica ( $\phi$ ) entre 0.1 y 0.2, la ley de Stokes no es válida y –en la determinación de velocidad de cremado o sedimentación– se reduce a:

$$v = v_0(1 - 6.55\phi) \quad \text{Ecuación 3.}$$

Lo que significa que para una emulsión con una  $\phi = 0.1$ ,  $v$  es reducida en aproximadamente  $0.65v_0$ , mientras que cuando  $\phi > 0.2$ ,  $v$  se convierte en una función compleja dependiente de  $\phi$ . La velocidad de sedimentación o cremado decrece exponencialmente como incrementa  $\phi$ , y se intuye que tiende a cero. Pero, conforme la velocidad ( $v$ ) decrece, se aproxima a una máxima fracción de empaquetamiento, el cual es aproximadamente 0.7 para emulsiones sencillas (T. Tadros, 2004; Walstra, 2002, pp. 295-296). El empaquetamiento de glóbulos de aceite en una emulsión, está relacionado con el número de glóbulos presentes por unidad de volumen para una fracción dada. Walstra (2002), mencionó que la distancia libre entre glóbulos puede definirse al menos de dos maneras, un arreglo regular cúbico y uno esférico. Donde la distancia está en función de la fracción volumétrica de fase dispersa ( $\phi$ ). La fracción volumétrica determina el movimiento de glóbulos, y si pueden moverse libremente, sin tocarse entre sí, asumiendo un movimiento al azar, donde  $\phi_{max}$  es igual a 0.7. La distancia basada en ambas ecuaciones 4 y 5 es dependiente de la fracción  $\phi$ . Además, cuando  $\phi$  es muy baja la diferencia de empaquetamiento calculada es alta (Walstra, 2002).

$$x = d \left( \frac{0.81}{\phi^3} - 1 \right) \quad \text{Ecuación 4}$$

$$x = \frac{d}{6} \left( \frac{1}{\phi} - \frac{1}{\phi_{max}} \right) \quad \text{Ecuación 5.}$$



Gráfica 1. Perfil de empaquetamiento ( $x/d$ ; distancia) de glóbulos de aceite en emulsiones de orden micrométrico calculado en el intervalo de  $\phi < 0.5$ .

## 2. *Floculación*

La floculación es un fenómeno mediante el cual los glóbulos contenidos en una emulsión se asocian mutuamente debido a fuerzas de atracción neta inter-partícula. La magnitud atractiva entre los glóbulos y, fracción volumétrica son parámetros importantes en el fenómeno de floculación, a pesar de mantener los glóbulos individualmente. El proceso de floculación está controlado por las fuerzas electrostáticas de van der Waals, y repulsivas de tipo estéricas y de hidratación. Este fenómeno puede ser un atributo o detrimento importante, que depende de la aplicación de la emulsión. La floculación es el primer fenómeno debido al efecto de la gravedad en las emulsiones con bajo valor de  $\phi$ , es decir, el empaquetamiento entre los glóbulos dispersos es bajo. En consecuencia, son emulsiones diluidas, y tienen un tiempo de vida de anaquel reducido.

La floculación modifica de manera importante la viscosidad de la emulsión. El aumento de la viscosidad puede estar relacionado con el cambio de estructura de la emulsión y formar geles. El control de la floculación en productos de baja viscosidad puede ser perjudicial, mientras que, en otros, la floculación controlada puede ser deseable, porque cambia la textura. Los productos alimenticios, deseables basados en emulsiones dependen de factores que determinan el grado de formación de flóculo, la estructura del flóculo formado, energía de enlace que mantiene unidas a las gotitas en el conjunto del flóculo, y la tasa de floculación (D.J. McClements, 2004; T. F. Tadros, 2009; Walstra, 2002).

Es importante entender el efecto que imparte la floculación. Principalmente, en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales; vida de anaquel, textura y apariencia en emulsiones. La textura puede interpretarse en función de las propiedades fisicoquímicas, concentración de fase dispersa, tamaño y distribución de glóbulo y, por medio de reología interfacial (T. F. Tadros, 2009). También por las propiedades que controlan la agregación de los glóbulos (floculación o coagulación) y ruptura de membrana que mantiene individualmente la agregación de glóbulos, denominado también fragmentación de agregados (coalescencia).

### 3. *Coalescencia*

La coalescencia de glóbulos de aceite emulsionado puede ser definida como un proceso físico de fusión de dos o más glóbulos de aceite en un glóbulo de mayor tamaño. Proceso de separación de las fases de una emulsión, por efectos de atracción. La inestabilidad puede ser observada en los cambios de distribución de glóbulos de aceite y por la reorganización de las moléculas que participan en la emulsión. Los cambios de distribución de los glóbulos de aceite contenidos en la emulsión, se observan cuando se presenta cremado, coalescencia, floculación, inversión de fase (D.J. McClements, 2004; Sjoblom, 2005). El proceso de coalescencia es difícil de observar a simple vista. Mientras la oxidación e hidrólisis de los principios activos dispersados en los glóbulos de aceite, son ejemplos de inestabilidad química (Boon *et al.*, 2008; D. McClements & Decker, 2000).

El fenómeno de coalescencia se debe al movimiento continuo de los glóbulos de aceite en el medio continuo, y puede ocurrir en emulsiones cremadas, sedimentadas o floculadas. Debido, al exceso de energía en forma de energía térmica, gravedad, o fuerza mecánica aplicada. El movimiento continuo al azar y el nivel de empaquetamiento de los glóbulos en el medio continuo, logran cierta cercanía que ocasionan choques frecuentes entre éstos. El choque entre los glóbulos modifica su forma y configuración ocasionando agregación. Cuando la asociación de glóbulos de aceite ocurre por floculación y coalescencia rápidamente, se dice que el proceso requiere de energía para reintegrar ambas fases (proceso irreversible). La coalescencia es el principal mecanismo de inestabilidad en las emulsiones, el mezclado integra ambas fases a su estado inicial. Pero durante el tiempo, se separan las fases, ambas son termodinámicamente de mayor estabilidad. La inestabilidad reduce el área de superficial de contacto entre los glóbulos de aceite y el medio continuo. Puede intuirse que la colisión y rompimiento de la película que los mantiene separados, forman una solo glóbulo macroscópico. El proceso, puede describirse por el decremento lineal –valor logarítmico– del diámetro promedio de los glóbulos en la emulsión, en función del tiempo. La inestabilidad por coalescencia de los glóbulos microscópicos contenidos en la emulsión es un proceso independiente del tiempo.

La estabilidad contra la coalescencia está principalmente determinada por cinco principales puntos. El primero, depende de la estructura molecular del tensioactivo, que determina la resistencia de la película interfacial. El segundo, está determinado por la morfología de los glóbulos de aceite en el medio continuo. El tercer punto, está determinado por una fracción volumétrica menor de aceite y, en consecuencia, mayor fracción de fase continua, dentro de la emulsión, puede minimizar la coalescencia. El cuarto punto está determinado por la estructura tipo gel, que garantiza la alta estabilidad contra la coalescencia. El último punto está determinado por la modificación de proteínas o polisacáridos en su estructura, los cuales pueden tener mayor absorción en la fase de aceite, formando una película resistente, que impida la coalescencia (Palazolo, Sorgentini, & Wagner, 2005). Mientras que, el proceso de formación de emulsión, requiere de energía y no es espontaneo (Jafari, Assadpoor, He, & Bhandari, 2008; Sherman, 1968).

#### *4. Inversión de fases*

La inversión de fase es el proceso mediante el cual, una emulsión de aceite-en-agua cambia a agua-en-aceite o el proceso inverso. Este cambio en algunos productos alimenticios puede ser un proceso deseable, mientras que, en otros es inconveniente. Pues afecta la textura y estabilidad. Modifica además, los parámetros sensoriales. El fenómeno de inversión de fase está fundamentado en la elección de los agentes emulsionantes. Por ejemplo, los compuestos derivados de óxido de etileno, son dependientes de la temperatura. La fisicoquímica de inversión de fases aún no ha sido explicada. Incluye fenómenos como la floculación, coalescencia parcial o total, y/o formación de emulsión.

En inversión de fases existe un punto de equilibrio donde pueden existir emulsiones aceite-en-agua, agua-en-aceite, emulsión múltiple y fases bi-continuas. También se ha establecido que, la formación de emulsiones preparadas a bajas temperaturas forma emulsiones acuosas, denominadas Winsor I. En intervalos de temperatura puntuales se obtienen microemulsiones Winsor III y, se dice que son estables. Mientras que, a temperaturas elevadas, las microemulsiones invierten la fase continua, el agua se encuentra

dispersa en el aceite, denominadas Winsor II. El comportamiento de cambio de fase se debe a un proceso de desorción en la monocapa interfacial. La desorción se debe a un cambio en la curvatura de los glóbulos de aceite, dispersos en el medio continuo, que dependen de temperatura. Proceso frecuente en las emulsiones que son inestables termodinámicamente. La temperatura de inversión de fase (PIT) es crucial, en la preparación de emulsiones. Por ejemplo, debajo de PIT las emulsiones son del tipo aceite-en-agua, pero, una temperatura mayor que PIT, las emulsiones son agua-en-aceite. Una consideración, durante la preparación de emulsiones, es evitar temperaturas cercanas al valor PIT crítico, a menos que ese sea el objetivo. El valor crítico, favorece la coalescencia instantáneamente. La inversión de fase en la emulsión está determinada por la naturaleza química, concentración de los compuestos emulsionantes, aceite utilizado, condiciones ambientales, tipo de disolvente y, por supuesto, la temperatura. Además del arreglo molecular entre el emulsionante y aceite, que pueden modificar la estructura de la mono-capa interfacial (Friberg, Larsson, & Sjoblom, 2003; D.J. McClements, 2004; Piorkowski & McClements, 2014; T. Tadros *et al.*, 2004).

### **Principales causas de inversión de fases**

La inversión de fases en emulsiones alimenticias puede ser convenientemente dividida en dos categorías diferentes de acuerdo a su origen. La primera depende del tipo molécula tensioactiva utilizada. El tensioactivo modifica la afinidad y forma de adsorción de la molécula tensioactiva en respuesta de los cambios ambientales. También modifica la fuerza iónica, el balance hidrofílico-lipofílico, y temperatura de inversión de fases. El segundo tipo de inversión de fase se debe a una cristalización inducida por cristales de grasa o aceite contenidos en la emulsión. Cuando la emulsión se enfría, los glóbulos de la emulsión presentan tanto el estado líquido-sólido y, el mezclado, presenta la inversión de fase. Generalmente se obtiene una emulsión agua-aceite, la floculación y coalescencia parcial, forman una red de cristales de grasa continua que atrapa agua en su interior. Frecuentemente, el proceso de inversión de fases se usa para obtener mantequilla y margarina. La fracción volumétrica de la fase dispersa, tipo y concentración de tensioactivos agregados, control de mezclado y presión en preparación de emulsiones,

determinan la importancia en el control de la inversión de fases. Bajas tasas de mezclado no integran ambas fases, obteniendo una emulsión con una fase homogénea donde coexisten ambos componentes. Otro de los factores importantes, es la temperatura, un aumento o disminución puede inducir la inversión de fases, siempre que los componentes o principios bioactivos no modifiquen su naturaleza química. Los principales cambios por modificación de temperatura se reflejan en cambios en el reordenamiento geométrico de los tensioactivos o emulsionantes en su cristalización, por lo que la elección de agentes emulsionantes, resultan clave, en el tratamiento posterior. Por ejemplo la pasteurización, almacenamiento a altas temperaturas o incluso temperatura ambiente (D.J. McClements, 2004; T. F. Tadros, 2009; Walstra, 2002).

##### *5. Maduración de Ostwald*

El control de tamaño y distribución de los glóbulos de fase dispersa es crucial en la preparación de micro-emulsiones. La maduración de Ostwald es un proceso de inestabilidad de micro-emulsiones, por lo que se trata brevemente. La inestabilidad física se produce cuando los glóbulos de aceite, cristales o moléculas en forma de gas tienen cierta solubilidad en el medio continuo. El principal fenómeno que ocurre es la diferencia de solubilidad entre los glóbulos pequeños y los de mayor tamaño. El aumento de los glóbulos ocurre a expensas de esa diferencia de solubilidad. Principalmente por el proceso de difusión másica de un glóbulo contenido en la fase dispersa que viaja a otra, a través de la fase continua. Una forma de determinar macroscópicamente este proceso es cuando las micro-emulsiones pierden la translucidez con el tiempo, debido al aumento de tamaño de los glóbulos distribuidos en el medio continuo (D.J. McClements, 2004; T. Tadros *et al.*, 2004; Wooster, Golding, & Sanguansri, 2008). La maduración de Ostwald ocurre entre partículas sólidas, líquidas, gaseosas y sus combinaciones, potenciadas principalmente por agitación (Walstra, 2002). Una forma de monitorear la estabilidad de las micro-emulsiones y cuantificar los cambios que ocurren macroscópicamente, es medir la distribución, turbidez y tamaño de los glóbulos dispersos en medio continuo. A continuación, se resume brevemente.

## **Determinación de tamaño y distribución de partícula**

Como se ha mencionado, la estabilidad de una emulsión puede ser determinada por su apariencia, pero no da información cuantitativa acerca de esta. Por el tamaño glóbulos microscópicos contenidos en ésta y por su distribución (Rao & McClements, 2011). La estabilidad al cremado de una emulsión se incrementa, sí ambos parámetros permanecen constantes durante un determinado tiempo. Entre los métodos de importancia se ha mencionado la difracción de rayos láser monocromático, típicamente en la región micrométrica. El diámetro determinado es una magnitud que indica cómo se difunde la partícula en el fluido. La magnitud resultante se denomina diámetro hidrodinámico. El tipo de iones y concentración –fuerza iónica–, pueden modificar la velocidad de difusión, también, cambia de la doble capa eléctrica alrededor de la partícula. La fuerza iónica modifica la conductividad. La conductividad del fluido modifica la estructura de la doble capa de iones alrededor de la partícula. La conductividad del fluido modifica la velocidad de difusión. Menor velocidad de difusión, tiene como resultado un diámetro mayor aparente en el radio hidrodinámico (Arzenšek, Podgornik, & Kuzman, 2010). Esta técnica ha sido utilizada como una herramienta en investigación, desarrollo y monitoreo en la estabilidad de productos.

En la medición de tamaño por difracción de rayo láser, la luz, pasa a través de una muestra de partículas dispersas en medio acuoso, suficientemente diluida. La luz se dispersa en función del tamaño de partícula. Un algoritmo, calcula la variación angular de la intensidad de luz que se dispersa. Las partículas relativamente grandes dispersan la luz en ángulos pequeños en relación con el haz de láser incidente. Mientras que las partículas pequeñas dispersan luz en ángulos mayores. El espectro de luz e intensidad de dispersión es utilizada para determinar el tamaño de las partículas microscópicas por medio de detectores sensibles a la luz. El espectro de dispersión e intensidad está basado en la teoría de Rayleigh y, la teoría de Mie (Arzenšek *et al.*, 2010; Dodge, Rhodes, & Reitz, 1987; Kaszuba, McKnight, Connah, McNeil-Watson, & Nobbmann, 2008). El resultado de tamaño de partícula se reporta como el diámetro volumétrico equivalente de la esfera.

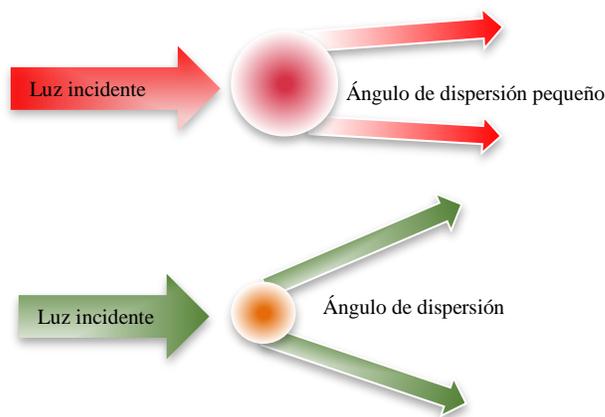


Fig. 2 Ángulo de dispersión en función de tamaño de glóbulo, fuente: (Arzenšek *et al.*, 2010; <https://www.malvern.com/en/products/product-range/mastersizer-range/index.html>).

La difracción de luz es el resultado de dispersión de luz láser que ha incidido sobre las partículas o glóbulos contenidos en el medio acuoso analizado. La intensidad de difracción depende de las características de las partículas analizadas (tamaño, concentración e índice de refracción). El resultado sobre la distribución del tamaño de glóbulo y concentración es determinado mediante el ajuste de valores de acuerdo al espectro de difracción determinado y el predicho por la teoría de dispersión de luz. La teoría de Mie asume que el número de fotones de luz láser es proporcional al número de partículas (Arzenšek *et al.*, 2010). Lo anterior, significa que las partículas deben ser diluidas (<0.1% de partículas) para evitar efectos de dispersión múltiple. Los instrumentos de medición en el mercado pueden medir diámetros de partícula entre 0.01 a 3500  $\mu\text{m}$ . El procedimiento establecido en el instrumento de medición de difracción de rayo láser depende del diseño. Debe realizarse una revisión detallada en el manual que acompaña cada equipo. El método de determinación específico debe consultarse particularmente en función del instrumento que exista en el laboratorio de instrumentación. La validación de tamaño de partícula, basado en una norma ISO debe de contar con estándares certificados que validen los instrumentos de difracción de rayos láser (D. J. McClements, 2001).

Otra técnica comúnmente empleada para establecer tanto el valor promedio como la distribución de tamaño de glóbulo de las emulsiones, se basa en el principio que utilizan las

tecnologías Coulter. Este método puede usarse para medir cualquier material particulado que pueda ser suspendido en una solución electrolítica, con la finalidad de contar y clasificar las partículas usando medidas de su impedancia. Las partículas pueden ser tan pequeñas como  $0.2 \mu\text{m}$  y tan grandes como  $1600 \mu\text{m}$  de diámetro. Los instrumentos en el mercado consisten de un tubo con una pequeña abertura en la pared que se sumerge en un recipiente en el que las partículas se suspenden en un electrolito de baja concentración (Fig. 3).

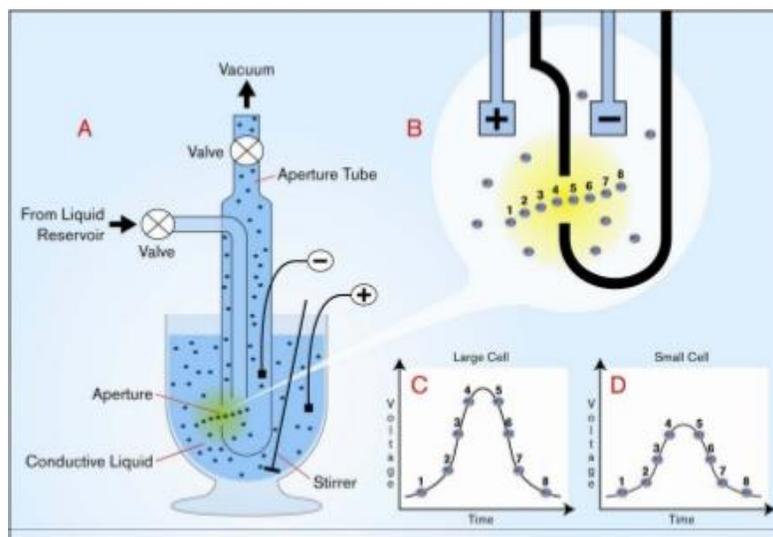


Fig. 3 Principio del contador de partículas Coulter counter. (Tomado de Shapiro, 2011, (<https://es.slideshare.net/kshapiro/coulter-counter-for-cellular-bio-applications>)).

Dos electrodos, uno dentro del tubo de apertura y otro fuera del tubo, crean un recorrido de corriente a través del electrolito cuando se aplica un campo eléctrico. Entonces se mide la impedancia (resistencia efectiva) entre los electrodos. Por lo tanto, la abertura crea una "zona de detección" y las partículas suspendidas en el electrolito pueden contarse pasándolas a través de la abertura. Es decir, cuando una partícula pasa a través de la abertura, un volumen de electrolito equivalente al volumen sumergido de la partícula es desplazado desde la zona de detección. Esto provoca un cambio a corto plazo en la impedancia a través de la abertura que se puede medir como un impulso de voltaje o corriente, donde la altura del pulso es proporcional al volumen de la partícula detectada. En

este sentido, el número y el volumen de cada partícula que pasa a través de la abertura pueden ser registrados y digitalizados electrónicamente junto con varios parámetros clave que describen cada pulso como la altura del pulso, la anchura del pulso, la marca de tiempo, el área del pulso, etc., donde el volumen de partícula se representa en función del diámetro esférico equivalente y a partir de este punto, puede obtenerse la distribución del tamaño de partícula.

Para el caso de aquellos sistemas cuyo tamaño o distribución de tamaño de glóbulo se encuentra por debajo de los límites de detección de las dos técnicas anteriores se utiliza espectroscopia de correlación de fotones PCS (Photon Correlation Spectroscopy) o dispersión QELS (Quasi Elastic Light scattering). Técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión, o macromoléculas en solución tales como proteínas o polímeros. La luz láser interacciona con las partículas que hay en suspensión, y se dispersa en todas las direcciones posibles. Si se separa una dirección, los haces de luz dispersados por distintas partículas interfieren entre sí y se obtiene una intensidad de dispersión determinada. Como consecuencia del movimiento browniano las posiciones relativas de las partículas varían constantemente entre sí, cosa que también provoca cambios en las condiciones de interferencia y en la propia intensidad de dispersión. Si las partículas se mueven rápidamente (partículas pequeñas), también se acelera la variación de la intensidad de dispersión. Por el contrario, las partículas lentas (grandes) llevan a variaciones más lentas. Por norma general, en la dispersión de luz dinámica, en la suspensión de la muestra permanece en reposo. El término "dinámica" no se refiere al movimiento de la muestra como un conjunto, sino a la "vibración" de las partículas que la componen. En los últimos años, dispersión de luz dinámica (DLS) se ha convertido en un método popular para abordar y comprender mejor el diseño de materiales altamente ordenados y nanoestructurados (Cuadros-Moreno, Pimentel, Martín-martínez, & Yañez, 2014)

## **Formación controlada de micro-partículas y micro-sistemas desde el nivel molecular**

Continuamente ha existido interés por diseñar nanopartículas a partir de fuentes orgánicas e inorgánicas para aplicarlas como sistemas acarreadores, mejorar la solubilidad o dispersión compuestos bioactivos. Como acarreadores para entregar compuestos fitoquímicos y potenciar su absorción, evitando las barreras de paso en los sistemas vivos (Avachat & Patel, 2015). Un método ha sido reduciendo su tamaño, forma y distribución de tamaño, o modificando la composición del material. El método de ensamblado permite obtener diferentes propiedades y aplicaciones.

La obtención de una nanopartículas que contienen en su núcleo un compuesto fitoquímico ha tenido gran importancia, porque tiene diversos beneficios en la salud humana. Su fabricación parte de soluciones de determinada composición, concentración, relación, y propiedades intrínsecas de las moléculas o átomos, para iniciar el ensamblaje. El ensamble puede controlarse por las interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacción hidrofóbica. La manufactura del ensamble depende de temperatura y tiempo de reacción. El desarrollo para controlar la posición del átomo, molécula, o compuesto bioactivo para lograr un efecto específico del nano ensamble, no existen suficientes contribuciones. Estos sistemas son de importancia porque se requiere desarrollar sistemas adecuados para evitar las reacciones de oxidación y acomplejamiento. La oxidación y el acomplejamiento reducen la actividad de principios bioactivos. Las nanopartículas autoensambladas son una forma de controlar la liberación de principios bioactivos o inactivos. La activación depende de sitio de aplicación. La activación puede realizarse en función de fuerza iónica, ion divalente o calor, dependiente de una reacción química. Una forma de ensamblaje que depende de reacciones químicas separadas.

La tecnología controlada de autoensamblaje a nivel molecular fue propuesta Sekiguchi *et al.*, (1960) para dispersar sulfatiazol poco soluble incrustado en urea (Hans de Waard, Frijlink, & Hinrichs, 2011)

La nanotecnología ha sido utilizada como una herramienta útil para diseñar nanopartículas con compuestos bioactivos, con aplicaciones en la industria alimenticia. Principalmente, en el diseño y desarrollo ingredientes modificados, para incrementar sus propiedades funcionales. Por ejemplo, alta solubilidad, estabilidad térmica, biodisponibilidad en el sitio específico, mejores atributos sensoriales y reducción de las cantidades que hasta hoy son elevadas para obtener un beneficio nutricional o terapéutico efectivo (Huang *et al.*, 2010). La nanotecnología, diseña y manipula la materia para fabricar sistemas coloidales de orden nanométrico. Basada, principalmente en dos grandes categorías. La primera, consiste en reducir sistemas de gran tamaño, suministrando energía; microfluidización, cavitación, homogeneización, molienda o secado por nano aspersión (reducción de tamaño a partir de sistemas macroscópicos) para obtener partículas de menor tamaño, principalmente de orden nanométrico, estructuración denominada “de arriba hacia abajo, o top-down”. La segunda vía está enfocada en el desarrollo controlado o ensamblado molecular, a partir de átomos, moléculas o macromoléculas con la adición de mínima energía para obtener partículas de mayor tamaño, proceso “de abajo hacia arriba o bottom-up”. El proceso de autoensamblaje puede ser espontáneo o dirigido (por ejemplo; la deposición electrostática de polímeros cargados sobre partículas de carga opuesta) (David Julian McClements, 2014; Mijatovic, Eijkel, & Van Den Berg, 2005; Seeman & Belcher, 2002). La tecnología se basa disoluciones de moléculas en un disolvente apropiado, luego la solución es adicionada en no-disolvente (Bhuyan, Rajak, & Nath, 2014). La tecnología de autoensamblado se basa principalmente en el proceso de nano precipitación (Keck & Müller, 2006; Merisko-Liversidge, Liversidge, & Cooper, 2003). El objetivo se fundamenta en incrementar la solubilidad de compuestos insolubles, de difícil aplicación en la industria, a través la nanotecnología. El autoensamblado utiliza el conocimiento químico, donde las asociaciones de las estructuras individuales se convierten en componentes mayores, que a su vez se enlazan hasta formar un sistema completo. Los sistemas desarrollados son nano y micro-partículas, micro compuestos, micro-emulsiones, micro-liposomas, hidrosoles, estructuras micro-amorfas, como sistemas para deposición, fluidos supercríticos, microcristales, y dispositivos de orden nanométricos. Se ha reportado que, pueden obtenerse materiales blandos, a partir de autoensamblado. Nanoestructuras con dimensiones

entre 2 a 100 nm (Shimomura & Sawadaishi, 2001), por ejemplo, estructuras peptídicas con pesos moleculares menores a 800 g/mol y liposomas con estructuras bien definidas.

La tecnología de autoensamblado en combinación con la reducción de tamaño “de arriba hacia abajo” ha sido utilizada para desarrollar sistemas de liberación controlada. Por ejemplo, emulsiones múltiples aceite-agua-aceite, con la ayuda de emulsionantes. En las cuales se reduce el tamaño de partícula para potenciar la solubilidad. En otros casos se adiciona polímeros por medio de deposición electrostática, que cubrirá los glóbulos de aceite resultantes, agua-aceite-agua (autoensamblaje, aumento de tamaño de partícula) (David Julian McClements, 2014). Una ventaja en el proceso de autoensamblado son diferentes tipos de superficies, componentes, área, y superficies químicas complejas, donde se planea construir bloques de construcción. Bloques en escala química y concentraciones del orden de pico-moles. En general, se plantea que puede controlarse la orientación y posición de los bloques. Mientras el proceso de reducción de tamaño, está limitado en la diversidad química (Seeman & Belcher, 2002). Las desventajas principales en el autoensamblado son estructuras que se encuentran en forma aleatoria, a menos que se combinen con estructuras obtenidas por reducción de tamaño de forma controlada. El enfoque de autoensamblado para formar estructuras específicas y definidas como dispositivos de micro-fluidos, aún no es posible. Los microfluidos no se desarrollan de forma regular –interconectados-, debido a la aleatoriedad de las reacciones químicas. La manufactura de estos sistemas es aun heterogénea. Los microfluidos son irregulares en tamaño de microcristales o nanocristales (H De Waard, Hinrichs, & Frijlink, 2008). Quizá una forma adecuada con mejor control sea utilizar la combinación de ambos sistemas para controlar las estructuras interconectadas (Mijatovic *et al.*, 2005).

El interés de controlar la estabilidad de compuestos bioactivos durante el procesamiento, almacenamiento y durante la vida de anaquel ha sido un objetivo principal. En el procesamiento para evitar su inactivación por reacción de oxidación. Igualmente, durante el almacenamiento de vida de anaquel. Las tecnologías de bottom-up y top-down han sido propuestas para manufacturar bioactivos sin modificar su estado inicial e

incrementar la solubilidad y absorción. La tecnología de bottom-up a partir de átomos o moléculas en disolución permite preparar sistemas nanodispersos.

En la industria alimenticia, la aplicación de la nanotecnología puede ser aplicada bajo dos tecnologías. Estas son el bottom-up y top-down. La tecnología de top-down, es un procesamiento físico cíclico de materiales, como la molienda, hasta reducir el tamaño de partícula en el orden de nanómetros. Tecnología usada en el procesamiento de cereales, donde se requiere obtener, tamaño de partícula fino, capaz de adsorber gran cantidad de agua. Se ha reportado que a medida que reduce el tamaño de partícula, por el proceso de top-down, se potencia la disolución de compuestos bioactivos, aumenta la digestión y absorción de nutrientes. La absorción promueve la acción de ingredientes activos específicos. Mientras, la tecnología de autoensamblaje y organización de átomos y moléculas, es un concepto biológico, que ha inspirado al desarrollo nanotecnológico en el proceso de bottom-up. La organización de micelas, lípidos y proteínas, azúcares polisacáridos, agua- en la célula, el plegamiento, la agregación, son ejemplos de estructura de autoensamble, que han creado unidades estables y funcionales. El agregado de múltiples unidades estables ha creado sistemas interconectados con funciones específicas. Puede decirse que es un proceso de auto organización a escala nanométrica, establecido por un equilibrio entre las fuerzas no covalentes. La auto-organización de nanocompuestos en sistemas biológicos por unidad másica, hasta ahora, cumplen una actividad biológica más activa que un conjunto de partículas de la misma composición. Esta perspectiva ha propuesto nuevas directrices para las aplicaciones alimenticias. Las nanopartículas, pueden potenciar la liberación de compuestos bioactivos, aumentar la digestión y absorción de nutrientes en los diferentes sitios de absorción. La absorción adecuada a través de alimentos funcionales puede potenciar el bienestar de la salud. Brindando beneficios fisiológicos, que puede reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas (Shimomura & Sawadaishi, 2001; Sozer & Kokini, 2009).

La tecnología de bottom-up “proceso de abajo hacia arriba, figura 4”. La tecnología se fundamenta en las fuerzas que interactúan entre los componentes. La construcción de estos

sistemas se basan en la interacción de van der Waals, electrostáticas, puentes de hidrógeno, hidrofóbicas, estéricas y las interacciones por depleción (David Julian McClements, 2014; Whitesides & Grzybowski, 2002; Yodh *et al.*, 2001). Una característica importante, es la interacción intermolecular. Los sistemas nano dispersos así obtenidos, son utilizados como acarreadores de compuestos bioactivos o compuestos con propiedades terapéuticas. Permiten protección cuando son sometidos a esfuerzos cortantes, calor y cambios de pH. El principal efecto de estos sistemas es su alta biodisponibilidad. A diferencia de los sistemas estructurados que consumen alta cantidad de energía para obtener nanopartículas (Bagchi, Moriyama, & Shahidi, 2012, p. 521). Las propiedades de las moléculas utilizadas en el autoensamblado, la organización, conformación y distribución, determinan finalmente las propiedades funcionales en el sistema y su eficacia.

El autoensamblado como la aspersión de líquido por congelamiento o nanoprecipitación en reactores de microfluidos, podrían ser los avances para preparar diversos nanocristales con múltiples aplicaciones. Actualmente, se utilizan para fabricar nanopartículas amorfas. Pero, una adaptación adecuada puede permitir la obtención de nanocristales.

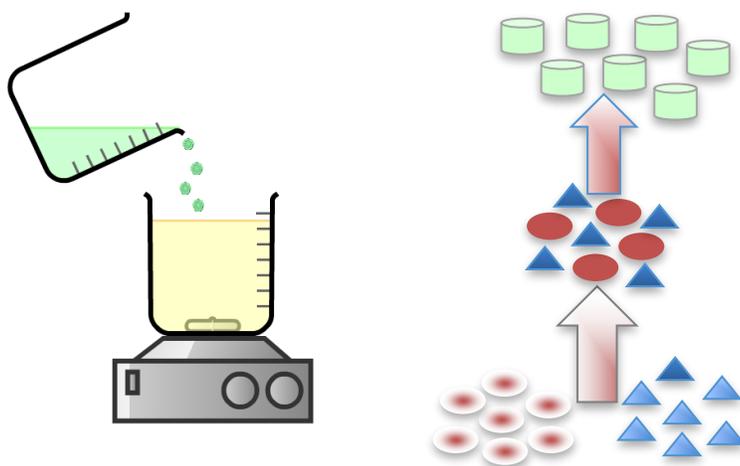


Fig. 4 Aproximación de ensamblaje molecular desde el punto de vista fisicoquímico para obtener nanopartículas. Dibujo basado en Bagchi *et al.*, 2012.

El desarrollo nanotecnológico, fundamentado en el concepto de la biología, se ha denominado como proceso de bottom-up. El proceso está inspirado en las células vivas. Un sistema de 'máquinas' complejas, altamente funcionales a partir de macromoléculas, incluyendo proteínas, involucradas en procesos celulares, la transferencia de información, metabolismo, transporte de sustancias, y funcionan precisamente en dichas escalas nanométricas (Bagchi *et al.*, 2012)

El autoensamblado, inicia por el diseño y la síntesis de encargo de moléculas que poseen la capacidad de autoreplicarse. Estas moléculas se organizan en estructuras de nanoescala. La autoreplicación es a menudo provocada por un cambio en la temperatura, presión y/o aplicación de electricidad en las sustancias químicas (Bagchi *et al.*, 2012).

## Conclusiones

Este capítulo muestra un panorama general de las aplicaciones de las emulsiones, macro, nano y microemulsiones. Las emulsiones son una alternativa tecnológica para incluir diversos compuestos lipofílicos o hidrofílicos. Dichos compuestos son dispersados para potenciar sus efectos organolépticos, modificar el cambio de textura, proteger un compuesto bioactivo de origen natural, impartir color y turbidez en muchos productos alimenticios. En la última década, se ha incrementado el potencial de compuestos fenólicos en productos funcionales alimenticios y su potencial terapéutico como una alternativa para prevenir enfermedades. Pero este tipo de sustancias son lábiles, y requieren protección por medio de emulsiones. En este punto, el proceso de bottom-up ha demostrado importancia para aumentar la solubilidad y disponibilidad de muchos compuestos. Por lo tanto, pensamos que las emulsiones, a pesar de tener más de cien años de aparición, seguirán siendo una tecnología alternativa para el desarrollo de productos. Aun así, se requiere conocer y comprender los impactos de todos aquellos compuestos de interés alimenticio o terapéutico.

## Referencias

Arzenšek, D., Podgornik, R., & Kuzman, D. (2010). *Dynamic light scattering and application to proteins in solutions*. Paper presented at the Seminar, Department of Physics, University of Ljubljana.

Avachat, A. M., & Patel, V. G. (2015). Self nanoemulsifying drug delivery system of stabilized ellagic acid–phospholipid complex with improved dissolution and permeability. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), 276-289.

Bagchi, M., Moriyama, H., & Shahidi, F. (2012). *Bio-nanotechnology: a revolution in food, biomedical and health sciences*: John Wiley & Sons.

Bhuyan, B., Rajak, P., & Nath, L. (2014). World Journal of Pharmaceutical ReseaRch.

Boon, C. S., Xu, Z., Yue, X., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. A. (2008). Factors Affecting Lycopene Oxidation in Oil-in-Water Emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(4), 1408-1414. doi:10.1021/jf072929+

Cameron, D. R., Weber, M. E., Idziak, E. S., Neufeld, R. J., & Cooper, D. G. (1991). Determination of interfacial areas in emulsions using turbidimetric and droplet size data: correction of the formula for emulsifying activity index. *Journal of agricultural and food chemistry*, 39(4), 655-659.

Cuadros-Moreno, A., Pimentel, R., Martín-martínez, E., & Yañez, J. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Lat. Am. J. Phys. Educ. Vol*, 8(4), 4314-4311.

Chanamai, R., & McClements, D. J. (2000). Impact of weighting agents and sucrose on gravitational separation of beverage emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5561-5565.

de Waard, H., Frijlink, H. W., & Hinrichs, W. L. (2011). Bottom-up preparation techniques for nanocrystals of lipophilic drugs. *Pharmaceutical research*, 28(5), 1220-1223.

De Waard, H., Hinrichs, W., & Frijlink, H. (2008). A novel bottom–up process to produce drug nanocrystals: controlled crystallization during freeze-drying. *Journal of Controlled Release*, 128(2), 179-183.

Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473–1482.

Dodge, L. G., Rhodes, D. J., & Reitz, R. D. (1987). Drop-size measurement techniques for sprays: comparison of Malvern laser-diffraction and Aerometrics phase/Doppler. *Applied Optics*, 26(11), 2144-2154.

Flanagan, J., & Singh, H. (2006). Microemulsions: a potential delivery system for bioactives in food. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(3), 221-237.

Fligner, K., Fligner, M., & Mangino, M. (1991). Accelerated tests for predicting long-term creaming stability of infant formula emulsion systems. *Food Hydrocolloids*, 5(3), 269-280.

Friberg, S., Larsson, K., & Sjoblom, J. (2003). *Food emulsions*: CRC Press.

Guzey, D., & McClements, D. (2006). Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128(130), 227-248.

Guzey, D., & McClements, D. J. (2007). Impact of electrostatic interactions on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by  $\beta$ -lactoglobulin-pectin complexes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(2), 475-485.

<https://es.slideshare.net/kshapiro/coulter-counter-for-cellular-bio-applications>.

<https://www.malvern.com/en/products/product-range/mastersizer-range/index.html>.

Huang, Q., Yu, H., & Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Food Science*, 75(1), R50-R57.

Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1191-1202.

Kaszuba, M., McKnight, D., Connah, M. T., McNeil-Watson, F. K., & Nobbmann, U. (2008). Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(5), 823-829.

Keck, C. M., & Müller, R. H. (2006). Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62(1), 3-16.

Kuentz, M. (2011). Oral self-emulsifying drug delivery systems, from biopharmaceutical to technical formulation aspects. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 21(1), 17-26.

Mason, T. G., Wilking, J., Meleson, K., Chang, C., & Graves, S. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18(41), R635.

McClements, D., & Decker, E. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-*, 65(8), 1270-1283.

McClements, D. J. (2001). Emulsion Droplet Size Determination *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*: John Wiley & Sons, Inc.

McClements, D. J. (2004). *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition*: Taylor & Francis.

McClements, D. J. (2010). Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. *Annual review of food science and technology*, 1, 241-269.

McClements, D. J. (2014). *Nanoparticle-and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds*: CRC Press.

McClements, D. J., Decker, E., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8).

Merisko-Liversidge, E., Liversidge, G. G., & Cooper, E. R. (2003). Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(2), 113-120.

Mijatovic, D., Eijkel, J., & Van Den Berg, A. (2005). Technologies for nanofluidic systems: top-down vs. bottom-up—a review. *Lab on a Chip*, 5(5), 492-500.

Palazolo, G. G., Sorgentini, D. A., & Wagner, J. R. (2005). Coalescence and flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in comparison with soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 19(3), 595-604.

Parisi, O., Puoci, F., Restuccia, D., Farina, G., Iemma, F., & Picci, N. (2014). Polyphenols and their formulations: different strategies to overcome the drawbacks associated with their poor stability and bioavailability. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 4, 29-45.

Piorkowski, D. T., & McClements, D. J. (2014). Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, 42, 5-41.

Rao, J., & McClements, D. J. (2011). Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1413-1423.

Robins, M. M., Watson, A. D., & Wilde, P. J. (2002). Emulsions—creaming and rheology. *Current opinion in colloid & interface science*, 7(5), 419-425.

Seeman, N. C., & Belcher, A. M. (2002). Emulating biology: building nanostructures from the bottom up. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(suppl 2), 6451-6455.

Sherman, P. (1968). *Emulsion science* (Vol. 6): Academic Press New York.

Shimomura, M., & Sawadaishi, T. (2001). Bottom-up strategy of materials fabrication: a new trend in nanotechnology of soft materials. *Current opinion in colloid & interface science*, 6(1), 11-16.

Sjoblom, J. (2005). *Emulsions and Emulsion Stability: Surfactant Science Series/61* (Vol. 132): CRC Press.

Sozer, N., & Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27(2), 82-89.

Tadros, T. (2004). Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108, 227-258.

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*, 108, 303-318.

Tadros, T. F. (2009). *Emulsion science and technology: a general introduction*: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Walstra, P. (2002). *Physical chemistry of foods*: CRC Press.

Watson, R. R., Preedy, V. R., & Zibadi, S. (2013). Polyphenols in human health and disease (pp. 37-38): Academic Press.

Whitesides, G. M., & Grzybowski, B. (2002). Self-assembly at all scales. *Science*, 295(5564), 2418-2421.

Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. *Langmuir*, 24(22), 12758-12765.

Yodh, A., Lin, K., Crocker, J. C., Dinsmore, A., Verma, R., & Kaplan, P. (2001). Entropically driven self-assembly and interaction in suspension. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 359(1782), 921-937.

# 6.NANOEMULSIONES/EMULSIONES SUB-MICRÓNICAS: MÉTODOS DE ALTA ENERGÍA.

**Angela Suárez Jacobo**

**Unidad noroeste, CIATEJ, A.C.**

[asuarez@ciatej.mx](mailto:asuarez@ciatej.mx)

## **Introducción**

Recientemente, el uso de nanoemulsiones está despertando un gran interés tanto en la comunidad científica como de la industria alimentaria debido a que representa una aplicación eficiente y viable para proteger y liberar sustancias activas <sup>1,2</sup> que, en su mayoría actúan en la prevención de ciertas enfermedades crónicas, de carácter degenerativo, como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, entre otras. Otras aplicaciones las encontramos en la industria farmacéutica en sistemas de liberación controlada <sup>2,3</sup> en formulaciones cosméticas y de cuidado personal<sup>4</sup>, en agroquímicos (plaguicidas)<sup>5</sup>, y en la industria química como medio de reacciones poliméricas<sup>6</sup>.

En los llamados alimentos funcionales, que además de ser nutritivos son capaces de ejercer efectos benéficos sobre el organismo por la presencia de compuestos bioactivos, presentan el inconveniente de la poca disponibilidad de tales compuestos causados por la degradación durante el proceso de elaboración, almacenamiento o interacción con otros componentes del sistema. Es importante aclarar que, las aplicaciones de la nanotecnología en la industria alimentaria son relativamente recientes, si bien la nanotecnología se encuentra actualmente implementada en la industria farmacéutica y cosmética mundial, su aplicación al dominio alimentario ha sido más lenta. En este caso, se ha encontrado un beneficio y uso potencial de las nanoemulsiones debido a su capacidad de transportar compuestos bioactivos, atravesar barreras mucosas, son estables a la sedimentación (minimizando la floculación y coalescencia de partículas), mejoran la absorción y la

biodisponibilidad, así como evitan la degradación de los compuestos bioactivos durante la elaboración o el almacenamiento del producto<sup>7-9</sup>.

Las nanoemulsiones son dispersiones coloidales termodinámicamente inestables de al menos dos líquidos inmiscibles, donde uno de ellos es dispersado en pequeñas gotas esféricas, de diámetros de entre 20 a 200 nm, en otro líquido<sup>9-11</sup>. Los términos como emulsiones sub-micrónicas, miniemulsiones y emulsiones ultrafinas son utilizados como sinónimos<sup>12</sup>. Aunque son termodinámicamente inestables, las nanoemulsiones pueden presentar una estabilidad cinética alta, siempre y cuando el tamaño de gota sea suficientemente pequeño y la capa de emulsificante provea de estabilidad estérica y/o electrostática.

Actualmente, las nanoemulsiones están siendo investigadas debido a la importancia que tiene su formulación, dependiendo de ésta, se puede mejorar la efectividad y disponibilidad de un compuesto bioactivo cuando son usadas como vehículo de liberación y adicionalmente mejoran la solubilidad de un compuesto activo de baja solubilidad<sup>13,14</sup>. Uno de los principales problemas que presentan este tipo de emulsiones es la maduración de Ostwald, su principal mecanismo de desestabilización. Este problema es generado debido a que se aumenta la solubilidad de la fase dispersa en la fase acuosa, este fenómeno se puede minimizar introduciendo una pequeña cantidad de un compuesto con propiedades hidrofóbicas fuertes en la fase dispersa<sup>15</sup>. En las nanoemulsiones es importante considerar que su estabilidad depende de sus parámetros de formulación (de la fase dispersa, de la cantidad y estado de las moléculas que ejercen como emulsificantes, tipo y condiciones de tratamiento al que son sometidos) que resultará en una distribución de tamaño de gota óptimo para la matriz alimentaria a la cual se desea añadir.

### **El sistema termodinámicamente inestable.**

Las emulsiones como las nanoemulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, pero cinéticamente estables, que no pueden formarse espontáneamente, por tanto, es necesaria la aplicación de energía externa para su formación. Esta energía puede ser suministrada por métodos de dispersión (fuerza de cizalla) o por métodos

fisicoquímicos (de condensación o baja energía). En la literatura, se reportan varios métodos para la obtención de nanoemulsiones<sup>10,16,17,18</sup>.

Para ser termodinámicamente estables, estos sistemas necesitan la presencia de un surfactante (o emulgente) para disminuir la tensión interfacial en la interfase aceite en agua (O/W)<sup>19</sup>. Las moléculas tensoactivas pueden ser macromoléculas, como polisacáridos o proteínas, así como muchas otras moléculas de menor peso molecular que se añaden a alimentos o cosméticos como fosfolípidos, mono/diglicéridos, polisorbatos y ésteres de sorbitan (Tween®, Span®), etc. Los polisacáridos (gomas naturales) y proteínas pueden usarse individualmente o en conjunto para crear una variedad de sistemas de liberación que pueden ser adecuados para proteger los componentes funcionales y nutracéuticos. La habilidad de estas partículas para emulsificar, proteger y liberar el componente activo depende de los factores moleculares y fisicoquímicos tales como su composición, estructura interna, polaridad, carga eléctrica y dimensiones físicas<sup>20</sup>. En este sentido, el agente tensoactivo debe estar equilibrado en cuanto a poseer la cantidad o longitud adecuada de grupos hidrosolubles y liposolubles para que se concentre en la interfase y de esta forma haga descender la tensión interfacial. Por lo tanto, un agente tensoactivo debe estar formado por una parte hidrofílica y otra lipofílica equilibradas de tal modo que cuando se disperse inicialmente en la fase oleosa o en la acuosa, emigre a la interfase y se oriente con el grupo hidrofílico en el agua y el grupo lipofílico en la fase oleosa. Becher y Griffin definieron una escala arbitraria de valores que ha servido como medida del balance hidrofílico-lipofílico (HLB) de los agentes superficialmente activos. Por ejemplo, los denominados Spans (o ésteres de sorbitan), tienen valores de HLB bajos (de 1.8 a 8.6), al ser de naturaleza lipofílica; por otro lado los llamados Tween (tensoactivos derivados polioxietilénicos de los Spans) tienen valores de HLB altos (desde 9.6 a 16.7) pues son de naturaleza hidrofílica<sup>21</sup>. Así, por medio de este sistema numérico es posible establecer un intervalo de la máxima eficacia para cada tipo de tensoactivo, resaltando además que, entre mayor es el índice HLB, mayor es su carácter hidrofílico o por el contrario en su carácter lipofílico.

## **La estabilidad a través de los métodos “top-down” y “bottom-up”.**

En la producción de emulsiones muy finas formadas por procesos "top-down" (reducción del tamaño mediante procesos mecánicos), se requieren altas densidades energéticas, aplicándose fuerzas externas a las mezclas agua- aceite -tensoactivo para deformar, romper grandes gotas para reducirlas de tamaño. Específicamente, en los métodos “top-down”, el tamaño y la polidispersidad de las gotas de las nanoemulsiones dependen de la energía aplicada durante el proceso de emulsificación, del tiempo durante el cual se aplica la energía, y de los componentes que la forman, especialmente de la relación surfactante/fase dispersa. Entre los equipos de dispersión más eficaces para producir nanoemulsiones están los homogeneizadores de alta presión, molinos coloidales y los generadores de ultrasonido. La energía que suministran estos equipos produce suficiente cizalla para romper las gotas de la emulsión en otras más pequeñas<sup>18</sup>. Dentro de las características esperadas se encuentran: una alta eficiencia de encapsulación, turbidez baja, alta biodisponibilidad y una alta estabilidad física.

## **Homogeneizadores a alta y ultra-alta presión.**

La alta presión de homogeneización (HPH, por su acrónimo en inglés) constituye una alternativa para un manejo en continuo de sistemas líquidos aplicando presiones de hasta 150 MPa con la finalidad de estabilizar los sistemas formulados. La introducción de nuevos homogeneizadores a ultra-alta presión (UHPH, por su acrónimo en inglés) que alcanzan presiones de hasta 400 MPa e incluso es posible el uso de ciclos o pasos, está permitiendo tener sistemas estables para las diferentes industrias alcanzando reducciones de tamaño hasta los 100 nm aproximadamente, lo que representa una gran ventana para los sistemas de protección de compuestos, así como los de liberación controlada.

Un homogeneizador consiste en un generador de alta presión tal como una bomba de desplazamiento positivo junto con un intensificador de presión que se utiliza para forzar el paso del fluido a través de la válvula de homogeneización<sup>22,23</sup>. En cualquier tipo de válvula o cámara (en microfluidización), donde se produce la homogeneización, la emulsión es sometida a alta presión a través durante su paso en la válvula o cámara acelerándose y

creando fuerzas de cizalla, impacto y cavitación<sup>22</sup>. Como resultado, a la salida, la emulsión pasa por un intercambiador de calor o un sistema de enfriamiento y posteriormente pueda ser recirculada en caso de ser necesario.

El diseño de la válvula o cámara de homogeneización es uno de los principales parámetros que influyen en la eficiencia del proceso. Es, por lo tanto, comprensible que las principales diferencias entre los homogeneizadores de diferentes fabricantes están en las válvulas/cámaras de homogeneización (Fig.1).

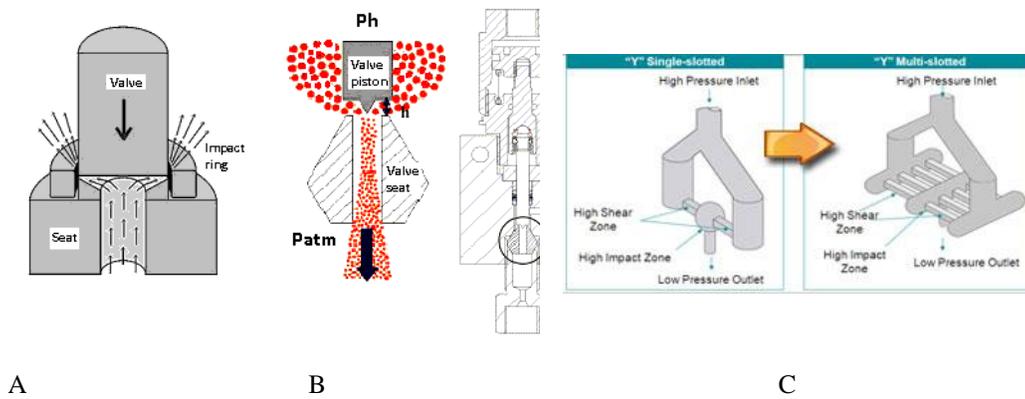


Fig. 1 Geometrías de válvulas/cámaras de interacción en equipos de homogeneización a alta presión A) Válvula APV-Gaulin; b) Válvula de Stated Fluid Power, c) Cámara de Microfluidics.

A pequeña escala, encontramos al homogeneizador APV-Gaulin 15M, que tiene una sola bomba de acción capaz de funcionar a 75 MPa. Para el procesamiento a gran escala, existen homogeneizadores con múltiples pistones capaces de alcanzar una presión casi constante de 100 MPa. Actualmente, existen diferentes tipos de equipos, tanto a nivel prototipo como a escala industrial, por ejemplo: APV-Gaulin (EE.UU.), APV-Rannie (Dinamarca) y Panda (Gea Niro Soavi SPA, Parma, Italia) son equipos capaces de alcanzar presiones de 150 MPa. Microfluídica (Microfluidics<sup>TM</sup> International Corporation, Newton, MA, EE.UU.), Nanojet (Nanojet<sup>TM</sup>, Haskel, EE.UU.), Emulsiflex (Avestin®, Canadá) y Stansted (Stansted Fluid Power Ltd, Essex, Reino Unido) están diseñados para trabajar a presiones por encima de los 200 MPa (equipos UHPH). Actualmente, existen diferentes tipos de equipos de esta categoría, tanto de prototipo y el equipo a escala industrial, por ejemplo: APV-Gaulin (EE.UU.), APV-Rannie (Dinamarca) y Panda (Gea Niro Soavi SPA,

Parma, Italia) son equipos capaces de alcanzar presiones de 150 MPa. El microfluidizador (Microfluidics™ International Corporation, Newton, MA, EE.UU.), Nano DeBEE Electric Bench-top Laboratory Machine (Bee International, Inc., South Easton, MA), Nanojet (Nanojet™, Haskel, EE.UU.), Emulsiflex (Avestin®, Canadá) y Stansted (Stansted Fluid Power Ltd, Essex, Reino Unido) están diseñados para trabajar a una presión mayor que 200 MPa (equipos UHPH).

Desde hace ya unos años, emulsiones naturales<sup>24-27</sup>, emulsiones modelo, y usando proteínas de origen vegetal y animal<sup>15,28,29</sup> o almidones modificados, han sido procesadas por homogeneizadores a alta y ultra-alta presión. Con el uso de la homogeneización a alta y ultra-alta presión, se ha observado que las diferentes condiciones de tratamiento influyen en la estabilidad de una nanoemulsión. Por ejemplo, Desrumaux y Marcand<sup>31</sup> aplicó presiones entre 50 y 350 MPa a una emulsión de 20% aceite de girasol en solución acuosa con un 1,5% proteínas séricas, alcanzando la máxima estabilización en 100 MPa. Floury *et al.*<sup>28</sup>, consiguió la máxima estabilidad y el mínimo tamaño de gota en una emulsión con 20% de aceite de girasol y 0,75% de metilcelulosa tratados a presión de 150 MPa. Sin embargo, utilizando proteína de soya como emulsionante, consiguieron estabilidad utilizando presiones de hasta 350 MPa, concluyendo que las condiciones de tratamiento también influían en la estabilidad de una emulsión. Donsí *et al.*<sup>17,32</sup> realizó estudios complementarios para obtener nanoemulsiones de d-limoneno utilizando la homogenización a alta presión utilizando diferentes emulsificadores como: lecitina, proteínas de guisantes, ésteres de sorbitan y una combinación de Tween 20 y glicerol monooleato.

La presión y número de pasos han sido evaluados para la formación de las nanoemulsiones<sup>33-35</sup>, dando como resultado que el tamaño de gota, la viscosidad y blancura de las nanoemulsiones disminuye al aumentar la intensidad de la presión y el número de pasos a través de la cámara de interacción en microfluidizador. A 150 MPa y 10 ciclos, la nanoemulsión de aceite de limón y Tween 80 obtuvo un tamaño mínimo promedio de gota de 6 nm, resaltando la importancia de la homogeneización a alta presión como una tecnología producir nanoemulsiones estables de aceites esenciales<sup>36</sup>. En la formación de nanoemulsiones por homogeneización a alta presión de aceite de maíz y octadecano en

agua, el diámetro de gota mínimo que se podía producir después de 6 pasos a 14 Kbar dependió fuertemente del tipo y la concentración del emulsificante evaluado (dodecilsulfato de sodio (SDS) < Tween 20 < lactoglobulina < caseinato de sodio), el SDS formó gotas más pequeñas que las proteínas, reflejando una mayor capacidad de adsorción que las proteínas en durante el proceso de homogeneización<sup>37-39</sup>.

## Homogeneización por Ultrasonido

En el caso de ultrasonido, este proceso ha ganado interés y popularidad entre los diferentes sectores industriales debido a su eficiencia energética, bajo costo de producción, y por ser un sistema de manejo de control de variables relativamente fácil. Algunos ejemplos son la elaboración de nanoemulsiones dirigidas a encapsular componentes bioactivos, nutracéuticos, aditivos, sabores, compuestos vitamínicos, productos de interés farmacéuticos, etc.

La emulsificación por ultrasonido involucra la producción de ondas acústicas (frecuencias mayores de 20 kHz) que se propagan a través del líquido alternando ciclos de alta presión y baja presión (cavitación) seguido de la disrupción de las gotas bajo por el efecto de cavitación desarrollado en el medio líquido<sup>40-43</sup>.

Existen equipos de laboratorio, y a nivel industrial disponibles comercialmente que son utilizados para probar formulaciones, elaborar prototipos o para el desarrollo de nuevas aplicaciones. El equipo emplea un sonotrodo, que emite la energía necesaria, se pone en contacto directo con la solución que se va a homogeneizar y de ahí se produce la cavitación que genera fuerzas disruptivas que conlleva a la ruptura de las gotas durante un tiempo suficiente<sup>44,45</sup>. El proceso de la formación de la emulsión, va acompañado de ruido y vibraciones, como consecuencia de la homogeneización del fluido moviéndose a alta velocidad, así como de las vibraciones del sonotrodo. El proceso de ultrasonido también genera un incremento en la temperatura de la emulsión, para materiales sensibles al calor, se utilizan celdas de flujo enchaquetadas para mejorar la disipación del calor. En este método, al igual que en el de homogeneización a alta presión, el tamaño de gota y la

estabilidad de la emulsión dependen también de las condiciones de operación, el tipo y la concentración de los agentes emulsificantes.

Algunas marcas comerciales de equipos de ultrasonidos son: Branson Digital Sonifier (Branson, Connecticut, Model No. 450, nominal power 400 W), los equipos Hielscher (Hielscher ultrasonics GmbH, Teltow, Alemania), Sonopuls (Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Alemania), Sonicator 3000 (Misonix, Farmingdale, NY), entre otras marcas disponibles (Fig.2).

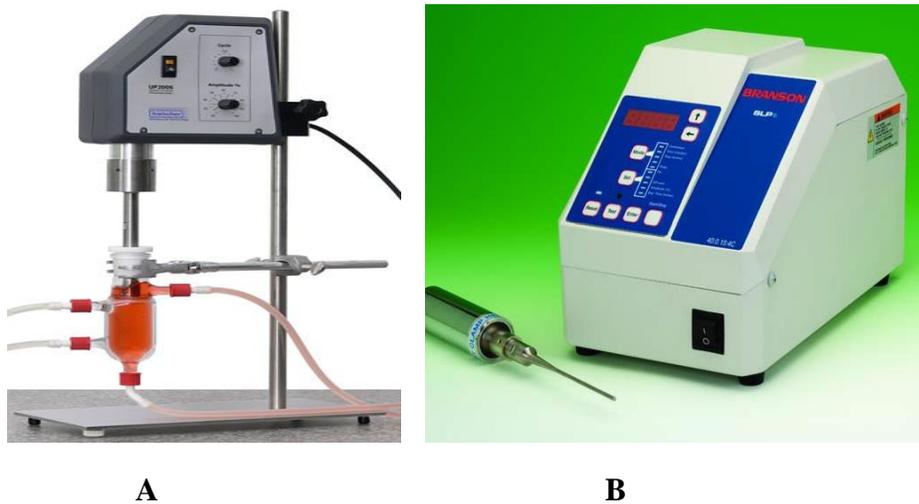


Fig. 2 Equipos de homogeneización por ultrasonido escala laboratorio. A) 200S Heilscher; b) S450 D Branson.

Se han realizado estudios previos sobre las nanoemulsiones usando ultrasonidos<sup>40,44-46</sup>. Así mismo, se ha demostrado que es posible obtener nanoemulsiones con esta tecnología en aplicaciones en alimentos, por ejemplo, cuando se utilizó aceite de linaza (grado alimenticio) con un surfactante no iónico como el Tween 40, el tamaño de gota alcanzado fue de menos de 70 nm<sup>47</sup>, derivado de este estudio se encontró que el tamaño de gota disminuyó de acuerdo al tiempo de sonicación, nivel de potencia y concentración del agente emulsificante. En otro trabajo de investigación, el sistema de ultrasonido fue usado para obtener nanoemulsiones de D-limoneno en agua, como resultado obtuvieron una nanoemulsion con tamaño de gota por debajo de 100 nm cuando se aplicó una energía de 18W por 120 s. Así mismo, observaron que la maduración de Ostwald fue el principal

mecanismo de inestabilidad en el sistema, a pesar de ello la nanoemulsion permaneció estable por 8 semanas de almacenamiento<sup>46</sup>.

Finalmente, es importante mencionar que cuando se utilizan medios mecánicos, térmicos, termomecánicos o ultrasonidos en conjunto con gomas naturales o polisacáridos como emulsificante, estos componentes pueden sufrir una degradación traducida como un grado de depolimerización que afecta la estabilidad de la emulsión. La homogeneización a alta o ultra-alta presión ha sido el método más eficiente en términos de estabilidad en comparación con los ultrasonidos, sin embargo ha resultado ser menos práctico en términos de costos de producción, sanitización del equipo, el procesamiento aséptico<sup>48</sup>, siendo además no tan fáciles de operar.

## Referencias

- (1) Taha, E. I.; Al-Saidan, S.; Samy, A. M.; Khan, M. A. Preparation and in Vitro Characterization of Self-Nanoemulsified Drug Delivery System (SNEDDS) of All-Trans-Retinol Acetate. *Int. J. Pharm.* **2004**, *285*, 109–119.
- (2) Sadurní, N.; Solans, C.; Azemar, N.; García-Celma, M. J. Studies on the Formation of O/W Nano-Emulsions, by Low-Energy Emulsification Methods, Suitable for Pharmaceutical Applications. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005**, *26*, 438–445.
- (3) Wu, H.; Ramachandran, C.; Weiner, N. D.; Roessler, B. J. Topical Transport of Hydrophilic Compounds Using Water-in-Oil Nanoemulsions. *Int. J. Pharm.* **2001**, *220*, 63–75.
- (4) Sonnevile-Aubrun, O.; Simonnet, J.-T.; L'Alloret, F. Nanoemulsions: A New Vehicle for Skincare Products. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *108-109*, 145–149.
- (5) Lee, G. W. J.; Tadros, T. F. Formation and Stability of Emulsions Produced by Dilution of Emulsifiable Concentrates. Part II. The Influence of Surfactant Concentration on the Stability of Oil-in-Water Emulsions. *Colloids and Surfaces* **1982**, *5*, 117–127.
- (6) Liu, X.; Guan, Y.; Ma, Z.; Liu, H. Surface Modification and Characterization of Magnetic Polymer Nanospheres Prepared by Miniemulsion Polymerization. *Langmuir*

**2004**, *20*, 10278–10282.

- (7) Fang, Z.; Bhandari, B. Encapsulation of Polyphenols – a Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, *21*, 510–523.
- (8) Rao, J.; McClements, D. J. Lemon Oil Solubilization in Mixed Surfactant Solutions: Rationalizing Microemulsion & Nanoemulsion Formation. *Food Hydrocoll.* **2012**, *26*, 268–276.
- (9) McClements, D. J.; Decker, E. A.; Weiss, J. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *J. Food Sci.* **2007**, *72*, R109–R124.
- (10) McClements, D. J. Nanoemulsions versus Microemulsions: Terminology, Differences, and Similarities. *Soft Matter* **2012**, *8*, 1719–1729.
- (11) Graves, T. G. M.; Wilking, J. N.; Meleson, K.; Chang, C. B.; M, S. Nanoemulsions: Formation, Structure, and Physical Properties. *J. Phys. Condens. Matter* **2006**, *18*, R635.
- (12) Okamoto, H.; Nakajima, T.; Ito, Y.; Aketo, T.; Shimada, K.; Yamato, S. Simultaneous Determination of Ingredients in a Cold Medicine by Cyclodextrin-Modified Microemulsion Electrokinetic Chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *37*, 517–528.
- (13) Kaushik, V.; Roos, Y. H. Lipid Encapsulation in Glassy Matrices of Sugar-Gelatin Systems in Freeze-Drying. *Int. J. Food Prop.* **2008**, *11*, 363–378.
- (14) Shahidi, F.; Han, X. Encapsulation of Food Ingredients. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1993**, *33*, 501–547.
- (15) Lee, S. J.; Choi, S. J.; Li, Y.; Decker, E. A.; McClements, D. J. Protein-Stabilized Nanoemulsions and Emulsions: Comparison of Physicochemical Stability, Lipid Oxidation, and Lipase Digestibility. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *59*, 415–427.
- (16) Nicolosi, R.; Wilson, T. Compositions and Methods for Making and Using Nanoemulsions, 2008.
- (17) Donsì, F.; Sessa, M.; Mediouni, H.; Mgaidi, A.; Ferrari, G. Encapsulation of Bioactive Compounds in Nanoemulsion- Based Delivery Systems. *11th Int. Congr. Eng. Food* **2011**, *1*, 1666–1671.
- (18) McClements, D. J. Advances in Fabrication of Emulsions with Enhanced

- Functionality Using Structural Design Principles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2012**, *17*, 235–245.
- (19) McClements, D. J. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2010**, *1*, 241–269.
- (20) McClements, D. J.; Decker, E. A.; Park, Y.; Weiss, J. Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2009**, *49*, 577–606.
- (21) Becher, P.; Griffin, W. C. HLB: A Bibliography 1949-1969. *Atlas Chemcial Ind.* **1970**.
- (22) Flourey, J.; Bellettre, J.; Legrand, J.; Desrumaux, A. Analysis of a New Type of High Pressure Homogeniser. A Study of the Flow Pattern. *Chem. Eng. Sci.* **2004**, *59*, 843–853.
- (23) Middelberg, A. P. J. Process-Scale Disruption of Microorganisms. *Biotechnol. Adv.* **1995**, *13*, 491–551.
- (24) Pereda, J.; Ferragut, V.; Quevedo, J. M.; Guamis, B.; Trujillo, A. J. Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on Microbial and Physicochemical Shelf Life of Milk. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 1081–1093.
- (25) Hayes, M. G.; Kelly, A. L. High Pressure Homogenisation of Raw Whole Bovine Milk (a) Effects on Fat Globule Size and Other Properties. *J. Dairy Res.* **2003**, *70*, 297–305.
- (26) Picart, L.; Thiebaud, M.; René, M.; Pierre Guiraud, J.; Cheftel, J. C.; Dumay, E. Effects of High Pressure Homogenisation of Raw Bovine Milk on Alkaline Phosphatase and Microbial Inactivation. A Comparison with Continuous Short-Time Thermal Treatments. *J. Dairy Res.* **2006**, *73*, 454–463.
- (27) Thiebaud, M.; Dumay, E.; Picart, L.; Guiraud, J. P.; Cheftel, J. C. High-Pressure Homogenisation of Raw Bovine Milk. Effects on Fat Globule Size Distribution and Microbial Inactivation. *Int. Dairy J.* **2003**, *13*, 427–439.
- (28) Flourey, J.; Desrumaux, A.; Axelos, M. A. V; Legrand, J. Degradation of Methylcellulose during Ultra-High Pressure Homogenisation. *Food Hydrocoll.* **2002**, *16*,

47–53.

- (29) Grácia-Juliá, A.; René, M.; Cortés-Muñoz, M.; Picart, L.; López-Pedemonte, T.; Chevalier, D.; Dumay, E. Effect of Dynamic High Pressure on Whey Protein Aggregation: A Comparison with the Effect of Continuous Short-Time Thermal Treatments. *Food Hydrocoll.* **2008**, *22*, 1014–1032.
- (30) Adjonu, R.; Doran, G.; Torley, P.; Agboola, S. Whey Protein Peptides as Components of Nanoemulsions: A Review of Emulsifying and Biological Functionalities. *J. Food Eng.* **2014**, *122*, 15–27.
- (31) Desrumaux, A.; Marcand, J. Formation of Sunflower Oil Emulsions Stabilized by Whey Proteins with High-Pressure Homogenization (up to 350 MPa): Effect of Pressure on Emulsion Characteristics. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2002**, *37*, 263–269.
- (32) Donsì, F.; Sessa, M.; Ferrari, G. Nanoencapsulation of Essential Oils to Enhance Their Antimicrobial Activity in Foods. *J. Biotechnol.* **2010**, *150*, Suppl, 67.
- (33) Guerra-Rosas, M. I.; Morales-Castro, J.; Ochoa-Martínez, L. A.; Salvia-Trujillo, L.; Martín-Belloso, O. Long-Term Stability of Food-Grade Nanoemulsions from High Methoxyl Pectin Containing Essential Oils. *Food Hydrocoll.* **2016**, *52*, 438–446.
- (34) Salvia-Trujillo, L.; Rojas-Graü, M. A.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. Impact of Microfluidization or Ultrasound Processing on the Antimicrobial Activity against Escherichia Coli of Lemongrass Oil-Loaded Nanoemulsions. *Food Control* **2014**, *37*, 292–297.
- (35) Qian, C. Food-Grade Nanodispersions for Encapsulation, Protection and Delivery of Bioactive Food Components. *Doctoral Dissertations Available from Proquest*, 2013, 1–256.
- (36) Salvia-Trujillo, L.; Rojas-Graü, M. A.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. Effect of Processing Parameters on Physicochemical Characteristics of Microfluidized Lemongrass Essential Oil-Alginate Nanoemulsions. *Food Hydrocoll.* **2013**, *30*, 401–407.
- (37) Qian, C.; McClements, D. J. Formation of Nanoemulsions Stabilized by Model Food-Grade Emulsifiers Using High-Pressure Homogenization: Factors Affecting

- Particle Size. *Food Hydrocoll.* **2011**, *25*, 1000–1008.
- (38) Rao, J.; McClements, D. J. Food-Grade Microemulsions, Nanoemulsions and Emulsions: Fabrication from Sucrose Monopalmitate & Lemon Oil. *Food Hydrocoll.* **2011**, *25*, 1413–1423.
- (39) McClements, D. J. Edible Nanoemulsions: Fabrication, Properties, and Functional Performance. *Soft Matter* **2011**, *7*, 2297–2316.
- (40) Leong, T. S. H.; Wooster, T. J.; Kentish, S. E.; Ashokkumar, M. Minimising Oil Droplet Size Using Ultrasonic Emulsification. *Ultrason. Sonochem.* **2009**, *16*, 721–727.
- (41) Tiwari, B. K.; Mason, T. J. *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*; Elsevier, 2012.
- (42) Joyce, E.; Phull, S. S.; Lorimer, J. P.; Mason, T. J. The Development and Evaluation of Ultrasound for the Treatment of Bacterial Suspensions. A Study of Frequency, Power and Sonication Time on Cultured Bacillus Species. *Ultrason. Sonochem.* **2003**, *10*, 315–318.
- (43) Chemat, F.; Zill-e-Huma; Khan, M. K. Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrason. Sonochem.* **2011**, *18*, 813–835.
- (44) Jafari, S. M.; He, Y.; Bhandari, B. Nano-Emulsion Production by Sonication and Microfluidization—A Comparison. *Int. J. Food Prop.* **2006**, *9*, 475–485.
- (45) Jafari, S. M.; He, Y.; Bhandari, B. Production of Sub-Micron Emulsions by Ultrasound and Microfluidization Techniques. *J. Food Eng.* **2007**, *82*, 478–488.
- (46) Li, P.-H.; Chiang, B.-H. Process Optimization and Stability of D-Limonene-in-Water Nanoemulsions Prepared by Ultrasonic Emulsification Using Response Surface Methodology. *Ultrason. Sonochem.* **2012**, *19*, 192–197.
- (47) Kentish, S.; Wooster, T. J.; Ashokkumar, M.; Balachandran, S.; Mawson, R.; Simons, L. The Use of Ultrasonics for Nanoemulsion Preparation. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2008**, *9*, 170–175.
- (48) Abismail, B.; Canselier, J.; Wilhelm, A.; Delmas, H.; Gourdon, C. Emulsification by Ultrasound: Drop Size Distribution & Stability. *Ultrason. Sonochem.* **1999**, *6*, 75–83

# 7. ENCAPSULACIÓN POR COACERVACIÓN COMPLEJA

**Hugo Espinosa Andrews**

**Tecnología Alimentaria, CIATEJ, A.C.**

[hspinosa@ciatej.mx](mailto:hspinosa@ciatej.mx)

## **Introducción**

La IUPAC (1997) define a la coacervación como el proceso durante el cual una solución homogénea de macromoléculas cargadas, se separa en dos fases líquidas en equilibrio, en la cual, la fase más concentrada en coloides es conocida como “fase coacervada” y la otra se conoce como “fase en equilibrio”. El concepto fue introducido por Bungenberg de Jong y Kruyt, proviene del latín “coacervatus”, del pasado participio de “coacervare” (amontonarse), lo que significa que precede la unión de partículas coloidales (Espinosa-Andrews, Báez-González, Cruz-Sosa, y Vernon-Carter, 2007). El fenómeno es dividido en: 1) coacervación simple, y 2) coacervación compleja.

## **Tipos de Coacervación**

Durante el proceso de coacervación simple de un polielectrolito, la adición de sal o alcohol normalmente, promueve la segregación de fases a través de la autoneutralización de cargas (Gupta y Bohidar, 2005; Lazko, Popineau, y Legrand, 2004). Mientras que, en la coacervación compleja, involucra la interacción de al menos dos biopolímeros de carga opuesta, parámetros como la concentración, proporción relativa entre los biopolímeros, temperatura, pH, fuerza iónica y densidad de carga deben ser balanceados para efectuar una separación de fases eficiente (Fig. 1).

Los primeros avances tecnológicos del proceso de coacervación fueron protegidos por Green (1955) en la patente US 2712507A, la cual describe un proceso de encapsulación de gotas de aceite en un gel complejo sensible a la presión.

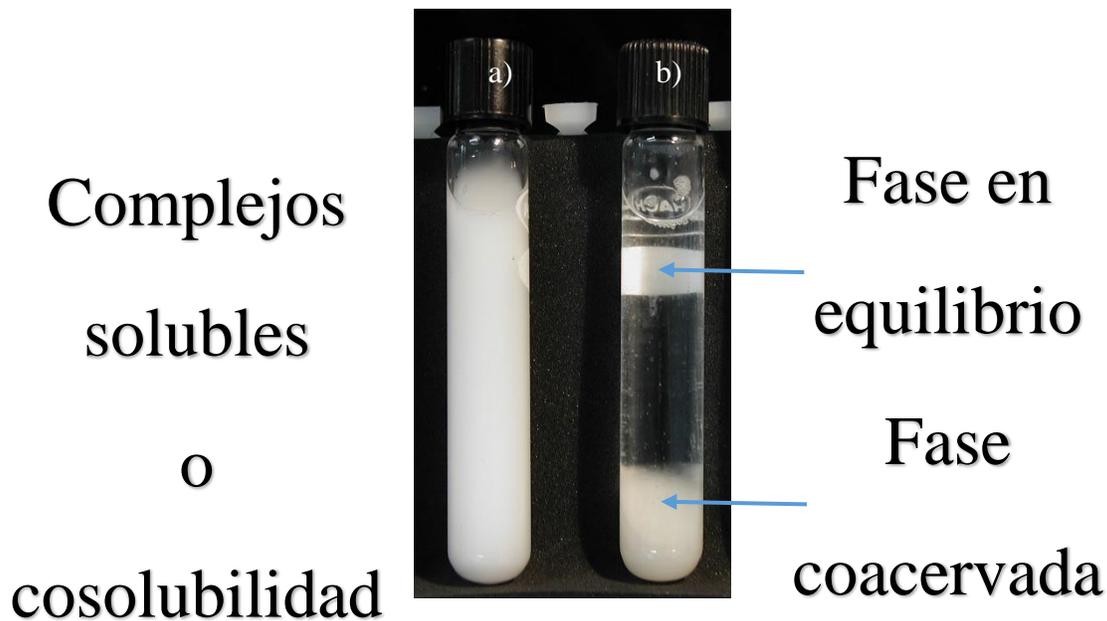


Fig. 1 Complejos electrostáticos formados entre la goma arábica y quitosano: a) complejos solubles, b) coacervación compleja (Espinosa-Andrews *et al.*, 2007).

En la década de los noventa, se propusieron nuevas tecnologías para producir microencapsulas de sabor para aplicación en bebidas no alcohólicas en el área de alimentos. En general, el proceso de encapsulación por coacervación compleja consiste en tres etapas (Shahidi y Han, 1993): 1) Formación de un sistema de tres fases inmiscibles (material bioactivo liposoluble, material formador de membrana y medio continuo), 2) deposición del material polimérico re-cubriente y 3) solidificación del material re-cubriente, el cual puede ser producido mediante procesos térmicos, entrecruzamiento químico o desolvatación.

Soper (1996) reportó un método de formación de microencapsulados de alimentos o sabor (aceite esencial de limón, ajo, pimienta negra o sabor a manzana) en gelatina de pescado (Bloom 300) complejada con goma arábica/CMC. El sistema fue entrecruzado con glutaraldehído y posteriormente deshidratado por secado por aspersion para obtener micropartículas de sabor. En los últimos años, la búsqueda de nuevos sistemas para la microencapsulación por coacervación ha propiciado nuevas líneas de investigación en todo

el mundo. La tecnología de formación de complejos electrostáticos mediante los procesos de autoensamblaje, presenta ventajas competitivas sobre los procesos “top-down” en la generación de nanomateriales (Yang *et al.*, 2014).

### **Microencapsulación de compuestos bioactivos**

Actualmente, los complejos coacervados son empleados como un ingrediente en productos alimenticios para proteger una o más sustancias hidrófobas en bebidas, alimentos secos y alimentos semi-húmedos (Zhang y Mutilangi, 2013). Ciertas sustancias hidrófobas son utilizadas como ingredientes funcionales en productos alimenticios. En algunos casos, la sustancia hidrófoba no tiene un sabor aceptable o no es lo suficientemente estable en el alimento previsto, por ejemplo, en un ambiente ácido. El proceso de encapsulación por coacervación compleja protege a los principios activos de la oxidación mediante la generación una red compleja del material polimérico (Fig. 2)

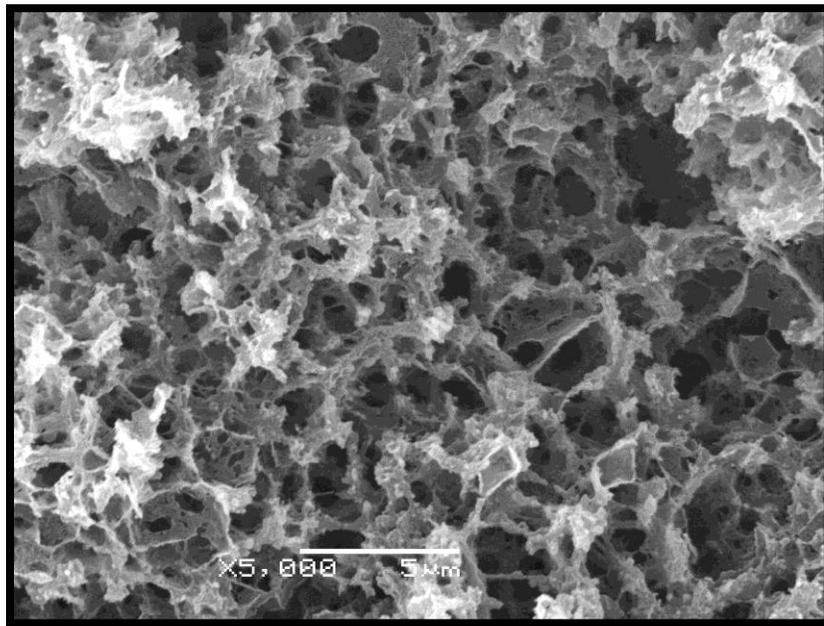


Fig. 2 Micrografía electrónica de barrido del interior de un encapsulado de aceite de pescado.

Ejemplos de tales sustancias hidrófobas incluyen a los ácidos grasos omega-3, saborizantes, vitaminas, esteroides, flavonoides, sabores, aceites esenciales, etc. Friedmann,

Lumsdon y Green (2009) describen en la patente US20090189304A1, el proceso de encapsulación de ácidos grasos poliinsaturados por coacervación compleja (gelatina/goma arábiga). Las partículas desarrolladas promueven la reducción de la degradación oxidativa de los aceites poliinsaturados encapsulados en el interior de las microcápsulas. Sin embargo, debido a la alta inestabilidad de estas sustancias, el uso de agentes antioxidantes hidrofóbicos y/o hidrofílicos es una práctica común. Por ejemplo, antioxidantes hidrófilos derivados de fuentes vegetales, tales como los derivados de moras, polifenoles solubles en agua y vitamina C pueden ser añadidos a la solución de polímero aniónico antes o después de añadir la sustancia hidrófoba (Zhang y Mutilangi, 2013). En ocasiones, la adición de ingredientes antioxidantes hidrófobos como la vitamina A, vitamina K,  $\alpha$ -tocoferol, palmitato de ascorbilo, entre otros, puede incrementar significativamente la tasa de oxidación de compuestos bioactivos liposolubles por encima de ciertas concentraciones.

Wang, Vongsvivut, Adhikari, y Barrow (2015) desarrollaron microcápsulas de aceite de atún fortificado con vitamina A, D3, E, K2, curcumina y coenzima Q 10 en complejos coacervados de gelatina/hexametafosfato de sodio. Los sistemas desarrollados presentaron un bajo contenido de aceite superficial (0.08%), alta eficiencia de encapsulación (99.8%) y rendimiento de encapsulación (96.6%), con un índice de estabilidad oxidativa mejorada significativamente de 6.2 h.

Nori *et al.* (2011) encapsularon un extracto de propóleo empleando un complejo coacervado de aislado de proteína de soya/pectina. Este complejo conservó los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el propóleo libre, preservando la actividad antioxidante del material, así como su actividad inhibidora de *S. aureus*. De esta manera fue posible utilizar el propóleo como un aditivo alimenticio natural, en forma de polvo, libre de alcohol.

Rocha-Selmi, Favaro-Trindade, y Grosso (2013) encapsularon licopeno por coacervación compleja usando gelatina/goma arábiga. La eficiencia de encapsulación fue mayor al 90%, obteniendo partículas de diámetro medio entre 61 a 144  $\mu\text{m}$ . La matriz coacervada mostró mayor protección del licopeno a la oxidación en comparación con su forma libre.

Oliveira *et al.* (2007) produjeron microcápsulas por coacervación compleja de *B. lactis* y *L. acidophilus* empleando un complejo de caseína/pectina. Este procedimiento de encapsulación, aumentó la supervivencia celular en pHs semejantes al estomacal. Los probióticos encapsulados mostraron una viabilidad de 90 días a 37°C y 120 días a 7°C.

La característica más importante asociada con la microencapsulación de aceites por coacervación compleja sobre otras tecnologías de encapsulación, es la generación de micropartículas con bajo contenido de aceite superficial, normalmente 0.02%, comparado con 0.2-1% en microcápsulas producidas por secado por aspersión (Barrow, Nolan, y Jin, 2007). El aceite superficial suele descomponerse rápidamente en presencia de oxígeno, por lo que comúnmente se asocia con la generación de notas aromáticas y sabores desagradables en los aceites microencapsulados. El grupo de aldehídos han sido identificados como responsables de los males olores en aceite de pescado oxidado. Algunos de estos compuestos pueden ser identificados por el olfato humano en partes por millón. Por ejemplo, el c-4-heptanal puede ser identificado a niveles tan bajos como 0.04 ppm, mientras que productos de degradación oxidativa como el t,c-3, 6-nonadienal y el t,c-2, 6-nonadienal puede ser detectado a 0.01 ppm (Barrow *et al.*, 2007). Yang, Gao, Hu, Li y Sun (2015) observaron que la eficiencia de encapsulamiento no mostró diferencias significativas entre formulaciones (76.1-77.4%), pero la capacidad de carga de las muestras fue influenciada significativamente por la proporción de materiales de la pared empelados (10-18%). Jun-xia, Hai-yan y Jian (2011) observaron una alta capacidad de retención de aromas del aceite de naranja en microcápsulas coacervadas de aislado de soya/goma arábica. Cerca del 90% del limoneno fue retenido en el interior de las microcápsulas después del proceso de encapsulación. Yang *et al.* (2014) observaron que la eficiencia de encapsulación del aceite de vainilla varió entre el 62.4 al 94.2% y la capacidad máxima de carga varió entre 19.5 y 26.9% en microcápsulas preparadas por coacervación compleja de quitosano/goma arábica. Xing, Cheng, Yang, y Ma (2004) reportaron eficiencia de encapsulación del 88% y un máximo contenido de capsaicina de 19.8% en micropartículas esféricas de diámetro medio de 20-30  $\mu\text{m}$ , manufacturadas con gelatina tipo A y goma acacia.

Los procesos de encapsulación que presentan un bajo contenido de aceite superficial, son relacionados con un bajo estado de agregación entre las partículas, lo que se puede traducir en la obtención de polvos fluidos. Sin embargo, durante el proceso de formación de las partículas por coacervación compleja, la agregación de estas debe ser finamente balanceada con el objetivo de obtener una adecuada dispersión del producto final. Las microcápsulas producidas por coacervación compleja son insolubles en agua y resistentes al calor, y pueden ser formuladas para liberación controlada mediante esfuerzo mecánico, lo que las convierte en un importante medio para la encapsulación de sabores (Jun-xia *et al.*, 2011). La mayoría de los sabores alimenticios poseen compuestos volátiles y químicos inestables en presencia de aire, luz, humedad y altas temperatura. Dong *et al.* (2011) prepararon microcápsulas de gelatina (tipo A)/goma arábica por coacervación compleja para la encapsulación de aceite de menta con la finalidad de evaluar el efecto de la relación de material de núcleo/pared sobre el perfil de liberación en diferentes medios. Los sistemas fueron entrecruzados con una transglutaminasa (15U/g gelatina) durante 12 h para posteriormente ser deshidratados por aspersion a 190°C. La cantidad de aceite liberado incrementó con el incremento de la relación material del núcleo/pared. Las microcápsulas generadas presentaron perfiles de liberación de primer orden en agua caliente y de orden cero en sistemas con alta temperatura. Junyaprasert, Mitrevej, Sinchaipanid, Boonme, y Wurster (2001) mostraron que relación de los biopolímeros impactó significativamente las características físicas de los polvos. Las microcápsulas preparadas usando relaciones en peso (gelatina:acacia): [2:3] o [3:2] produjeron partículas agregadas, mientras que las partículas obtenidas en la relación [1:1] tendían a ser microcápsulas fluidas. Esta característica física del producto final es de vital importancia en los subsecuentes procesos de rehidratación o suspensión de los microencapsulados.

En la actualidad, el quitosano es un biopolímero que ha llamado la atención en el desarrollo sistemas coacervados de liberación controlada. El peso molecular y el grado de acetilación del quitosano son factores importantes que afectan el autoensamblaje de las moléculas. Altos grados de acetilación resultan en sistemas de mayor hidrofobicidad y menor densidad de carga, los cuales no favorecen las interacciones electrostáticas y

puentes de hidrógeno durante el autoensamblaje, mientras que, altos pesos moleculares del quitosano tiende a formar grandes estructuras autoensamblables estables (Yang et al., 2014). La característica tecnológica que hacen del quitosano, uno de los polímeros ideales para el desarrollo de sistemas de liberación, es la propiedad mucoadhesiva, debido a su carácter catiónico; esta propiedad incrementa el tiempo de residencia del quitosano en la cavidad oral e intestino delgado (Bernkop-Schnürch y Dünnhaupt, 2012). Nanocomplejos de quitosano-alginato fueron desarrollados por Gu *et al.* (2013) para evaluar la eficiencia de liberación de insulina en estudios *in vitro* e *in vivo*. Los resultados mostraron que una simple inyección subcutánea de las nanopartículas reguló los niveles de glucosa en ratones con diabetes tipo 1 en el estado normoglicémico (< 200 mg/mL) por periodos mayores a 10 días.

La estabilidad oxidativa de un compuesto bioactivo varía tremendamente en la literatura dependiendo del tipo y sensibilidad del material a encapsular, propiedades de la matriz y proceso de encapsulación. Liu, Low, y Nickerson (2010) observaron que microcápsulas de aceite de linaza producidas por coacervación compleja (gelatina/goma arábiga) presentaron una alta estabilidad oxidativa del aceite encapsulado durante 25 días a temperatura ambiente. Los valores de hidroperóxidos del aceite encapsulado permanecieron sin cambios significativos durante el periodo del experimento (< 15 meq de O<sub>2</sub>/kg), mientras que los niveles de hidroperóxidos del aceite sin encapsular incrementaron significativamente a partir del día 15 alcanzando valores de 25 meq de O<sub>2</sub>/kg al final del experimento. Yang *et al.* (2015) evaluaron la estabilidad oxidativa del aceite de la semilla de amapola en una matriz de goma arábiga/gelatina producida por coacervación compleja. Después de 8 semanas de almacenamiento, el aceite de semillas de amapola encapsulado presentó los niveles más bajos de oxidación (<25 peróxido meq / kg de aceite), mientras que el aceite sin encapsular alcanzó un nivel máximo de casi 250 meq de peróxido/kg aceite en el mismo periodo de tiempo. Las investigaciones indican que las partículas generadas por coacervación compleja proveen una matriz robusta que repercute en una adecuada protección contra la penetración del oxígeno y oxidación del aceite (Barrow *et al.*, 2007).

Ifeduba y Akoh (2015) emplearon el modelo de un yogurt fortificado para evaluar la estabilidad de microcápsulas del ácido estearidónico (SDA) durante 14 días a 4°C. La estabilidad oxidativa se evaluó con base en la capacidad de las microcápsulas para minimizar la formación de hidroperóxidos de ácidos grasos y productos secundarios de la oxidación de los lípidos. La oxidación de lípidos de SDA en microcápsulas entrecruzadas por mecanismos de Maillard mantuvieron los niveles más bajos de oxidación en comparación con el control y entrecruzamientos con transglutaminasa. Los mecanismos antioxidantes en yogures fortificados mediante microcápsulas entrecruzadas por reacciones de Maillard puede incluir la reducción de hidroperóxidos, así como rotura de la cadena radical, y eliminación de oxígeno (Ifeduba y Akoh, 2015).

Yeo, Bellas, Firestone, Langer, y Kohane (2005) prepararon microcápsulas de aceite de sabor en matrices coacervadas de gelatina/goma arábica sin emplear un agente entrecruzante. La variación de la concentración de biopolímero y tasa de homogeneización de la emulsión afectaron la morfología, distribución del tamaño de partícula, y perfiles de liberación. El aceite encapsulado se mantuvo durante 4 semanas de almacenamiento a 4 y -20°C (congelación y descongelación), pero fue liberado por la exposición a NaCl 100 mM a temperatura ambiente. La presencia de iones en la fase acuosa externa apantalla las cargas de los biopolímeros, lo que impacta en la estabilidad de la fase coacervada (Espinosa-Andrews *et al.*, 2007).

El entrecruzamiento de los biopolímeros es necesario para estabilizar los glóbulos de la emulsión coacervada y favorecer la formación de las microcápsulas (Junyaprasert *et al.*, 2001). Diferentes agentes entrecruzantes son comúnmente empleados durante el proceso de encapsulación por coacervación compleja. El glutaraldehído y el formaldehído son los agentes entrecruzantes más empleados en los sistemas proteína–polisacárido (Junyaprasert *et al.*, 2001). Sin embargo, una innumerable cantidad de reportes indican que estos aldehídos presentan complicaciones para la salud. Es por ello que en los últimos años la comunidad científica se ha enfocado al uso de materiales entrecruzantes alternos como la genipina y taninos. El desempeño de reticulación de la genipina es comparable al del

glutaraldehído, con la ventaja que la genipina presenta una citotoxicidad 10,000 veces menor que el glutaraldehído (Jin, Song, y Hourston, 2004). La genipina es un agente entrecruzante rico en grupos funcionales (-OH y -COO-). Yang et al. (2014) observaron que la estabilidad térmica de la microcápsulas de aceite de vainilla preparadas por coacervación compleja de quitosano/goma arábica fue mejorada mediante el entrecruzamiento químico de la genipina y quitosano. Después de 30 días, la concentración del aceite de vainilla en las microcápsulas fue del 60%, conservando aún los perfiles sensoriales del aceite de vainilla temperatura ambiente.

Chen y Subirade (2005) prepararon nanopartículas (100-200 nm de diámetro hidrodinámico) para la liberación de nutraceuticos por reticulación de quitosano/tripolifosfato de sodio/ $\beta$ -lactoglobulina. Los experimentos de liberación mostraron que las nanopartículas preparadas con proteína nativa presentaba mayor resistencia bajo condiciones gástricas simuladas (pH y pepsina) que las nanopartículas preparadas con proteína desnaturalizada; mientras que, en condiciones intestinales simuladas, ambos sistemas fueron degradados por la pancreatina.

Xing *et al.* (2004) prepararon microcápsulas de capsaicina mediante la formación de complejos coacervados de gelatina tipo A y goma acacia entrecruzados con taninos. Las microcápsulas fueron caracterizadas por partículas esféricas de diámetro medio de 20-30  $\mu$ m, un máximo contenido de capsaicina de 19.8% y una eficiencia de encapsulación del 88%. La concentración del material entrecruzante debe ser cuidadosamente ajustada, debido a que un exceso de este puede repercutir en la calidad final y propiedades fisicoquímicas de las microcápsulas. Xing et al. (2004) observaron que la adición de taninos en el complejo gelatina/acacia presentó un efecto importante en la morfología y dispersión de las microcápsulas debido a efectos de puentes de hidrógeno y efectos hidrofóbicos.

Microcápsulas de quitosano/gelatina fueron desarrolladas para la liberación de riboflavina (Shu & Zhu, 2002). Estos sistemas fueron desarrollados mediante la generación de microgotitas de quitosano/gelatina, coaguladas a baja temperatura para posteriormente ser reticuladas con diferentes aniones (sulfato, citrato y tripolifosfato). La morfología de las diferentes micropartículas fue observada por microscopía electrónica de barrido (SEM).

Las micropartículas desarrolladas con sulfato/quitosano y citrato/quitosano presentaron una forma esférica, superficie lisa y una estructura interior íntegra. Ambos sistemas presentaron una alta tasa de hinchamiento en fluido gástrico simulado (SGF), liberando por completo el principio activo en 5 h; mientras que en las pruebas de liberación en fluido intestinal simulado (SIF), los sistemas presentaron una baja tasa de hinchamiento, liberando el principio activo lentamente (<70% en 24 h). Por su parte, el sistema TPP/quitosano presentó diez veces mayor resistencia mecánica y mejor resistencia en condiciones gástricas. Estos estudios ejemplifican el papel que juegan las uniones multivalentes sobre las interacciones electrostáticas entre biopolímeros, en particular cuando se busca la encapsulación y liberación controlada de un principio bioactivo. Junyaprasert et al. (2001) observaron que la concentración del agente entrecruzante impactó significativamente en el porcentaje del principio activo encapsulado; a mayor concentración de entrecruzante, menor eficiencia de encapsulación.

## **Conclusión**

La encapsulación por coacervación compleja muestra ser una metodología poderosa para la preservación física, química y funcional de los diferentes principios bioactivos. El uso de biomateriales (polisacáridos y proteínas) como agentes encapsulantes y agentes entrecruzantes muestra una excelente estrategia para la liberación de principios activos a lo largo del tracto gastrointestinal.

## **Agradecimiento**

El autor extiende su agradecimiento al “Fondo de Investigación Básica SEP-CONACYT” por el financiamiento de este trabajo a través del Proyecto CB-2015-01-258118.

## **Referencias**

Barrow, C. J., Nolan, C., & Jin, Y. (2007). Stabilization of highly unsaturated fatty acids and delivery into foods. *Lipid Technology*, 19(5), 108-111. doi:10.1002/lite.200600037

- Bernkop-Schnürch, A., & Dünnhaupt, S. (2012). Chitosan-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81(3), 463-469. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.04.007>
- Chen, L., & Subirade, M. (2005). Chitosan/ $\beta$ -lactoglobulin core-shell nanoparticles as nutraceutical carriers. *Biomaterials*, 26(30), 6041-6053. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.011>
- de Kruif, C. G., Weinbreck, F., & de Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 340-349. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.006>
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S., & Zhang, X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 104(3), 455-460.
- Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Sosa, F., & Vernon-Carter, E. J. (2007). Gum Arabic-Chitosan Complex Coacervation. *Biomacromolecules*, 8(4), 1313-1318. doi:10.1021/bm0611634
- Friedmann, T. E., Lumsdon, S. O., & Green, J. H. (2009). US Patent No. Google Patent.
- Green, B. K. (1955). Pressure sensitive record material: Google Patents.
- Gu, Z., Aimetti, A. A., Wang, Q., Dang, T. T., Zhang, Y., Veisoh, O., Anderson, D. G. (2013). Injectable Nano-Network for Glucose-Mediated Insulin Delivery. *ACS Nano*, 7(5), 4194-4201. doi:10.1021/nn400630x
- Gupta A. & Bohidar H. B. Kinetics of phase separation in systems exhibiting simple coacervation. *Physical Review E* 72, 011507 (2005)
- Ifeduba, E. A., & Akoh, C. C. (2015). Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in complex coacervates modified for enhanced stability. *Food Hydrocolloids*, 51, 136-145. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.008>
- IUPAC. (1997). *Compendium of Chemical Terminology*. In A. D. M. a. A. Wilkinson. (Ed.), *Gold Book* (2nd ed. ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Jin, J., Song, M., & Hourston, D. J. (2004). Novel Chitosan-Based Films Cross-Linked by Genipin with Improved Physical Properties. *Biomacromolecules*, 5(1), 162-168. doi:10.1021/bm034286m

- Jun-xia, X., Hai-yan, Y., & Jian, Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, 125(4), 1267-1272.
- Junyaprasert, V. B., Mitrevej, A., Sinchaipanid, N., Boonme, P., & Wurster, D. E. (2001). Effect of Process Variables on the Microencapsulation of Vitamin A Palmitate by Gelatin-Acacia Coacervation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(6), 561-566. doi:10.1081/DDC-100105181
- Lazko, J., Popineau, Y., & Legrand, J. (2004). Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 37(1-2), 1-8. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2004.06.004
- Liu, S., Low, N. H., & Nickerson, M. (2010). Entrapment of Flaxseed Oil Within Gelatin-Gum Arabic Capsules. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(7), 809-815. doi:10.1007/s11746-010-1560-7
- Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias de Alencar, S., Thomazini, M., de Camargo Balieiro, J. C., & Contreras Castillo, C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 429-435. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010
- Oliveira, A. C., Moretti, T. S., Boschini, C., Baliero, J. C. C., Freitas, L. A. P., Freitas, O., & Favaro-Trindade, C. S. (2007). Microencapsulation of *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by Complex Coacervation Followed by Spouted-Bed Drying. *Drying Technology*, 25(10), 1687-1693. doi:10.1080/07373930701590939
- Rocha-Selmi, G. A., Favaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2013). Morphology, Stability, and Application of Lycopene Microcapsules Produced by Complex Coacervation. *Journal of Chemistry*, 2013, 7. doi:10.1155/2013/982603
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547. doi:10.1080/10408399309527645
- Shu, X. Z., & Zhu, K. J. (2002). Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure. *International Journal of Pharmaceutics*, 233(1-2), 217-225. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00943-7

- Soper, J. C. (1996). Method of encapsulating food or flavor particles using warm water fish gelatin, and capsules produced therefrom: Google Patents.
- Wang, B., Vongsvivut, J., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2015). Microencapsulation of tuna oil fortified with the multiple lipophilic ingredients vitamins A, D3, E, K2, curcumin and coenzyme Q10. *Journal of Functional Foods*. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.027>
- Xing, F., Cheng, G., Yang, B., & Ma, L. (2004). Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins. *Journal of Applied Polymer Science*, 91(4), 2669-2675. doi:10.1002/app.13449
- Yang, X., Gao, N., Hu, L., Li, J., & Sun, Y. (2015). Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 161, 87-93. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.027>
- Yang, Y., Wang, S., Wang, Y., Wang, X., Wang, Q., & Chen, M. (2014). Advances in self-assembled chitosan nanomaterials for drug delivery. *Biotechnology Advances*, 32(7), 1301-1316. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.007>
- Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P., & Wang, Q. (2014). Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. *Food Chemistry*, 145, 272-277.
- Yeo, Y., Bellas, E., Firestone, W., Langer, R., & Kohane, D. S. (2005). Complex Coacervates for Thermally Sensitive Controlled Release of Flavor Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(19), 7518-7525. doi:10.1021/jf0507947
- Zhang, N., & Mutilangi, W. (2013). Coacervate complexes, methods and food products: Google Patents.

# 8.ELECTROESTIRADO: PRODUCCIÓN DE FIBRAS CON BIOPOLÍMEROS DE INTERÉS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

**Karen Magaly Soto Martínez**

**Jenny Alexandra Rincón Aguirre**

**Sandra Olimpia Mendoza Díaz\***

**Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.**

**[\\* smendoza@auq.mx](mailto:smendoza@auq.mx)**

## **Introducción**

En la actualidad, existe un creciente interés en el uso de nanofibras, desde la industria textil hasta la industria biomédica, siendo una de las principales aplicaciones la encapsulación de compuestos bioactivos como enzimas, antioxidantes, antimicrobianos, sabores y aromas. Las nanofibras pueden fabricarse a partir de diferentes procesos; sin embargo, el electroestirado es el más utilizado debido a que es un proceso simple y directo, de bajo costo y fácilmente escalable. Esta técnica implica la aplicación de un campo eléctrico para expulsar continuamente la solución de un polímero de la aguja de una jeringa hacia un colector conectado a tierra. Como resultado se forman fibras ultrafinas (en la escala de micrómetros o nanómetros) que se recogen como una malla no tejida o membrana en la placa del colector. La fibra fabricada tiene propiedades tales como gran área superficial y alta porosidad que son deseables como un portador para la entrega de

fármacos u otros agentes terapéuticos (Neo *et al.*, 2013). Se han realizado diferentes estudios sobre la fabricación de fibras de diversos polímeros como el óxido de polietileno, celulosa, quitosano, etc. En los últimos años se han desarrollado estudios para evaluar el potencial para formar fibras a partir de polímeros de fuentes naturales como la zeína y las proteínas de amaranto (Neo *et al.*, 2013; Homayoni *et al.*, 2009; Jia *et al.*, 2011). Las características únicas de los biopolímeros tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad y especialmente sus características físicas y químicas los hacen una alternativa para la encapsulación de compuestos. Entre los biopolímeros utilizados para el proceso de electroestirado se encuentran las proteínas y los carbohidratos, siendo las proteínas las más utilizadas. Los carbohidratos pueden interactuar con una amplia gama de compuestos bioactivos a través de sus grupos funcionales, que los hacen versátiles para acarrear una variedad de ingredientes alimentarios (Ghorani *et al.*, 2015). En este capítulo se presentan los principios básicos de la técnica de electroestirado, las principales metodologías para caracterizar las nanofibras y los biopolímeros que pueden ser electroestirados con potencial aplicación en el área de alimentos, ya sea como andamios en el desarrollo de empaques inteligentes o como agentes acarreadores de aditivos.

## **Proceso de electroestirado**

El proceso de electroestirado es una técnica antigua, cuyos primeros reportes de uso se remontan a los años de 1914 con la primera patente de Forhalms, quien posteriormente publicó una serie de aproximadamente 50 patentes sobre el tema; sin embargo, es en la época de 1980 y en los últimos años que este proceso ha recuperado la atención debido al gran interés que genera la nanotecnología en diferentes áreas del conocimiento. En la actualidad más de 200 universidades e institutos de investigación en todo el mundo están estudiando varios aspectos del proceso de electroestirado y de la fibra que se produce; también el número de patentes para aplicaciones basadas en electroestirado ha crecido en los últimos años. Algunas empresas, como eSpin Technologies, NanoTechnics, y KATO Tech participan activamente en el desarrollo de sistemas nanométricos mediante esta técnica, mientras que compañías tales como Donaldson Company y Freudenberg han

utilizado este proceso en sus productos de filtración durante las dos últimas décadas (Ramakrishna *et al.*, 2006; Bhardwaj and Kundu, 2010).

El electroestirado es uno de los procesos más sencillos y versátiles para la producción de nanofibras de polímeros sintéticos o naturales con diámetros en la escala nanométrica y/o micrométrica. Entre las ventajas del electroestirado se puede mencionar que es un proceso que se lleva a cabo en condiciones ambientales (lo que permite la encapsulación de agentes activos térmicamente inestables), es escalable a nivel industrial, de bajo costo, sencilla y versátil (Okutan *et al.*, 2014). El principio básico de electroestirado es aplicar una diferencia de potencial a una solución polimérica depositada en una aguja, para superar la tensión superficial del polímero y alcanzar un potencial crítico que sea capaz de perturbar el equilibrio de la gota en la punta de la aguja y que ésta adquiera una forma cónica denominada cono de Taylor (Subbiah *et al.*, 2004; Rogina, 2014). Cuando el potencial aplicado alcanza el valor crítico requerido para superar la tensión superficial del líquido, éste sufre un movimiento caótico o inestabilidad de flexión, un chorro de líquido es expulsado y el campo se dirige hacia el colector cargado de forma negativa, que recoge las fibras. Durante el viaje, el solvente se evapora dejando detrás una fibra seca en el colector. En las soluciones de baja viscosidad y poco entrelazamiento de las cadenas del polímero, el chorro se rompe en gotitas lo que produce cápsulas, mientras que para soluciones de alta viscosidad se desplaza hacia el colector en forma de fibras con diámetros entre 50 nm y 10 $\mu$ m, formando un tejido (Gamboa *et al.*, 2007; Kong *et al.*, 2014).

El equipo básico de electroestirado se compone de cuatro componentes (Fig.1) : 1) Un reservorio de solución o material fundido que se conecta a un tubo capilar (aguja de diámetro interno del orden de los 400  $\mu$ m a 800  $\mu$ m), 2) una bomba de infusión conectada a una jeringa que permite suministrar un flujo constante y determinado, 3) una fuente de alto voltaje y 4) una placa metálica conectada a tierra para coleccionar el material electrohilado (Caracciolo *et al.*, 2008; Rogina *et al.*, 2014). La técnica puede ser desarrollada de forma horizontal o vertical de acuerdo a los requerimientos deseados. El principal inconveniente al trabajar en posición vertical es la posible salida de gotas de la solución desde el capilar

hacia el plato colector las cuales pueden caer sobre las fibras depositadas haciendo defectuosa la superficie de las mismas e interrumpiendo el proceso. Para impulsar la solución a través del capilar puede utilizarse una bomba de infusión; si se trabaja de forma horizontal se utiliza un cono tipo capilar, la salida de la solución está determinada por la fuerza de gravedad y la viscosidad de la solución (Duque, 2013).

Las fibras obtenidas son estructuras ultrafinas con diámetros por debajo de los 100 nm y una relación entre longitud y anchura generalmente mayores a 50, poseen gran área superficial por unidad de masa y tamaño de poro pequeño (Palmqvist, 2003). Esta propiedad hace a los tejidos compuestos de fibras electroestiradas excelentes candidatos para diferentes aplicaciones como la formación de películas comestibles y sistemas de encapsulación de compuestos activos.

### **Parámetros importantes en el proceso**

Una parte significativa de la información que se tiene del proceso de electroestirado proviene de observaciones empíricas, pero la complejidad del proceso hace que la determinación empírica de los efectos de los parámetros sea muy difícil y poco práctico. Mediante el uso de un modelo teórico adecuado del proceso de electroestirado, los efectos de los parámetros en el diámetro de la fibra pueden ser evaluados (Bhardwaj & Kundu, 2010). Entre las variables del proceso, se deben tener en cuenta los parámetros relacionados con la solución polimérica, el proceso, y las condiciones ambientales.

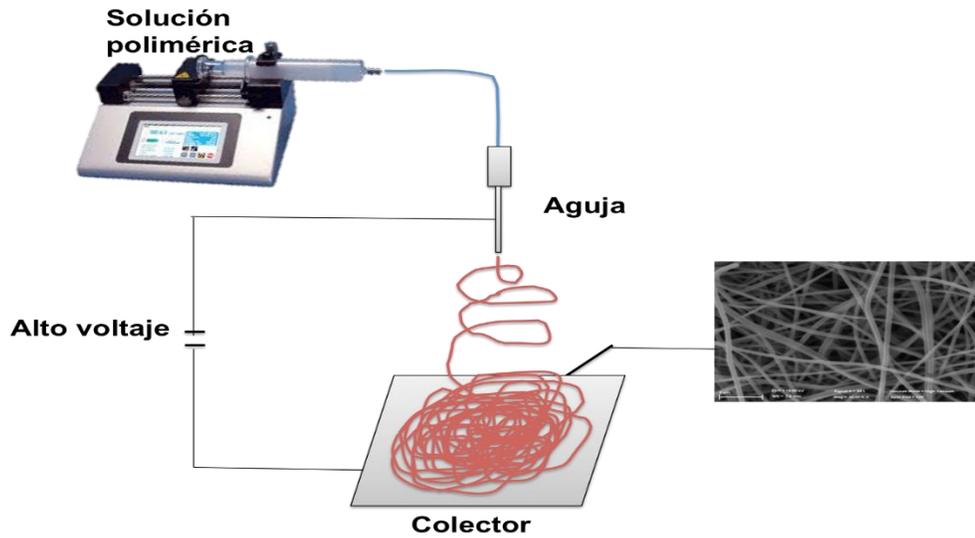


Fig. 1. Equipo de electroestirado

## Parámetros de la solución

### 1. Concentración

En el proceso de electroestirado, para que se produzca la formación de fibras, se requiere una mínima concentración de la solución. Se ha encontrado que, a baja concentración de la solución, se obtiene una mezcla de gotas y fibras, y al aumentar la concentración de la solución se promueve la formación de fibras uniformes con el aumento de los diámetros (Bhardwaj & Kundu, 2010). Debe haber una concentración óptima de la solución para el proceso de electroestirado, ya que a bajas concentraciones se forman gotas en lugar de fibras y a altas concentraciones la formación de fibras continuas está restringida, debido a la incapacidad para mantener el flujo de la solución en la punta de la aguja, lo que resulta en la formación de fibras de mayor tamaño (Sukigara *et al.*, 2003). Los investigadores han intentado encontrar una relación entre la concentración de la solución y diámetro de la fibra y se encontró una relación con ley de potencia, donde el aumento de la concentración de la solución, aumenta el diámetro de la fibra electroestirando gelatina (Ki *et al.*, 2005; Jun *et al.*, 2003). La tensión superficial de la solución y la viscosidad también juegan un papel importante en la determinación del rango de concentraciones a partir del cual se pueden obtener fibras continuas en el electroestirado (Deitzel *et al.*, 2001).

## 2. *Peso molecular*

El peso molecular del polímero tiene un efecto significativo en las propiedades reológicas y eléctricas tales como la viscosidad, tensión superficial, conductividad y resistencia dieléctrica (Haghi & Akbari, 2007). Este es otro parámetro importante de la solución que afecta la morfología de la fibra electroestirada, y generalmente las soluciones poliméricas de peso molecular alto se han utilizado en el electroestirado, ya que proporcionan la viscosidad deseada para la generación de fibras. Se ha observado que una solución con un peso molecular demasiado bajo tiende a formar perlas en lugar de fibras y una solución con un alto peso molecular da fibras con diámetros medios más grandes (Bhardwaj & Kundu, 2010).

El peso molecular del polímero se relaciona con las interacciones intermoleculares entre las cadenas del polímero lo que determina la viscosidad de la solución. Por lo tanto, incluso cuando la concentración de polímero es baja, como el caso del ácido poli-L-láctico de alto peso, el polímero puede mantener un número suficiente de entrecruzamiento de las cadenas de polímero, lo que garantiza un nivel suficiente de viscosidad de la solución para producir un chorro uniforme durante el electroestirado y restringir los efectos de la tensión superficial, que juega un papel importante en la formación de perlas sobre las nanofibras electroestiradas (Tan *et al.*, 2005b).

## 3. *Viscosidad*

La viscosidad de la solución juega un papel importante en la determinación del diámetro y la morfología durante el hilado de fibras poliméricas. Se ha encontrado que con una viscosidad muy baja no hay formación de fibras continuas y con muy alta viscosidad hay dificultad en la eyección de chorros a partir de la solución polimérica, por lo tanto, es un requisito tener una viscosidad óptima para el electroestirado. Se han reportado viscosidades máximas que oscilan desde 1 hasta 215 poise (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014). La viscosidad de la solución ha sido fuertemente relacionada con la concentración de la solución y se ha estudiado en una serie de sistemas, incluyendo

poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) (Kim *et al.*, 2005a), poli (óxido de etileno) (PEO) (Huang *et al.*, 2001a; Son *et al.*, 2004c), poli (alcohol vinílico) (PVA) (Ding *et al.*, 2002; Koski *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005b), poli (metacrilato de metilo) (PMMA) (Gupta *et al.*, 2005), poliestireno (Jarusuwannapoom *et al.*, 2005), poli (ácido L-láctico) (PLLA) (Jun *et al.*, 2003), gelatina (Ki *et al.*, 2005) y dextrano (Jiang *et al.*, 2004a).

A muy alta viscosidad, las soluciones poliméricas generalmente exhiben largos tiempos de relajación de la tensión, lo que podría prevenir la fractura de los chorros eyectados durante el electroestirado. Un aumento de la viscosidad de la solución o de la concentración incrementa el diámetro de fibra (Deitzel *et al.*, 2001). Para soluciones de baja viscosidad, la tensión superficial es el factor dominante y se generan perlas o las fibras con defectos (Doshi & Reneker, 1995; Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014)

#### 4. Tensión superficial

La tensión superficial de la solución polimérica depende mucho de las características del solvente y juega un papel crítico en el proceso de electroestirado. Mediante la reducción de la tensión superficial de una solución polimérica, las fibras pueden obtenerse sin perlas (defectos). En general, la alta tensión superficial de una solución inhibe el proceso de electroestirado debido a la inestabilidad de los chorros y la generación de gotitas pulverizadas (Hohman *et al.*, 2001).

La formación de gotitas, perlas y fibras depende de la tensión superficial de la solución y una tensión superficial baja de la solución polimérica ayuda a que el electroestirado ocurra en un campo eléctrico bajo (Haghi & Akbari, 2007). Sin embargo, no necesariamente una tensión superficial baja de un disolvente siempre será más adecuado para el electroestirado. Básicamente, la tensión superficial determina los límites superior e inferior de la ventana del electroestirado si todas las demás variables se mantienen constantes (Fong & Reneker, 1999; Zhang *et al.*, 2005b; Pham *et al.*, 2006).

## 5. Conductividad / densidad de carga superficial

Los polímeros usados en el electroestirado son en su mayoría conductores, con algunas excepciones de materiales dieléctricos y las cargas iónicas en la solución polimérica son de gran influencia en la formación del chorro. La conductividad de la solución se determina principalmente por el tipo de polímero, el disolvente, y la disponibilidad de las sales ionizables (Bhardwaj & Kundu, 2010).

Se ha encontrado que, con el aumento de la conductividad eléctrica de la solución, hay una disminución significativa en el diámetro de las fibras electrohiladas, mientras que con una baja conductividad de la solución, hay resultados insuficientes con respecto al alargamiento del chorro por la fuerza eléctrica para producir fibras uniformes y se pueden observar algunas perlas (defectos). Hayati *et al.* (1987) han mostrado que las soluciones altamente conductoras son extremadamente inestables en presencia de fuertes campos eléctricos, lo que resulta en una inestabilidad de flexión y se produce una amplia distribución de diámetros. Se ha observado que el radio del chorro varía inversamente con la raíz cúbica de la conductividad eléctrica de la solución (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

## Parámetros de procesamiento

### 1. Voltaje aplicado

En el proceso de electroestirado, un elemento crucial es la tensión aplicada a la solución. Sólo después de alcanzar el umbral de tensión, se inducen las cargas necesarias en la solución junto con el campo eléctrico e inicia el proceso de electroestirado. Ya se ha demostrado experimentalmente que la forma inicial de la gota cambia con las condiciones del electroestirado (Baumgarten, 1971).

Se ha sugerido que cuando se aplican voltajes altos hay más eyección del polímero y esto facilita la formación de una fibra de diámetro más grande (Zhang *et al.*, 2005b; Demir *et al.*, 2002). Otros autores han informado que un aumento en el voltaje aplicado

aumenta la fuerza de repulsión electrostática en el chorro del fluido que en última instancia favorece la reducción de diámetro de la fibra. En la mayoría de los casos, una tensión más alta provoca un mayor estiramiento de la solución debido a las mayores fuerzas coulombicas en el chorro. En un voltaje más alto también hay una mayor probabilidad de formación de perlas (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

Larrondo y Manley (1981) mostraron la disminución del diámetro de la fibra por aproximadamente la mitad duplicando el campo eléctrico aplicado. Si bien la tensión influye sobre el diámetro de la fibra, el nivel de significación varía con la concentración de la solución de polímero y de la distancia entre la punta y el colector (Yordem *et al.*, 2008).

## 2. *Velocidad de flujo*

La velocidad del flujo del polímero en la jeringa es un parámetro del proceso importante ya que influye en la velocidad del chorro y la tasa de transferencia del material. Una velocidad de alimentación baja es más deseable, ya que el disolvente tendrá suficiente tiempo para la evaporación (Yuan *et al.*, 2004). Siempre debe haber un caudal mínimo de la solución de hilatura. Se ha observado que el diámetro de la fibra y el diámetro de los poros aumentan con un aumento en la tasa de flujo del polímero en el caso de las fibras de poliestireno (PS) y cambiando la velocidad de flujo, la morfología puede cambiarse ligeramente. Son escasos los estudios sobre la relación entre la alimentación de la solución o el caudal y la morfología y tamaño de la fibra (Zong *et al.*, 2002a; Megelski *et al.*, 2002). En general, las altas tasas de flujo dan lugar a fibras con perlas debido a la falta de disponibilidad de tiempo de secado adecuado antes de alcanzar el colector (Kim *et al.*, 2005a; Yuan *et al.*, 2004).

## 3. *Tipos de colectores*

Un aspecto importante del proceso de electroestirado es el tipo de colector usado. En este proceso, un colector sirve como un sustrato conductor, donde se recogen las nanofibras. En general, el papel de aluminio se usa como un colector, pero debido a la

dificultad en la transferencia de las fibras recogidas y con la necesidad de fibras alineadas para diversas aplicaciones, otros colectores tales como, papel conductor, tejido conductivo, malla de alambre (Wang *et al.*, 2005b), pin (Sundaray *et al.*, 2004), cilindro paralelo o malla (Li & Xia, 2004), varilla, rotación de la rueda giratoria (Xu *et al.*, 2004), líquido no disolvente, tal como el baño de coagulación con metanol (Ki *et al.*, 2005) y otros, son también tipos comunes de los colectores de hoy en día. Con un área menos conductiva, se generarán fibras con perlas. La alineación de las fibras está determinada por el tipo de blanco/colector y su velocidad de rotación (Kumbar *et al.*, 2008). Las fibras generadas se depositan en el colector como una masa aleatoria debido a la inestabilidad de flexión del chorro altamente cargado (Reneker *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 2001a).

#### 4. *Distancia de la punta al colector*

La distancia entre la punta y el colector se ha examinado como otro enfoque para controlar los diámetros de las fibras y la morfología. Se ha encontrado que se requiere una distancia mínima para dar a las fibras tiempo suficiente para secar antes de llegar al colector, de otro modo con las distancias que están demasiado cerca o demasiado lejos, se ha observado la formación de perlas. Un aspecto físico importante de las nanofibras electroestiradas es la capacidad de evaporación del disolvente utilizado para la obtención de la solución polimérica (Jalili *et al.*, 2005). Por lo tanto, es necesaria una distancia óptima entre la punta y el colector que favorezca la evaporación del disolvente de las nanofibras (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

### **Parámetros ambientales**

Además de los parámetros de la solución y de procesamiento, también hay parámetros ambientales que incluyen la humedad, la temperatura, etc, que afectan la producción de fibras electrohiladas. Hay una relación inversa entre la viscosidad y la temperatura. Para soluciones de poliestireno se ha demostrado que al aumentar la humedad hay una aparición de pequeños poros circulares en la superficie de las fibras lo que conduce a la presencia de poros de coalescencia (Casper *et al.*, 2004). Se ha encontrado que, a muy

baja humedad, un disolvente volátil puede secar rápidamente. A veces la velocidad de evaporación es tan rápida en comparación con la eliminación del disolvente de la punta de la aguja que esto genera un problema con el electroestirado. Como resultado, el proceso de electroestirado solamente puede llevarse a cabo durante unos pocos minutos antes de que la punta de la aguja este obstruida (Baumgarten, 1971). También se ha sugerido que la alta humedad puede ayudar a la descarga de las fibras electrohiladas (Li & Xia, 2004).

## **Caracterización de fibras**

La caracterización de las fibras producidas por el proceso de electroestirado sigue siendo una de las tareas más difíciles, como las posibilidades de obtener fibras individuales. En general, las fibras obtenidas tienen caracterizaciones: física, estructural, mecánica y química (Lyons & Ko, 2005). En la actualidad, las nanofibras han atraído la atención de los investigadores debido a sus notables características micro y nano estructurales, de elevada área superficial, tamaño de poro pequeño, y la posibilidad de producción de estructuras tridimensionales que permiten el desarrollo de materiales avanzados con aplicaciones sofisticadas. Para entender las características de la estructura y la morfología de las fibras como una función de los parámetros del proceso, características del material y también los diferentes procesos de electroestirado, diversos estudios se han llevado a cabo (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

### *1. Caracterizaciones físicas*

La caracterización física está asociada con la estructura y la morfología de la muestra y las estructuras internas de las fibras, básicamente determina las propiedades físicas y mecánicas. Las propiedades geométricas de las fibras incluyen diámetro de la fibra, distribución de diámetro, orientación de las fibras, y la morfología de la fibra (por ejemplo, forma de sección transversal y rugosidad de la superficie). Para la caracterización de las propiedades geométricas se utilizan técnicas como la microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de campo de emisión electrónica de barrido (FESEM),

microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) (Srinivasan & Reneker, 1995; Demir *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2002; Megelski *et al.*, 2002; Ayutsede *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2006). La microscopía electrónica de barrido (SEM) ha sido utilizado por muchos investigadores para observar la morfología y el diámetro de las fibras producidas, pero la resolución es inferior a ampliaciones extremas. La microscopía electrónica de transmisión (TEM) es otra alternativa para la obtención de diámetros de fibras extremadamente pequeñas (<300 nm) y la microscopía de fuerza atómica (AFM) es otra técnica que se utiliza para determinar el diámetro de la fibra, pero el proceso de obtención de una medición exacta se hace más difícil debido a la punta de convolución (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

## 2. *Caracterizaciones químicas*

La caracterización de la estructura molecular de las fibras se puede hacer por medio de técnicas como infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN) (How, 1985; Huang *et al.*, 2000). Si mezclamos dos polímeros para la fabricación de nanofibras, no sólo se puede detectar la estructura de los dos materiales, sino también la interacción intermolecular puede ser determinada por el uso de estas técnicas (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

## 3. *Caracterizaciones mecánicas*

La medición precisa de las propiedades mecánicas de la matriz de las fibras es crucial, especialmente para aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, como andamios de tejidos, porque el andamio debe ser capaz de resistir las fuerzas ejercidas por el tejido en crecimiento o durante las actividades fisiológicas y biomecánicas relacionadas, por ejemplo, el flujo sanguíneo pulsado (Chew *et al.*, 2006b).

La caracterización mecánica se consigue mediante la aplicación de ensayos de tensión por cargas para muestras preparadas a partir de esteras de fibras ultra finas no tejidas. Durante la caracterización mecánica de las fibras individuales se debe tener suficiente cuidado en el montaje de la muestra con el fin de evitar daños graves por la

manipulación (Huang *et al.*, 2004). Una variedad de enfoques se ha aplicado hacia la caracterización mecánica de nanofibras y nanocables mediante el empleo de nanoindentación, pruebas de flexión, mediciones de frecuencia de resonancia, y las pruebas de tensión a microescala. Se ha reportado que no hay anisotropía en el comportamiento a la tracción por tensión cuando las nanofibras se recogen en una pantalla de colector estática (Lee *et al.* 2002a). El módulo de Young, la resistencia a la tracción y el alargamiento al quiebre se determinan también mediante la realización de ensayos de tracción con fibras de polímero individuales (Anu Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

Se han obtenido fibras ultrafinas con diámetros por debajo de los 100 nm y una relación entre longitud y anchura mayores a 50, estas presentan gran área superficial por unidad de masa y tamaño de poro pequeño (Palmqvist, 2003). Esta propiedad hace a los tejidos compuestos de fibras electroestiradas excelentes candidatos para diferentes aplicaciones como la formación de películas comestibles y sistemas de encapsulación de compuestos activos.

## **Biopolímeros de interés en la industria de alimentos usados en el proceso de electroestirado**

Una gran variedad de polímeros naturales es utilizada hoy en día en la fabricación de fibras electroestiradas, esto debido a que presentan diversas ventajas en comparación con los polímeros sintéticos entre ellas mejor biocompatibilidad, menor toxicidad y bajo costo de producción. Entre los biopolímeros más utilizados para la fabricación de fibras encontramos proteínas como el colágeno (Swarnalatha *et al.*, 2013), gelatina (Wang *et al.*, 2014), elastina y algunas derivadas de productos alimentarios como amaranto (Aceituno *et al.*, 2015), el maíz (Kayaci y Uyar, 2012) y la soya (Wang *et al.*, 2013); algunos carbohidratos como el quitosano (Geng *et al.*, 2005), la celulosa (Jia *et al.*, 2011) y pululano (Karim *et al.*, 2009). La tabla 1 presenta algunos biopolímeros utilizados para el proceso de electroestirado, así como los diámetros de las fibras obtenidas.

## 1. *Proteínas*

Las proteínas son biopolímeros difíciles de electroestirar, principalmente a causa de sus estructuras secundaria y terciaria, siendo las proteínas globulares las más difíciles de electroestirar, pues presentan poca interacción entre sí debido a su estructura lo que dificulta el proceso de hilado. Es posible llevar a cabo el proceso de electroestirado cuando las proteínas son completamente disueltas en una conformación al azar, por lo que la elección de un buen solvente es de suma importancia. Entre los solventes más utilizados se encuentran el ácido fórmico, ácido acético, trifluoroetanol, 2-hexafluoroetanol y etanol. Entre las proteínas utilizadas para este proceso se encuentran:

### a) *Gelatina*

La gelatina es un biopolímero fácilmente obtenido a partir de la hidrólisis parcial del colágeno, que es de las proteínas estructurales más abundantes que se encuentran en los tejidos conectivos de animales tales como piel, tendones, cartílagos y huesos (Songchotikunpan *et al.*, 2008). La gelatina ha demostrado ser un material prometedor para su uso en ingeniería de tejidos, por lo que se ha estudiado la producción de fibras a partir de esta proteína. El electroestirado solo puede llevarse a cabo a partir de soluciones en las que la gelatina adopta una conformación al azar, el uso de gelatina en conformación de  $\alpha$ -hélice conlleva a la gelificación de la proteína, dando lugar a un aumento de la viscosidad de la solución haciendo imposible el proceso de electroestirado. En general existen dos métodos para la formación de nanofibras con gelatina, el primero de ellos es usando como solvente agua, en estas soluciones se presentan dos problemas: el primero es que a temperatura ambiente es imposible trabajar sin que la proteína gelifique; en segundo lugar, la alta tensión superficial de esta solución conduce a la desestabilización de los chorros y a la formación de gotas (Sajkiewicz y Kolbuk, 2014). Con el fin de elaborar fibras a temperatura ambiente se han utilizado soluciones acuosas acidificadas como lo reportado por Okutan *et al.*, 2014, en donde evaluaron la formación de nanofibras electroestiradas de soluciones de 20% de ácido acético, se modificaron diferentes parámetros como la concentración, el flujo y el voltaje, se observó que cuando se utilizan concentraciones bajas de gelatina no es posible la producción de fibras; por el contrario, en concentraciones de

20% fue posible la formación, mientras que las mejores condiciones de voltaje y flujo fueron 35kV y 0.1mL/h respectivamente, obteniéndose fibras entre los 50-68 nm de diámetro. El siguiente método es el uso de solventes orgánicos como el ácido trifluoroacético y el diclorometano utilizado por Wang y Zhao (2012) para la elaboración de fibras con diámetros 634 nm, de manera adicional estudiaron la adición de un copolímero como el quitosano, que ayudó a reducir los diámetros de las fibras hasta 364 nm.

*b) Soya*

Las proteínas de soya también han ganado un amplio interés en el contexto de electroestirado. La popularidad de las proteínas de soya se encuentra relacionada con su amplio uso en la industria alimentaria y de salud, su bajo costo y amplia disponibilidad. Desafortunadamente las proteínas de soya no pueden ser electroestiradas por sí mismas y requieren el uso de un copolímero, entre los que podemos encontrar el óxido de polietileno (PEO). Se ha observado que la adición de este polímero mejora la formación de fibras a concentraciones superiores al 8% en presencia de surfactantes como el Tritón X-100, este comportamiento se atribuye a un incremento en la viscosidad de solución y una disminución de la conductividad eléctrica, sugiriendo que el PEO interacciona con los grupos amino de la proteína mediante la formación de puentes de hidrógeno (Vega-Lugo y Lim, 2009). Otro copolímero utilizado es el polivinil alcohol (PVA), que permite la formación de fibras con diámetros de 400 a 800 nm dependientes de la concentración de proteína y del pH de la solución (Cho *et al.*, 2010). La lignina ha sido usada como copolímero para la formación de fibras de proteína de soya a partir de soluciones acuosas, las fibras obtenidas presentaron diámetros entre los 124 y 400 nm, se observó que los componentes interaccionaban mediante la formación de puentes de hidrógeno, lo que se relaciona con la pérdida de la estructura secundaria de las proteínas de soya (Salas *et al.*, 2014).

*c) Zeína*

La zeína es una prolamina hidrofóbica extraída del maíz, es conocida por su alta resistencia térmica y excelentes propiedades de barrera (Neo *et al.*, 2013). Se ha reportado

la formación de nanofibras electroestiradas a partir de esta proteína con aplicaciones en acarreadores de compuestos antioxidantes. Neo *et al.*, (2013) incorporó ácido gálico en diferentes concentraciones en nanofibras de zeína, que exhibieron diámetros en el rango de 227 a 387 nm, confiriendo mayor estabilidad térmica al ácido gálico, así como una liberación controlada del activo. Los taninos extraídos de barbatimao fueron incorporados en nanofibras de zeína que presentaron diámetros entre los 120 a 240 nm (De Oliveira *et al.*, 2014). Es importante recalcar que esta proteína puede electroestirarse utilizando como solvente una mezcla de etanol-agua.

d) *Amaranto*

El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) es una planta tradicional Mexicana, la cual posee tanto granos como hojas de un alto valor nutritivo, sin embargo sigue siendo un cultivo subutilizado. Hoy en día, se produce en México anualmente una tonelada de amaranto con fines alimentarios, tales como caramelos, hojuelas y harinas, que son distribuidos en tiendas especializadas en alimentos funcionales (Gorinstein *et al.*, 2001). Una de las características más destacadas de las semillas de amaranto, es su contenido de proteínas de aproximadamente 14-18%, el cual es superior al de la mayoría de los cereales (10% en base seca). Aislados proteicos de esta proteína en mezcla con el pululano han sido utilizados para la fabricación de nanofibras electroestiradas sin defectos, con diámetros que varían entre los 100 y 300 nm (Fig. 2). Se ha demostrado que existe una interacción entre los componentes mediante la formación de puentes de hidrógeno y han permitido la encapsulación de diversos compuestos antioxidantes como el ácido fólico (Aceituno *et al.*, 2014), ácido ferúlico y quercetina (Aceituno *et al.*, 2015), curcumina (Blanco-Padilla *et al.*, 2015) y recientemente la bacteriocina nicina (Soto, *et al.*, 2016). Este sistema ha permitido la liberación controlada de los compuestos activos y la capacidad antioxidante se preservó en una mayor medida en una simulación intestinal en comparación con el compuesto no encapsulado.

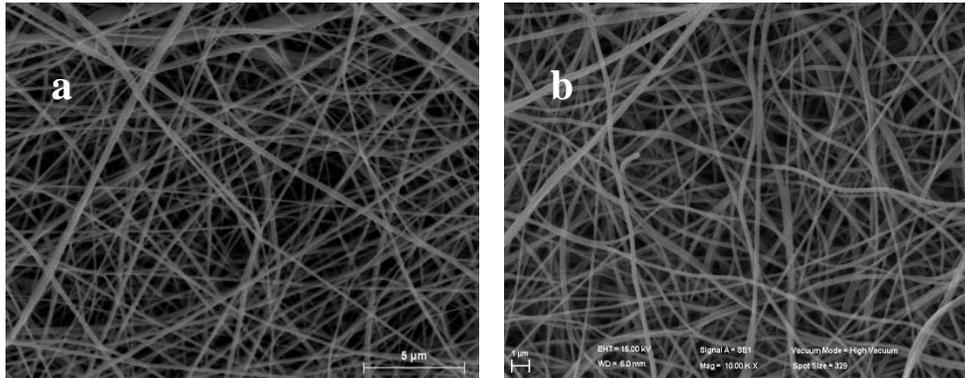


Figura 2. Micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de fibras electroestirada de aislado de proteína de amaranto y pululano a) 80:20 y b) 50:50.

#### e) *Suero lácteo*

Las proteínas del suero lácteo comprenden uno de los principales grupos de proteínas de la leche junto con las caseínas, han sido utilizadas como suplemento alimenticio y para el desarrollo de alimentos funcionales, algunos estudios han demostrado que presentan actividad antimicrobiana y antiviral, lo que cual es una ventaja para la fabricación de nanofibras electroestiradas bioactivas (Ahmed *et al.*, 2016). Diversos estudios han demostrado que no es posible la fabricación de fibras a partir de esta proteína, ya que cuando se electroestira sin copolímero se produce la formación de cápsulas. Se ha utilizado PEI para electroestirar proteínas de suero a partir de soluciones acuosas, se observó que al aumentar la concentración de proteínas se obtenían fibras con diámetros mayores alcanzando los 800 nm cuando se partía de una relación 75:25 (Sullivan *et al.*, 2014). De igual manera el PLC (Poli-épsilon-Caprolactona) ha sido utilizado para la fabricación de nanofibras electroestiradas, sin embargo, se obtuvieron fibras con diámetros en la escala micrométrica, usando como solvente dimetilformamida (Ahmed *et al.*, 2016).

#### 2. *Polisacáridos*

La formación de fibras electroestiradas a partir de polisacáridos depende del grado de entrecruzamiento de las cadenas del polímero, además de la estructura química. La concentración necesaria para el entrecruzamiento de las cadenas de polisacáridos, es aquella en la que los radios hidrodinámicos moleculares comienzan a superponerse. Un comportamiento de dilución de la concentración implica una disminución de la velocidad,

que previene la formación del chorro y de la fibra, por lo tanto, una débil dilución por cizallamiento es esencial para la formación de fibras electroestiradas con polisacáridos.

a) *Almidón*

El almidón es un biopolímero muy abundante y de bajo costo, se encuentra en los tejidos vegetales, tales como hojas, tallos, semillas, raíces y tubérculos, también se encuentra en ciertas algas y bacterias. El almidón presenta gránulos semicristalinos de diferentes tamaños, formas y morfologías dependiendo de su fuente botánica. Sin embargo, la mayoría de los almidones están compuestos de dos moléculas estructuralmente distintas: amilosa, cadenas de glucosa lineales o poco ramificadas con enlaces  $\alpha$  1-4, y amilopectina, una molécula altamente ramificada unida por enlaces  $\alpha$  1-6. La relación amilosa/amilopectina depende del origen botánico (Wang *et al.*, 2016; Kong *et al.*, 2014). Los primeros intentos para la fabricación de fibras de almidón se realizaron aislando la amilosa, sin embargo, el alto costo de este proceso es un obstáculo para la producción a gran escala ya que la amilosa es un componente menor en la mayoría de los almidones (Wang *et al.*, 2016). El almidón de diversas fuentes naturales ha sido electroestirado con o sin copolímeros. El almidón de Yuca se electroestiró en mezcla con ácido poliláctico usando como solventes diclorometano y dimetilsulfoxido, las fibras obtenidas presentaron diámetros desde los 200 nm hasta 2.3 micras (Sunthornvarabhas *et al.*, 2011). Almidón de maíz se mezcló con ácido poliláctico y poli  $\epsilon$ -caprolactona para la formación de fibras con potencial antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Davachi *et al.*, 2017). Para el electroestirado de almidón de maíz sin ayuda de copolímeros, Kong y Ziegler en 2014 desarrollaron un método para la fabricación de fibras, el cual consistía en sumergir la placa colectora en un baño de coagulación lleno de una solución de etanol. Las fibras obtenidas presentaron diámetros en la escala micrométrica. La coagulación afecta la cristalinidad de las fibras, por lo que es necesario un tratamiento de entrecruzamiento posterior (Kong y Ziegler 2014a). Para la encapsulación de compuestos activos en este sistema se probaron dos métodos de encapsulación, uno donde los componentes se mezclan antes del proceso de electroestirado y el segundo donde se mezclaban los componentes en

el baño de coagulación, siendo este último el más apropiado para la encapsulación de compuestos como el ácido palmítico (Kong y Ziegler, 2014b).

#### b) *Celulosa*

La celulosa es uno de los polisacáridos más abundantes cuya estructura química se compone de unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$  1-4. Debido a su estructura, la celulosa es poco soluble en diversos solventes, lo que limita el proceso de electroestirado. Los factores de mayor importancia para el electroestirado de celulosa son el peso molecular y la selección del disolvente (Mendes *et al.*, 2016). Se ha demostrado que la fabricación de fibras de celulosa se puede llevar a cabo mediante el uso de baños coagulantes y el control de temperatura, además se han sintetizado derivados de celulosa con mayor solubilidad, entre los que se encuentran el acetato de celulosa, triacetato de celulosa, metilcelulosa e hidroxipropilcelulosa (Frey, 2008). Se han obtenido nanofibras de acetato de celulosa con diámetros entre los 247-265 nm, que se utilizaron para la protección de vitamina A y E (Taepaiboon *et al.*, 2007). Nanocristales de celulosa se mezclaron con alcohol polivinílico (PVA) en diferentes concentraciones, observándose que a mayor contenido de nanocristales, el diámetro de las fibras disminuía (Huan *et al.*, 2016). Acetato de celulosa se utilizó para la fabricación de fibras acarreadoras de piranosa 2-oxidasa, usando como solvente una mezcla de agua con ácido acético, las fibras obtenidas presentaron diámetros entre los 200 y 400 nm (Panatdasirisuk *et al.*, 2015).

#### c) *Pululano*

El pululano es un polisacárido soluble en agua, producido por *Aureobasidium pullulans*. El polímero lineal se compone principalmente de unidades de maltotriosa interconectadas entre sí por un enlace glicosídico (1, 6). Este patrón de vinculación única dota al pululano de propiedades físicas para la formación de películas fuertes, transparentes, solubles en agua y con baja permeabilidad al oxígeno. Sin embargo, su aplicación en una forma pura para la producción de películas ha sido limitada por sus pobres propiedades mecánicas (frágil, fácil de romper) y su elevado costo (Wu *et al.*, 2013; Xiao *et al.*, 2014). El pululano ha sido electroestirado sólo en soluciones acuosas y DMSO y en mezcla con compuestos como el PVA y montmorillonita, esta última mejora la resistencia y estabilidad térmica de

tracción (Karim *et al.*, 2009). El PVA se utilizó para la fabricación de fibras de pululano en soluciones acuosas mejorando la estabilidad de las fibras (Islam y Yeum, 2013).

Tabla 1. Biopolímeros con potencial aplicación en la industria de alimentos usados en el proceso de electroestirado.

Polímero	Co-polímero	Solvente	Diámetro	Autor
Zeína	Ciclo dextrinas $\gamma$ -CD 10	DMF	60 nm	(Kayaci y Uyar, 2012)
Zeína	Polivinilpirrolidona PVP	Etanol-agua	730 nm	(Jiang, Mo, y Yu, 2012)
Proteína de suero	$\beta$ -lactoglobulina PEO (75:25)	Agua desionizada	668nm	(Sullivan, et al, 2014)
Ciclodextrina	Acetato de celulosa	Etanol		(Celebioglu y Uyar, 2013)
BSA	Mercaptoetanol	Trifluoroetanol/ agua		(Dror et al., 2008)
Caseína	PEO	Agua	100- 500nm	(Xie y Hsieh, 2003)
Gelatina	Quitosano	Ácido trifluoroacético diclorometano	250nm	(Wang X, Yue, y Lee, 2015)
Nanofibras de fibra piña	PVA	Agua destilada		(Costa et al., 2013)
Aislado proteico de soya	PEO	Agua		(Wang, Marcone, Barbut, y Lim, 2013)

Proteína de soya	PEO PLA	Solución de hidróxido de sodio (1%)	200 nm	(Vega-Lugo y Lim, 2009)
Colágeno	PLA Quitosano	Acido fórmico Cloroformo Acetona	500 nm	(Swarnalatha et al., 2013)
Albumina de huevo	Acetato de celulosa	Ácido fórmico y acético	410 nm	(Wongsasulak et al., 2010)

## Aplicaciones de nanofibras

Desde el punto de vista de aplicaciones, el electroestirado está bien establecido en el campo de la espectrometría de masas, los nanodispositivos (Jaworek & Sobczyk, 2008), la electrónica, sistemas de administración de fármacos (Bock *et al.*, 2012), ingeniería de tejidos, textiles y filtración (Subbiah *et al.*, 2005). Sin embargo, su potencial en el campo de la ciencia de los alimentos esta menos explorado. Los resultados de los trabajos de investigación revelan el potencial de estos métodos en la micro y nanoencapsulación de compuestos bioactivos y enzimas alimentarias.

La encapsulación es un área floreciente de investigación con mayor aplicación en la protección y liberación de ingredientes bioactivos. Es un proceso en el cual se atrapa un principio activo, por ejemplo, una molécula activa de un alimento (antioxidantes, ácidos grasos esenciales, vitaminas) o células vivas (probióticos) dentro de un material de pared (polímeros de carbohidratos, proteínas y lípidos). La encapsulación no sólo ayuda en la mejora de la estabilidad, biodisponibilidad y propiedades de liberación controlada de la biomolécula, sino también para enmascarar el olor y el sabor no deseado del compuesto (de Vos *et al.*, 2010). Además, las matrices de encapsulación destinadas a la incorporación de los alimentos deben contener ingredientes de grado alimenticio, es decir, sustancias que se consideran generalmente como seguras (GRAS). Por lo anterior, un enfoque para crear tales

sistemas de encapsulación en micro y nanoescala sería el uso de biopolímeros de calidad alimentaria. Los sistemas de entrega basados en polímero son ampliamente reconocidos en los sectores biomédico y farmacéutico (Freiberg & Zhu, 2004).

Del mismo modo, se conoce que se han usado como materiales de pared para la técnica de electroestirado polisacáridos como son quitosano, alginato, celulosa y sus derivados y dextranos. Por ejemplo, la producción de nanofibras (diámetro promedio de 140 nm) de quitosano hidrolizado se han optimizado con respecto a las condiciones de electroestirado y la concentración de la solución de ácido acético (Homayoni *et al.*, 2009). Por otro lado, es bien conocido que se han optimizado parámetros de la técnica de electroestirado usando biopolímeros como proteínas y polisacáridos, por lo que recientemente se ha planteado utilizar carbohidratos de bajo peso molecular (maltodextrinas o almidón resistente) junto con la adición de tensoactivos adecuados (tween 20, span 20, lecitina) (Perez-Masiá *et al.*, 2014).

## Conclusiones

La técnica de electroestirado permite la obtención de fibras de diámetros desde nm hasta  $\mu\text{m}$  a través de la acción de un campo eléctrico aplicado a una solución polimérica. En el área de alimentos, el electroestirado tiene potencial para la obtención de sistemas micro y nanoestructurados que pueden ser utilizados en el desarrollo de alimentos funcionales y empaques inteligentes. Aunque existen varias fuentes naturales de materiales considerados como GRAS para ser usados en aplicaciones en alimentos, se requiere de la identificación de biopolímeros de bajo costo que puedan ser electroestirados.

## Referencias

Aceituno-Medina, M., Mendoza, S., Lagaron, J. M., & Lopez-Rubio, A. Photoprotection of folic acid upon encapsulation in food-grade amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*

L.) protein isolate - Pullulan electrospun fibers. *LWT - Food Science and Technology*. **2014**, 62(2), 970–975.

Aceituno-Medina, M., Mendoza, S., Rodríguez, B. A., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. Improved antioxidant capacity of quercetin and ferulic acid during in-vitro digestion through encapsulation within food-grade electrospun fibers. *Journal of Functional Foods*. **2015**, 12, 332–341.

Ahmed Said Mahmoud, Ahmed Hanaa, Tian Chang, Tu Qin, Guo Yadan, Wang Jinyi. Whey protein concentrate doped electrospun poly(epsilon-caprolactone) fibers for antibiotic release improvement. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **2016**, 143, 371-381.

Anu Bhushani, J., & Anandharamakrishnan, C. Electrospinning and electrospaying: Potencial food based applications. *Food Science & Technology*. **2014**, 21-33.

Ayutsede, J., Gandhi, M., Sukigara, S., Micklus, M., Chen, H., & Ko, F. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning. Part 3: characterization of electrospun nonwoven mat. *Polymer*. **2005**, 1625–34.

Baumgarten, P. Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *Journal colloid interface science*. **1971**, 71-79.

Bhardwaj, N., & Kundu, S. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. **2010**, 325-347.

Blanco-Padilla, A., López-Rubio, A., Loarca-Piña, G., Gómez-Mascaraque, L. G., & Mendoza, S. Characterization, release and antioxidant activity of curcumin-loaded amaranth-pullulan electrospun fibers. *LWT - Food Science and Technology*. **2015**, 1–8.

Electroestirado. Producción de fibras con biopolímeros de interés en la industria de alimentos. K. Soto *et al.*

- Bock, N., Dargaville, T., & Woodruff, M. (2012). Electro spraying of polymers with therapeutic molecules: state of the art. *Progress in polymer science*, 1510-1551.
- Caracciolo P. C., Buffa F. A. y Abraham G. A. Matrices poliuretánicas nanofibras obtenidas por el proceso de electrospinning. Segundo Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia y Tecnología de Materiales. **2008**.
- Casper, C., Stephens, J., Tassi, N., Chase, D., & Rabolt, J. (2004). Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules.*, 573-578.
- Celebioglu, A., & Uyar, T. Electrospinning of nanofibers from non-polymeric systems: Electrospun nanofibers from native cyclodextrins. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2013**, 404, 1-7.
- Chew, S., Hufnagel, T., Lim, C., & Leong, K. Mechanical properties of single electrospun drug-encapsulated nanofibres. *Nanotechnology*. **2006b**, 3880-91.
- Cho Daehwan, Netravali Anil N., Lak Joo Yong. Mechanical properties and biodegradability of electrospun soy protein Isolate/PVA hybrid nanofibers. *Polymer Degradation and Stability*. **2010**, 5, 747-754.
- Costa, L. M. M., de Olyveira, G. M., Cherian, B. M., Leão, A. L., de Souza, S. F., & Ferreira, M. Bionanocomposites from electrospun PVA/pineapple nanofibers/*Stryphnodendron adstringens* bark extract for medical applications. *Industrial Crops and Products*. **2013**, 41(1), 198-202.
- Davachi Seyed Mohammad, Heidari Behzad Shiroud, Hejazi Iman, Seyfi Javad, Oliaei Erfan, Farzaneh Arman, Rashedi Hamid. Interface modified polylactic acid/starch/poly  $\epsilon$ -caprolactone antibacterial nanocomposite blends for medical applications. *Carbohydrate Polymers*. **2017**, 155, 336-344.

- De Oliveira Mori, C. L. S., Dos Passos, N. A., Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., Mori, F. A., Carvalho, A. G., ... Tonoli, G. H. D. Electrospinning of zein/tannin bio-nanofibers. *Industrial Crops and Products*. **2014**, 52, 298–304.
- de Vos, P., Faas, M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. **2010**, 292-302.
- Deitzel, J., Kleinmeyer, J., Harris, D., & Tan, N. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymers*. **2001**, 261-272.
- Demir, M., Yilgor, I., Yilgor, E., & Erman, B. Electrospinning of polyurethane fibers. *Polymer*. **2002**, 3303-3309.
- Ding, B., Kim, H., Lee, S., Shao, C., Lee, D., & Park, S. Preparation and characterization of a nanoscale poly (vinyl alcohol) fiber aggregate produced by an electrospinning method. *Journal polymer*. **2002**, 1261-1268.
- Doshi, J., & Reneker, D. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal Electrost.* **1995**, 151-156.
- Dror, Y., Ziv, T., Makarov, V., Wolf, H., Admon, A., & Zussman, E. Nanofibers made of globular proteins. *Biomacromolecules*. **2008**, 9(10), 2749–2754.
- Duque Sánchez Lina Marcela, Rodriguez Leonardo, López Marcos. Electrospinning: la era de las nanofibras. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. **2013**. 14(1),10-27.
- Fong, H., & Reneker, D. Elastomeric nanofibers of styrene–butadiene–styrene tri-block copolymers. *Journal polymers Science By Polymer Physical*. **1999**, 3488-3493.
- Freiberg, S., & Zhu, X. Polymer microspheres for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. **2004**, 1-18.

- Frey, M. W. Electrospinning Cellulose and Cellulose Derivatives. *Polymer Reviews*. **2008**, 48(2), 725-391.
- Gamboa W.; Mantilla O.; Castillo V. Producción de micro y nanofibras a partir de la técnica de “electrospinning” para aplicaciones farmacológicas. Séptimo Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. **2007**.
- Geng, X., Kwon, O.-H., & Jang, J. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*. **2005**, 26(27), 5427–32.
- Ghorani Behrouz , Tucker Nick. Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocolloids*. **2015**, 51, 227-240.
- Gorinstein, S., Delgado-Licon, E., Pawelzik, E., Permady, H.H., Weisz, M., Trakhtenberg, S. Characterization of soluble amaranth and soybean proteins based on fluorescence, hydrophobicity, electrophoresis, amino acid analysis, circular dichroism, and differential scanning calorimetry measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2001**, 49: 5595-5601.
- Gupta, P., Elkins, C., Long, T., & Wilkes, G. Electrospinning of linear homopolymers of poly (methylmethacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer*. **2005**, 4799-4810.
- Haghi, A., & Akbari, M. Trends in electrospinning of natural nanofibers. *Physical Status Solidi*. **2007**, 1830-1834.
- Hayati, I., Bailey, A., & Tadros, T. Investigations into the mechanisms of electrohydrodynamic spraying of liquids. 1. Effect of electric-field and the environment on pendant drops and factors affecting the formation of stable jets and atomization. *Journal colloid interface science*. **1987**, 205-221.

- Hohman, M., Shin, M., Rutledge, G., & Brenner, M. Electrospinning and electrically forced jets. II. Applications. *Physical fluids*. **2001**, 2221-2236.
- Homayoni Homa, Hosseini Ravandi Seyed Abdolkarim, Valizadeh Masoumeh. Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohydrate Polymers*. **2009**, 77,656–661.
- How, T. (1985). US Patente nº 4552707.
- Huan Siqi, Bai Long, Cheng Wanli, Han Guangping. Manufacture of electrospun all-aqueous poly(vinyl alcohol)/cellulose nanocrystal composite nanofibrous mats with enhanced properties through controlling fibers arrangement and microstructure. *Polymer*. **2016**, 92, 25-35.
- Huang , L., McMillan, R., Apkarian, R., Pourdeyhimi, B., Conticello, V., & Chaikof, E. Generation of synthetic elastin-mimetic small diameter fibers and fiber networks. *Macromolecules*. **2000**, 2989-97.
- Huang, L., Nagapudi, K., Apkarian, R., & Chaikof, E. Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *Journal biomaterials*. **2001a**, 979-993.
- Huang, Z., Zhang, Y., & Ramakrishna, S. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer*. **2004**, 5361-8.
- Islam Md. Shahidul, Yeum Jeong Hyun. Electrospun pullulan/poly(vinyl alcohol)/silver hybrid nanofibers:Preparation and property characterization for antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2013**, 436, 279-286.
- Jalili, R., Hosseini, S., & Morshed, M. The effects of operating parameters on the morphology of electrospun polyacrylonitrile nanofibres. *Iran polymer journal*. **2005**, 1074-1081.

- Jarusuwannapoom, T., Hongrojjanawiwat, W., Jitjaicham, S., Wannatong, L., Nithitanakul, M., & Pattamaprom, C. Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. *European polymers Journal*. **2005**, 409-421.
- Jaworek, A., & Sobczyk, A. Electrosplaying route to nanotechnology: an overview. *Journal of Electrostatics*. **2008**, 197-219.
- Jia Baoquan, Zhou Jinping, Zhang Lina. Electrospun nano-fiber mats containing cationic cellulose derivatives and poly (vinyl alcohol) with antibacterial activity. *Carbohydrate Research*. **2011**, 346, 1337–1341.
- Jiang, H., Fang, D., Hsiao, B., Chu, B., & Chen, W. Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules*. **2004**, 326-333.
- Jiang, Y. N., Mo, H. Y., & Yu, D. G. Electrospun drug-loaded core-sheath PVP/zein nanofibers for biphasic drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. **2012**. 438(1-2), 232–239.
- Jun, Z., Hou, H., Schaper, A., Wendorff, J., & Greiner, A. Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning influence of solution viscosity and electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology. *e-Polymer*. **2003**, 1-9.
- Karim, M. R., Lee, H. W., Kim, R., Ji, B. C., Cho, J. W., Son, T. W., Yeum, J. H. Preparation and characterization of electrospun pullulan/montmorillonite nanofiber mats in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*. **2009**, 78(2), 336–342.
- Kayaci, F., & Uyar, T. Electrospun zein nanofibers incorporating cyclodextrins. *Carbohydrate Polymers*. **2012**, 90(1), 558–568.
- Ki, C., Baek, D., Gang, K., Lee, K., Um, I., & Park, Y. Characterization of gelatin nanofibers prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer*. **2005**, 5094-5102.

- Kim, K., Jeong, L., Park, H., Shin, S., Park, W., & Lee, S. Biological efficacy of silk fibroin nanofiber membranes for guided bone regeneration. *Journal Biotechnology*. **2005**, 327-339.
- Kong Lingyan, Ziegler Gregory R. Formation of starch-guest inclusion complexes in electrospun starch fibers. *Food Hydrocolloids*. **2014b**, 38, 211-219.
- Kong Lingyan, Ziegler Gregory R. Formation of starch-guest inclusion complexes in electrospun starch fibers. *Food Hydrocolloids*. **2014a**, 38, 211-219.
- koski, A., Yim, K., & Shivkumar, S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials letters*. **2004**, 493-497.
- Kumbar, S., Nukavarapu, S., James, R., Hogan, M., & Laurencin, C. Recent patents on electrospun biomedical nanostructures: an overview. *Biomedical eng .* **2008**, 68-78.
- Larrondo, L., & Manley, R. Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I. experimental observations on fiber formation and properties. *Journal polymer science*. **1981**, 909-920.
- Lee, J., Choi, K., Ghim, H., & Kim, H. Role of molecular weight of a tactic poly (vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning. *Journal application polymers*. **2004** 1638-1646.
- Lee, K., Kim, H., La, Y., Lee, D., & Sung, N. Influence of a mixing solvent with tetrahydrofuran and N, N-dimethylformamide on electrospun poly (vinylchloride) nonwoven mats. *Journal polymer Science*. **2002**, 2259-68.
- Li, D., & Xia, Y. Electrospinning of nanofibers: reinverting the wheel? *Advanced Materials*. **2004**, 1151-1170.

- Li, W., Laurencin, C., Caterson, E., Tuan RS., & Ko, F. Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering. *Journal biomedical material*. **2002**, 613-621.
- Lyons, J., & Ko, F. electrospinning of polymers: a review. *Polymer news*. **2005**, 1-9.
- Megelski, S., Stephens, J., Chase, D., & Rabolt, J. Micro-and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*. **2002**, 8456-8466.
- Mendes Ana C., Stephansen Karen, Chronakis Ioannis S.. Electrospinning of Food Proteins and Polysaccharides. *Food Hydrocolloids*. **2016**, doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.022.
- Neo, Y. P., Swift, S., Ray, S., Gizdavic-Nikolaidis, M., Jin, J., & Perera, C. O. Evaluation of gallic acid loaded zein sub-micron electrospun fibre mats as novel active packaging materials. *Food Chemistry*. **2013**, *141*(3), 3192–3200.
- Okutan, N., Terzi, P., & Altay, F. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*. **2014**, 39, 19–26.
- Palmqvist, A. E. C. Synthesis of ordered mesoporous materials using surfactant liquid crystals or micellar solutions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*. **2003**, 8, 145–155.
- Panatdasirisuk Weerapha, Vongsetskul Thammasit, Sucharitakul Jeerus, Chaiyen Pimchai, Tangboriboonrat Pramuan. Functionalized electrospun regenerated cellulose fibers for immobilizing pyranose 2-oxidase. *Reactive and Functional Polymers*. **2015**, 85, 45-51.
- Park, K., Jung, S., Lee, S., Min, B., & Park, W. (2006). Biomimetic nanofibrous scaffolds: preparation and characterization of chitin/silk fibroin blend nanofibers. *International Journal biology macromolecules*, 165-73.
- Perez-Masiá, R., Lagaron, J., & Lopez-Rubio, A. Surfactantaided electrospraying of low molecular weght carbohydrate polymers from aqueous solutions. *Carbohydrate polymers*. **2014**, 249-255.

Electroestirado. Producción de fibras con biopolímeros de interés en la industria de alimentos. K. Soto *et al.*

- Pham, Q., Sharma, U., & Mikos, A. Electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microfiber and multilayer nanofiber/microfiber scaffolds: characterization of scaffolds and measurement of cellular infiltration. *Biomacromolecules*, . **2006**, 2796-2805.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W. E., Yong, T., Ma, Z. W. & Ramaseshan, R. Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today*. **2006**, 9, 40-50.
- Reneker, D., Yarin, A., Fong, H., & Koombhongse, S. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *Journal Application physical*. **2000**, 4531-4547.
- Rogina, A. Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Applied Surface Science*. **2014**, 296, 221–230.
- Salas Carlos, Agoc Mariko, Lucian A. Lucia, Rojas Orlando J. Synthesis of soy protein–lignin nanofibers by solution electrospinning. **2014**, 85, 221-227.
- Shin, Y., Hohman, M., Brenner, M., & Rutledge, G. Experimental characterization of electrospinning: the electrically forcedjet and instabilities. *Polymer*. **2001a**, 9955-9967.
- Son , W., Youk, J., Lee, T., & Park, W. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers. *Polymers*. **2004c**, 2959-2966.
- Songchotikunpan P, Tattiyakul J, Supaphol P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. *Int J Biol Macromol*. **2008**, 42, 247–55.
- Soto, K.M., Hernandez-Iturriga, M., Loarca-Piña, G., Luna-Bárceñas, G., Carlos A. Gómez-Aldapa, C. A., Mendoza S. Stable nisin food grade electrospun nanofibers. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, en prensa.

- Srinivasan, G., & Reneker, D. Structure and morphology of small diameter electrospun Aramid fibers. *Aramid fibers.*,**1995**, 195-201.
- Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., & Ramkumar, S.S. Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science.* **2005**, *96*(2), 557–569.
- Sukigara, S., Gandhi, M., Ayutsede, J., Micklus, M., & Ko, F. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning - Part 1: processing parameters and geometric properties. *Polymer.* **2003**, 5721-5721.
- Sullivan, S. T., Tang, C., Kennedy, A., Talwar, S., & Khan, S. a. Electrospinning and heat treatment of whey protein nanofibers. *Food Hydrocolloids.* **2014**, *35*, 36–50.
- Sundaray, B., Subramanian, V., Natarajan, T., Xiang, R., Chang, C., & Fann, W. Electrospinning of continuous aligned polymer fibers. *Application physical letter.* **2004**, 1222-1224.
- Sunthornvarabhas Jackapon, Chatakanonda Pathama, Piyachomkwan Kuakoon, Sriroth Klanarong. Electrospun polylactic acid and cassava starch fiber by conjugated solvent technique. *Materials Letters.* **2011**, *65*, 985-987.
- Swarnalatha, B., Nair, S. L., Shalumon, K. T., Milbauer, L. C., Jayakumar, R., Paul-Prasanth, B., ... Nair, S. V. Poly (lactic acid)-chitosan-collagen composite nanofibers as substrates for blood outgrowth endothelial cells. *International Journal of Biological Macromolecules.* **2013**, *58*, 220–224.
- Taepaiboon, P., Rungsardthong, U., & Supaphol, P. Vitamin-loaded electrospun cellulose acetate nanofiber mats as transdermal and dermal therapeutic agents of vitamin A acid and vitamin E. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics : Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.* **2007**, *67*(2), 387–397.

Electroestirado. Producción de fibras con biopolímeros de interés en la industria de alimentos. K. Soto *et al.*

- Tan, E., Inai, R., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. *Polymer*. **2005**, 6128-6134.
- Vega-Lugo, A. C., & Lim, L. T. Controlled release of allyl isothiocyanate using soy protein and poly(lactic acid) electrospun fibers. *Food Research International*. **2009**, 42(8), 933–940.
- Wang Shilu, Zhao Guoming. Quantitative characterization of the electrospun gelatin–chitosan nanofibers by coupling scanning electron microscopy and atomic force microscopy. *Materials Letters*. **2012**, 79, 14–17.
- Wang Shuhong, Sun Zhiyao, Yanb Eryun, Yuan Jihong, Gao Yang, Bai Yuhao, Chen Yu, Wang Cheng, Zheng Yongjie, Jing Tao. Magnetic composite nanofibers fabricated by electrospinning of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/gelatin aqueous solutions. *Materials Science and Engineering: B*. **2014**, 190, 126-132.
- Wang Wenyu, Jin Xin, Zhu Yonghao, Zhu Chengzhang, Yang Jian, Wang Hongjie, Lin Tong. Effect of vapor-phase glutaraldehyde crosslinking on electrospun starch fibers. *Carbohydrate Polymers*. **2016**, 140, 356-361.
- Wang, S., Marcone, M. F., Barbut, S., & Lim, L. T. Electrospun soy protein isolate-based fiber fortified with anthocyanin-rich red raspberry (*Rubus strigosus*) extracts. *Food Research International*. **2013**, 52(2), 467–472.
- Wang, X., Um, I., Fang, D., Okamoto, A., Hsiao, B., & Chu, B. Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments. *Polymer*. **2005**, 4853-4867.
- Wang, X., Yue, T., & Lee, T. Development of Pleurocidin-poly(vinyl alcohol) electrospun antimicrobial nanofibers to retain antimicrobial activity in food system application. *Food Control*. **2015**, 54.

- Wongsasulak, S., Patapeejumruswong, M., Weiss, J., Supaphol, P., & Yoovidhya, T. Electrospinning of food-grade nanofibers from cellulose acetate and egg albumen blends. *Journal of Food Engineering*. **2010**, 98(3), 370–376.
- Xiao Qian, Tong Qunyi, Lim Loong-Tak. Drying process of pullulan edible films forming solutions studied by ATR-FTIR with two-dimensional correlation spectroscopy. *Food Chemistry*. **2014**, 150, 267–273.
- Xie, J., & Hsieh, Y. Lo. Ultra-high surface fibrous membranes from electrospinning of natural proteins: Casein and lipase enzyme. *Journal of Materials Science*. **2003**, 38, 2125–2133.
- Xu, C., Inai, R., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials*. **2004**, 877-886.
- Yordem, O., Papila, M., & Menciloglu, Y. Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: an investigation by response surface methodology. *Materials Des*. **2008**, 34-44.
- Yuan, X., Zhang, Y., Dong, C., & Sheng, J. Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. *Polymer*. **2004**, 1704-1710.
- Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., & Sheng, J. Study on morphology of electrospun poly (Vinyl alcohol) mats. *Eur polym J*. **2005b**, 423-432.
- Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B., & Chu, B. Structure and process relationship of electrospun bioadsorbable nanofiber membrane. *Polymer*. **2002a**, 4403-4412.

## 9.HIDROGELES

**Diana Karina Baigts Allende**

**Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico y de  
Estudios Superiores de Monterrey**

[dbaigts@itesm.mx](mailto:dbaigts@itesm.mx)

**Rosa Jarumy López Rivera**

**Tecnología Alimentaria. CIATEJ, A.C.**

**Eristeo García-Marquez**

**Unidad Noreste. CIATEJ, A.C.**

[egarcia@ciatej.mx](mailto:egarcia@ciatej.mx)

### **Introducción**

Los hidrogeles se definen como sistemas duales o multicomponentes con redes tridimensionales de cadenas poliméricas, donde los espacios vacíos entre las macromoléculas que lo conforman pueden ser ocupados por agua, incrementando su volumen y/o modificando su forma (Gaharwar, Peppas, & Khademhosseini, 2014).

La investigación referente a este tipo de materiales dio inicio entre 1955 y 1960, con un artículo publicado por Wichterle y Lim (Wichterle y Lim, 1960), donde desarrollaron hidrogeles del copolímero hidroxietilmetacrilato (HEMA), el cual presentó propiedades mecánicas adecuadas para ser aplicados en lentes de contacto. A partir de este hallazgo y gracias a la investigación, sobre las múltiples aplicaciones que se pueden derivar, en función de las propiedades físicas, químicas y biológicas de estos biomateriales, se ha incrementado el número de publicaciones referente al tema a lo largo de los años (Fig. 1) (Gaharwar y *col.*, 2014)

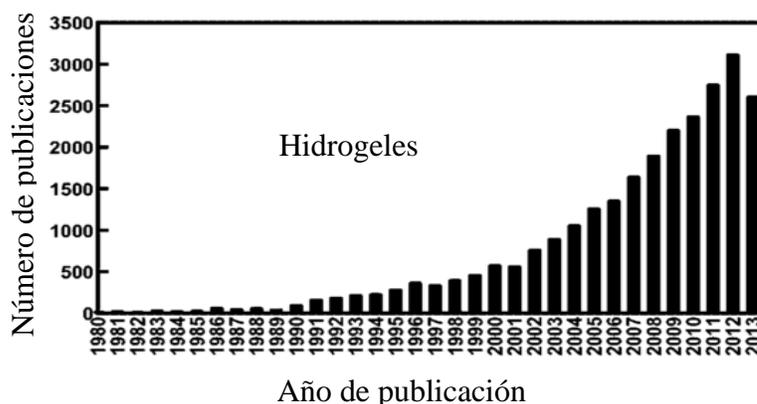


Fig. 1. Número de publicaciones referentes a hidrogeles (Gaharwar y *col.*, 2014)

Actualmente es posible describir a los hidrogeles y conocer todas sus bondades por el avance tecnológico y científico que se ha destinado a su estudio. Como bien es sabido, estos materiales, son capaces de retener grandes cantidades de agua, esto debido a la presencia de grupos hidrofílicos ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{CONH}$ ,  $-\text{CONH}_2$  y  $-\text{SO}_3\text{H}$ ) en los polímeros que forman las redes del hidrogel (Hamidi y *col.*, 2008). Por otro lado, la resistencia a la disolución en agua está limitada por el tipo de entrecruzado entre las cadenas poliméricas.

Una vez que se tiene el hidrogel formado, existen diversos factores que pueden modificar su grado de hidratación, ya sean estímulos físicos (temperatura, campo eléctrico, luz, presión y sonido) o químicos (pH, fuerza iónica, solvente) (Ahmed, 2013), o incluso desde antes de ser elaborados se puede predecir su comportamiento en función del tipo (natural, sintético, carga, etc.), concentración y relación de polímeros que se utilicen (Abruzzo y *col.*, 2012).

## Clasificación de hidrogeles

Estos materiales poliméricos pueden ser clasificados con base en algunas características que estos presenten (diagrama 1). La forma más general de clasificarlos es con base en el origen de polímero, ya sea natural (ej. Pululano, agarosa, fibrina) o sintético (ej. Poliacrilato, acrilamida, poliéster). También puede ser clasificado de acuerdo a la composición polimérica, cuando se utiliza un solo polímero se le denomina homopolímero, cuando contemplan dos o más monómeros distintos con al menos un componente

hidrofílico se les llama co-polímeros, por último, los hidrogeles multi-poliméricos interpenetrados son aquellos formados por dos polímeros los cuales pueden ser naturales, sintéticos o una mezcla de ambos. Otras clasificaciones están dadas por el tipo de entrecruzado de las cadenas poliméricas, la presencia o ausencia de cargas eléctricas entre las cadenas poliméricas, naturaleza de los grupos laterales, la respuesta a efectos externos y, por último la estructura física del hidrogel (Ahmed, 2013; Deligkaris y *col.*, 2010). Los materiales naturales más utilizados en la preparación de estos sistemas son polímeros aniónicos como la pectina, carragenina, sulfato dextrano; catiónicos como el quitosano y poli-lisina y otros como gelatina, fibrina, carboximetil y agarosa entre otros (Hamidi y *col.*, 2008).

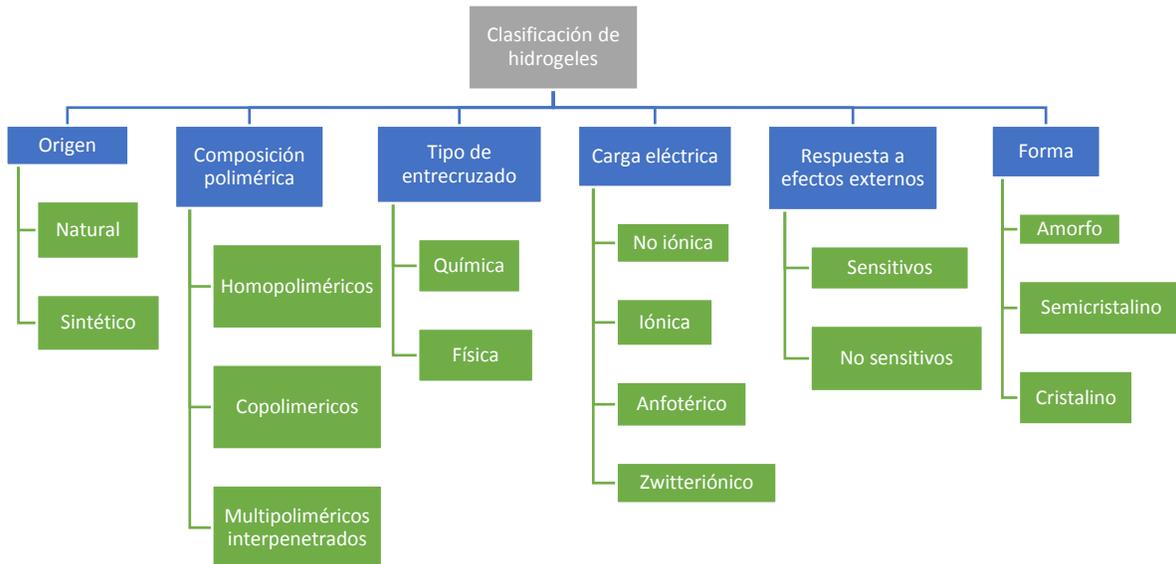


Diagrama 1. Distintos tipos de hidrogeles basados en los tipos de polímeros utilizados para su preparación, y propiedades fisicoquímicas obtenidas.

### Formación de los hidrogeles

Los hidrogeles, al ser redes poliméricas entrecruzadas pueden ser elaborados con diversas técnicas (copolimerización, polimerización entrecruzada de radicales libres) que permitan el entrecruzamiento entre monómeros hidrofílicos con entrecruzadores multifuncionales.

De manera general, se requieren tres elementos para la elaboración de hidrogeles: un monómero, un iniciador, y un entrecruzante. Es necesario el uso de soluciones acuosas que controlen la generación de calor de la reacción de polimerización, para controlar las propiedades finales del hidrogel. Una vez que se ha formado el gel, es necesario que se lave para eliminar cualquier tipo de impureza que haya dejado el proceso de preparación (Ahmed, 2013).

Para los hidrogeles con polímeros lineales solubles en agua, ya sea naturales o sintéticos se pueden formar de distintas maneras (Ahmed, 2015):

- Mediante la unión de cadenas poliméricas con reacciones químicas
- Con radiación ionizante que genere una cadena de radicales libres y sirva de vínculos
- Por interacciones físicas (electrostáticas, entrecruzado y formación de cristales).

## **Aplicaciones de los hidrogeles**

El carácter hidrofílico, la biocompatibilidad, el fácil moldeo (películas, esferas, emulsiones, membranas, etc) y la capacidad de retener en su matriz compuestos bioactivos, son características de los hidrogeles, que los han colocado como biomateriales con potencial de ser aplicados en la industria farmacéutica, biomédica y agroalimentaria, entre otras (Ahmed, 2013; Gaharwar *y col.*, 2014).

### *1. Industria alimentaria*

Existen una gran variedad de compuestos que han sido encapsulados utilizando hidrogeles entre los que se encuentran los fenólicos (Hoffman, 2012; Munin y Edwards-Lévy, 2011; Nuñez-Sánchez *y col.*, 2014). Actualmente se han caracterizado miles de compuestos fenólicos en diversas plantas, los cuales son ampliamente utilizados como aditivos en el procesamiento de alimentos para aumentar su calidad nutricia, o como colorantes naturales y agentes conservadores de sabor. Por otra parte, la naturaleza antioxidante de los polifenoles permite incrementar la estabilidad de ciertos alimentos al prevenir la peroxidación lipídica (López-Alarcón y Denicola, 2013). Es por esto que el uso

de estos compuestos puede representar implicaciones económicas favorables en la industria alimentaria, además del posible desarrollo de productos alimenticios de mayor calidad y contenido nutricional (Munin y Edwards-Lévy, 2011).

Sin embargo, la baja biodisponibilidad e inestabilidad (fácilmente degradables) de los compuestos fenólicos, aunado a su sabor desagradable, hacen que su administración exija una formulación, en la cual se genere un producto final capaz de mantener la integridad estructural y funcional de los polifenoles, incrementar la biodisponibilidad y solubilidad en agua y enmascarar el sabor, además de permitir que el compuesto llegue activo a la zona en que se desea (Munin y Edwards-Lévy, 2011)

Existen diversas alternativas que se han ido desarrollando con el fin de cumplir con los requisitos descritos anteriormente, la encapsulación es de las principales. Múltiples técnicas de micro encapsulación físicas, químicas y fisicoquímicas han sido implementadas. Los resultados han hecho posible desarrollar productos comerciales no sólo en la industria de alimentos, sino también en la farmacéutica (Lupo y *col.*, 2015).

La aplicación de los hidrogeles a partir de polisacáridos en la industria alimenticia está en constante incremento, porque se utilizan como excipientes acarreadores de compuestos inestables y, permiten incrementar su biodisponibilidad al ser ingeridos (López-Alarcón y Denicola, 2013). Cabe mencionar que la composición y la estructura específica de los excipientes dependen de la naturaleza del bioactivo, así como de los factores afectan la biodisponibilidad durante su trayecto por el tracto gastrointestinal (McClements y Xiao, 2014).

Los excipientes deben tener propiedades fisicoquímicas y sensoriales que sean agradables para el consumidor. Así mismo, el alimento o la bebida que sea seleccionada para adicionar el bioactivo, deberá de ser fácilmente incorporado en la formulación y disponible en la dieta diaria de una persona (McClements y Xiao, 2014).

Deladino, y *col.*, (2013) desarrollaron un sistema acarreador de extracto de yerba mate para enriquecer sopas instantáneas. La yerba mate es un árbol nativo de América del sur, se ha reportado que contiene compuestos con propiedades antioxidantes, debido al alto contenido de polifenoles de su extracto acuoso (Córdoba y *col.*, 2013; Deladino y *col.*, 2013). El sistema de encapsulamiento de dichos compuestos, consistió en esferas de

hidrogel de alginato-quitosano. Los compuestos encapsulados fueron evaluados para discernir si era posible añadirlas a un producto comercial. La liberación cinética del extracto en un sistema gástrico e intestinal simulado, demostró que las capsulas alginato-quitosano retenían una mayor cantidad de polifenoles antes de llegar al sistema intestinal simulado en comparación con capsulas elaboradas solamente con alginato, determinando la eficiencia del material cargado y liberado de las esferas.

De manera similar Córdoba, y *col.*, (2013), trabajaron con hidrogeles de alginato de calcio cargados con extractos de yerba mate, este polisacárido es soluble en agua y puede formar esferas de hidrogel de manera muy sencilla con tan solo agregar la solución acuosa en gotas a otra solución catiónica divalente o polivalente. La adición de un segundo acarreador evita la pérdida del compuesto encapsulado, el segundo biopolímero utilizado fue almidón de maíz, el cual fue utilizado como modulador de liberación del compuesto bioactivo. Sus resultados mostraron que efectivamente la adición de almidón al hidrogel permitió incrementar la eficiencia en un 65%. Por otra parte, se determinaron parámetros cinéticos y los mecanismos de liberación, con el fin de simular el periodo de tiempo y el comportamiento del producto dentro del proceso de digestión.

Otra investigación donde se emplea el alginato para la elaboración hidrogeles, es el publicado por Lupo y *col.*, (2015), en este trabajo emplea el alginato por ser no tóxico, versátil y económico, para encapsular extractos de cocoa, los cuales son ricos en polifenoles con propiedades antioxidantes con potencial para ser implementados en alimentos funcionales. El encapsulamiento de la cocoa permite regular el sabor amargo y la coloración, con el fin de lograr aceptación por los consumidores. Para identificar la formulación más adecuada para las esferas alginato/cocoa, se estudió el efecto del método de extrusión con dos mecanismos de gelificación interna y externa, concentración del extracto y calcio, sobre el tamaño y textura de las capsulas. Los investigadores reportan efecto significativo del mecanismo de gelificación sobre el tamaño de las esferas producidas para todas las formulaciones.

Mun, y *col.*, (2015), comparó tres sistemas de liberación donde incorporó el  $\beta$ -caroteno por su alta actividad de pro-vitamina A. Los estudios indicaron que el compuesto se mantiene activo con la posibilidad de ser incorporado a alimentos para el desarrollo de productos funcionales. Acorde a la premisa, de que un alimento funcional debe ser fácilmente incorporado en la dieta diaria, el  $\beta$ -caroteno fue incorporado en hidrogeles a base de almidón de arroz, dentro de los cuales estaba disperso el  $\beta$ -caroteno en una emulsión. Los productos de gel a base de arroz son consumidos frecuentemente en Asia y su aceptación por otras culturas va en incremento. Este sistema fue comparado con otros dos: una emulsión y un hidrogel a base de almidón de arroz. Al igual que los reportes anteriores, se caracterizaron los tres sistemas con el propósito de comprender la influencia de cada sistema distinto en el comportamiento de la liberación del bioactivo, en el tracto gastrointestinal. Con base en sus resultados, concluyeron que es posible elaborar sistemas donde se combinen una emulsión aceite en agua con un hidrogel a base de almidón de arroz con alta biodisponibilidad.

Los ejemplos de aplicaciones de hidrogeles descritos anteriormente son a base de polisacáridos, sin embargo, también es posible utilizar péptidos o proteínas para la elaboración de estas matrices. Los péptidos y proteínas son bloques importantes en el diseño de los hidrogeles, ya que presentan una alta biocompatibilidad con el organismo y no son tóxicos (Jonker y *col.*, 2012).

Betz, y *col.*, (2012), utilizaron proteína de suero para elaborar hidrogeles y encapsular antocianinas extraídas de arándanos por que se ha demostrado en estudios previos que su capacidad antioxidante se ve reducida por efectos de pH, luz UV, presencia de solutos, oxígeno, temperatura y, el proceso por el cual se encapsulan afectan considerablemente la estabilidad de los compuestos. Por lo anterior, se han propuesto nuevos métodos de microencapsulación para preservar la estabilidad y capacidad antioxidante de las antocianinas.

Por otra parte, los hidrogeles en la industria alimentaria no sólo pueden servir como matrices de compuestos bioactivos, sino que también pueden ser aplicados como empaques que aseguren la integridad del alimento en periodos más largos de tiempo o como agentes

texturizantes como el caso de los hidrogeles de pectina que pueden mejorar la firmeza o textura de ciertos productos alimenticios (Liu *y col.*, 2012; J. Zhu y Marchant, 2011).

## 2. *Industria farmacéutica y biomédica*

Una de las principales características de los hidrogeles, que le permiten ser aplicados en el área de farmacia o biomedicina, es la absorción de agua ya que le permite tener flexibilidad similar a la de un tejido natural y su biocompatibilidad (Nguyen y West, 2002; Ratner y Hoffman, 1976)

A pesar de que estos materiales multifuncionales presentan grandes bondades, aún siguen persistiendo ciertas limitaciones en el área biomédica. En la tabla 1, se describen algunas de las ventajas y desventajas de los hidrogeles (Ahmed, 2013; Hoare y Kohane, 2008; Hoffman, 2012).

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los hidrogeles (Ahmed, 2013; Hoare y Kohane, 2008; Hoffman, 2012)

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biocompatibles</li> <li>• Puede ser inyectado en forma líquida y gelificar dentro del cuerpo</li> <li>• Son adaptables la forma de la superficie donde se aplican</li> <li>• Su bio-adhesividad, permite pegarse a los sitios de aplicación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Falta de uniformidad en la cantidad de bioactivo que se puede cargar</li> <li>• En algunos casos se requiere de intervención quirúrgica para ser aplicados.</li> </ul>

Por otra parte, la industria farmacéutica también se ha tenido un gran impacto en los sistemas de liberación controlada de compuestos con efectos benéficos para la salud (Ahmed, 2013), principalmente gracias a la porosidad, la cual permite cargar el compuesto bioactivo (Hoare y Kohane, 2008). Para este tipo de aplicación, es necesario que los hidrogeles se degraden bajo ciertas condiciones fisiológicas, sin que se generen productos tóxicos asegurando la biocompatibilidad del hidrogel (Hennink y Van Nostrum, 2012).

Desde hace una década aproximadamente, un gran número de investigaciones se han concentrado en la aplicación de compuestos antioxidantes para tratamientos médicos con el fin de evitar la formación de radicales libres. Es por esto que los compuestos antioxidantes han comenzado a cobrar interés en distintas industrias, implementado el uso de compuestos antioxidantes en hidrogeles, para conferirles ésta propiedad (Trombino *y col.*, 2009).

La inulina es una fibra reconocida por actuar como prebiótico, es capaz de generar cambios en la microflora gastrointestinal. Spizzirri *y col.*, (2011), publicó un estudio el cual consistió en insertar fracciones de antioxidantes en una estructura de polisacáridos, esto con el fin de mejorar el desempeño de las bio-macromoléculas. Como antioxidante utilizaron (+)-catequina, la cual se unió covalentemente a las cadenas de la inulina, esto permitió modificar las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del hidrogel, como agente termoresponsivo y entrecruzador, utilizaron N-isopropilacrilamida y N, N-etilenbisacrilamida, respectivamente. Con esta estrategia, se abre la posibilidad de generar sistemas con alto poder antioxidante, ya que los resultados demostraron que los hidrogeles presentaron actividad antioxidante, la cual varío en función de la temperatura experimental y el grado de entrecruzamiento. Ren *y col.*, (2011), reportó la síntesis de O-(aminoetil) inulina, y comprobó su capacidad antioxidante la cual fue mayor a la inulina sin modificaciones.

Otra investigación llevada a cabo por Trombino, *y col.* (2009), consistió en desarrollar un hidrogel cargado con ácido ferúlico. Al hidrogel de celulosa se le insertaron moléculas de ácido ferúlico en los grupos hidroxilo libres por medio de acilación. Como agentes de condensación emplearon dicitclohexilcarbodiimida y 4-hidroxibenzotriazol. Mediante pruebas de DPPH fue posible determinar que efectivamente, el material con ácido ferúlico presenta propiedades antioxidantes.

El resveratrol ha demostrado que al ser aplicado en la piel presenta propiedades antimicrobianas, antiproliferativas y quimiopreventivas. Feng Hung, *y col.* (2008), utilizaron este compuesto en hidrogeles con el propósito de solucionar el problema de la baja retención del resveratrol donde es aplicado.

Almeida, *y col.*, (2012), adicionaron rutina en sistemas de polímeros entrecruzados. Este compuesto también es considerado por tener capacidad de captar radicales libres. La

rutina fue incorporada en un hidrogel para estudiar la eficacia en la regeneración de tejido en heridas en ratas, a través del análisis de la piel con marcadores de estrés oxidativo. Para la elaboración del hidrogel utilizaron el polímero Carbopol ultrez 10, como agente para incrementar el espesor de los hidrogeles y trietanolamina como agente neutralizante para la polimerización de la red, así mismo con el fin de evitar la contaminación microbiológica se incorporó a la formulación del hidrogel imidazolidil urea. Se evaluaron propiedades fisicoquímicas de los hidrogeles con rutina, las cuales resultaron compatibles a nivel cutáneo. Este estudio representa una de las múltiples aplicaciones que pueden tener los hidrogeles.

### **Micro y nanogeles**

Los hidrogeles formados a dimensiones microscópicas se conocen como microgeles, los cuales son partículas poliméricas entrecruzadas. Cuando el tamaños de los microgeles se encuentran en intervalos de submicrones, se les conoce como nanogeles (Oh y *col.*, 2008). Entre las características más resaltables de los hidrogeles es la liberación controlada por la estimulación del ambiente, los cuales son llamados hidrogeles inteligentes (Zhang y *col.*, 2005). Dichos sistemas pueden ser sub-clasificados como sistemas de liberación inducidos: a) físicamente como puede ser por temperatura, electricidad, luz, presión, campos magnéticos y de sonido b) químicamente utilizando ya sea pH, variando la composición del solvente (concentración, iones etc.), y otros estímulos (Miyata y *col.*, 2002). El hinchamiento del hidrogel puede estar en función de estímulos físicos (temperatura, campo eléctrico, luz, presión y sonido) y químicos (pH, fuerza iónica, solvente) (Ahmed, 2013). El trabajar con sistemas de menores magnitudes (micro y nanogeles) ofrece diferentes ventajas en los sistemas de liberación sobre sistemas macroscópicos, ya que se favorecen las propiedades de encapsulación a nivel subcelular y son ajustables a diferentes áreas superficiales. Los microgeles son mecánicamente flexibles, lo cual favorece la modulación de la absorción celular y la biodistribución (Jung y *col.*, 2000).

Los geles (micro y nano) basados en biopolímeros tienen la ventaja de ser intrínsecamente biodegradables, abundantes en la naturaleza, renovables, no tóxicos y

relativamente económicos. Las macromoléculas poseen un gran contenido de grupos funcionales incluyendo grupos hidroxilo, amino y ácido carboxílico, los cuales permiten el entrecruzamiento para bioconjugaciones con agentes celulares objetivo. La biodegradación podría ayudar no sólo a modular la liberación del compuesto por un periodo de tiempo deseado, sino que también permite la renovación del dispositivo vacío después de la liberación del fármaco. Otra de las líneas estudiadas es el desarrollo de agentes de entrecruzamiento funcionalizados con uniones biodegradables, como péptidos, oligoésteres (lactato) entre otros (Eichenbaum y *col.*, 2005). Sistemas modelo formados por azul de metileno y albúmina sérica bovina han formado hidrogeles mediante procesos de síntesis con propiedades hidrofílicas y degradación mediante el control de temperatura para la liberación de fármacos (Huang y Lowe, 2005). Micropartículas de geles formadas mediante polimerización en suspensión fueron formadas utilizando copolímeros termo sensitivos y dos oligómeros, logrando obtener hidrogeles ajustables en donde la velocidad de degradación fue controlada tanto por la composición como por el grado de polimerización del oligo-éster (W. Zhu y *col.*, 2005).

Existen varias metodologías para transportar compuestos utilizando hidrogeles, por ejemplo, la estrategia de síntesis basada en el entrecruzamiento químico, y físico como polimerización heterogénea, la extrusión continua para base de almidón, precipitación en agua, microfluidización, micromoldeado, secado por aspersion, hidrofobicidad supramolecular, puentes de hidrógeno, dominios cristalizados, estéreo-acomplejamiento, transición sol-gel inducido por temperatura, agregación y autoensamblamiento entre otros. Dentro de las cuales podemos encontrar los geles de base proteica, polielectrolitos multicapa capa-capas, hidrogeles para recubrimiento, órgano geles y geles supramoleculares entre otros. Se ha estudiado el atrapamiento de moléculas bioactivas como fármacos, proteínas, carbohidratos y DNA en las redes poliméricas, así como su comportamiento de liberación *in vitro* (Oh y *col.*, 2008). Sistemas de entrega efectivos son necesarios para proteínas terapéuticas, su aplicación individual es limitada debido a sus propiedades fisicoquímicas indeseables, limitan la ampliación en el sector médico, principalmente baja biodisponibilidad, ya que son incapaces de entrecruzarse con muchas membranas biológicas. Además de su alta susceptibilidad a perder la estructura activa farmacológica y

disminuir su actividad terapéutica. Las proteínas son sensibles a ser protonadas lo cual provoca efectos de agregación, adsorción y desnaturalización. Para solventar esas problemáticas, se ha desarrollado el uso de partículas de hidrogeles para encapsular y proteger los agentes de liberación a sitios de enfermedad (Peppas y *col.*, 2006; Raemdonck y *col.*, 2009; Yallapu y *col.*, 2011). Se conoce que los fármacos pueden ser incluidos por la formación de un gel en la presencia de una proteína o por su inmersión en una solución proteica. Zhang y *col.*, (2005), encapsularon proteínas (hemoglobina nativa) dentro de una red de microgeles a dos temperaturas (4 y 37°C) con características termosensibles y biodegradables mediante la combinación síntesis macromérica y polimerización en suspensión inversa. Técnicas espectrométricas (FITR, RAMAN y CD) confirmaron que la estructura de las proteínas no fue destruida durante la encapsulación y tampoco después de su liberación.

Los hidrogeles y microgeles han sido investigados como vehículos transportadores de proteínas debido a su buena biocompatibilidad e hidrofiliidad. Su uso en liberación de fármacos puede ser útil para desarrollar hidrogeles cargados de proteínas y, microgeles que se degraden por catálisis de hidrólisis ácida. Son muchos los fármacos que se necesita que sean liberados a objetivos específicos que se encuentran a pH ácidos, como en tumores, tejidos inflamatorios y fagolisosomas de antígenos presentes en las células. Estas matrices ácido-degradables, diseñadas para someterse a degradación en tejidos ácidos, podrían ser capaces de liberar selectivamente sus contenidos terapéuticos. La liberación de proteínas en geles es una vía de evitar la toxicidad potencial de los poli-cationes y problemas de interacción electrostática con las proteínas. El método estudiado para lograr hidrogeles con propiedades de liberación, es mediante la incorporación de grupos catiónicos, los cuales se protonan a pH ácido causando el hinchamiento del gel.

Otra de las alternativas estudiadas, ha sido el uso de proteínas lácteas como vehículos naturales de compuestos debido a sus excelentes propiedades gelificantes. Técnicas que utilizan altas temperaturas como la agregación de micelas de caseínas mediante punto isoelectrico y el entrecruzamiento con transglutaminasa, han sido utilizadas para la encapsulación de bacterias probióticas y compuestos bioactivos termolábiles. Se ha estudiado la formación de gotas de caseína en la formación de microgeles para el

entrapamiento y entrega de fármacos de tipo proteico utilizando agentes de entrecruzamiento como la genipina, mostrando óptimas características de liberación en condiciones gastrointestinales (Shapira *y col.*, 2010; Song *y col.*, 2009). Shapira *y col.*, (2010) estudiaron un sistema de nanopartículas formadas por micelas de  $\beta$ -caseína y mitoxantrona de liberación oral, el cual resultó una buena digestibilidad gástrica con potencial de aplicación para tratamiento de enfermedades gástricas incluyendo el carcinoma gástrico. Así mismo, hidrogeles de gotas de proteína de suero de leche concentrada han sido estudiados como sistemas vehículo de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) recombinante en el tracto digestivo humano la cual desarrolló un ambiente óptimo para la actividad de la levadura en condiciones gástricas astringentes, lo cual apunta a nuevas alternativas en aplicaciones médicas como la bio-desintoxicación o en el tratamiento de deficiencias enzimáticas digestivas (Hébrard *y col.*, 2006). Sistemas de complejos moleculares formados entre proteínas y polisacáridos aniónicos. Han sido estudiados mediante el desarrollo de partículas de hidrogeles estables entre  $\beta$ -lactoglobulina y quitosano y, utilizados en la encapsulación de componentes alimentarios funcionales (Hong *y McClements*, 2007).

La modificación química de las proteínas mediante reacciones de conjugación a grado alimentario como la glicosilación mediante la aplicación de reacción de Maillard ha sido utilizada como herramienta de micro y nano-encapsulación de compuestos hidrofóbicos mediante la formación de emulsiones. Algunos investigadores han estudiado la encapsulación de aceite de pescado con eficiencia hasta del 99% utilizando caseína de suero-glucosa-jarabe de glucosa para su liberación a nivel gastrointestinal y, secados por aspersión con resultados efectivos contra la oxidación (Augustin *y col.*, 2006; Kosaraju *y col.*, 2009) y para el desarrollo de productos lácteos procesados con calidad funcional agregada con la adición de ácidos grasos PUFA (Ye *y col.*, 2009).

Con base en los estudios realizados, se puede concluir que estos hidrogeles pueden funcionar como vehículos de compuestos inestables, no tóxicos y compatibles durante la liberación del principio activo. Lo anterior asegura que el bioactivo puede llegar al sitio donde debe cumplir con su función (Trombino *y col.*, 2009).

El avance tecnológico en la manipulación de estos biomateriales ha sido significativo en los últimos 20 años, se ha buscado desarrollar hidrogeles con alta capacidad de absorción, baja solubilidad, bajo costo, foto estables, de alta durabilidad, translucidos, inodoros, biocompatibles y de nula toxicidad durante sus fases de preparación y aplicación. Sin embargo, se siguen realizando esfuerzos en obtener hidrogeles con aplicaciones cada vez más específicas de acuerdo a las demandas que los distintos sectores (alimentos, farmacia, agricultura, etc.) requieren.

## Referencias

- Abruzzo, A., Bigucci, F., Cerchiara, T., Cruciani, F., Vitali, B., y Luppi, B. (2012). Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride. *Carbohydrate polymers*, 87(1), 581-588.
- Ahmed, E. M. (2013). Hydrogel: preparation, characterization, and applications. *Journal of advanced research*.
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2), 105-121.
- Almeida, J., Benvegnú, D., Bouffleur, N., Reckziegel, P., Barcelos, R., Coradini, K., de Carvalho, L., Bürger, M., y Beck, R. (2012). Hydrogels containing rutin intended for cutaneous administration: efficacy in wound healing in rats. *Drug development and industrial pharmacy*, 38(7), 792-799.
- Augustin, M. A., Sanguansri, L., y Bode, O. (2006). Maillard reaction products as encapsulants for fish oil powders. *Journal of food science*, 71(2), E25-E32.
- Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E., y Kulozik, U. (2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*, 47(1), 51-57.
- Córdoba, A. L., Deladino, L., y Martino, M. (2013). Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 315-323.
- Deladino, L., Navarro, A. S., y Martino, M. N. (2013). Carrier systems for yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) to enrich instant soups. Release mechanisms under different pH conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 53(1), 163-169.
- Deligkaris, K., Tadele, T. S., Olthuis, W., y van den Berg, A. (2010). Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 147(2), 765-774.

- Eichenbaum, K. D., Thomas, A. A., Eichenbaum, G. M., Gibney, B. R., Needham, D., yKiser, P. F. (2005). Oligo- $\alpha$ -hydroxy ester cross-linkers: impact of cross-linker structure on biodegradable hydrogel networks. *Macromolecules*, 38(26), 10757-10762.
- Gaharwar, A. K., Peppas, N. A., yKhademhosseini, A. (2014). Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Biotechnology and bioengineering*, 111(3), 441-453.
- Hamidi, M., Azadi, A., yRafiei, P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.
- Hébrard, G., Blanquet, S., Beyssac, E., Remondetto, G., Subirade, M., yAlric, M. (2006). Use of whey protein beads as a new carrier system for recombinant yeasts in human digestive tract. *Journal of biotechnology*, 127(1), 151-160.
- Hennink, W., yVan Nostrum, C. F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 223-236.
- Hoare, T. R., yKohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: progress and challenges. *Polymer*, 49(8), 1993-2007.
- Hoffman, A. S. (2012). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 18-23.
- Hong, Y.-H., yMcClements, D. J. (2007). Formation of hydrogel particles by thermal treatment of  $\beta$ -lactoglobulin-chitosan complexes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5653-5660.
- Huang, X., yLowe, T. L. (2005). Biodegradable thermoresponsive hydrogels for aqueous encapsulation and controlled release of hydrophilic model drugs. *Biomacromolecules*, 6(4), 2131-2139.
- Hung, C.-F., Lin, Y.-K., Huang, Z.-R., yFang, J.-Y. (2008). Delivery of resveratrol, a red wine polyphenol, from solutions and hydrogels via the skin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(5), 955-962.
- Jonker, A. M., Löwik, D. W., yvan Hest, J. C. (2012). Peptide-and protein-based hydrogels. *Chemistry of Materials*, 24(5), 759-773.
- Jung, T., Kamm, W., Breitenbach, A., Kaiserling, E., Xiao, J., yKissel, T. (2000). Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 147-160.
- Kosaraju, S. L., Weerakkody, R., yAugustin, M. A. (2009). In-vitro evaluation of hydrocolloid-based encapsulated fish oil. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1413-1419.

- Liu, L. S., Kost, J., Yan, F., ySpiro, R. C. (2012). Hydrogels from biopolymer hybrid for biomedical, food, and functional food applications. *Polymers*, 4(2), 997-1011.
- López-Alarcón, C., yDenicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Analytica chimica acta*, 763, 1-10.
- Lupo, B., Maestro, A., Gutiérrez, J. M., yGonzález, C. (2015). Characterization of alginate beads with encapsulated cocoa extract to prepare functional food: Comparison of two gelation mechanisms. *Food Hydrocolloids*, 49, 25-34.
- McClements, D. J., yXiao, H. (2014). Excipient foods: designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. *Food & function*, 5(7), 1320-1333.
- Miyata, T., Uragami, T., yNakamae, K. (2002). Biomolecule-sensitive hydrogels. *Advanced drug delivery reviews*, 54(1), 79-98.
- Mun, S., Kim, Y.-R., yMcClements, D. J. (2015). Control of  $\beta$ -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food Chemistry*, 173, 454-461.
- Munin, A., yEdwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793-829.
- Nguyen, K. T., yWest, J. L. (2002). Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23(22), 4307-4314.
- Nuñez-Sánchez, M. A., García-Villalba, R., Monedero-Saiz, T., García-Talavera, N. V., Gómez-Sánchez, M. B., Sánchez-Álvarez, C., García-Albert, A. M., Rodríguez-Gil, F. J., Ruiz-Marín, M., yPastor-Quirante, F. A. (2014). Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. *Molecular nutrition & food research*, 58(6), 1199-1211.
- Oh, J. K., Drumright, R., Siegwart, D. J., yMatyjaszewski, K. (2008). The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in polymer science*, 33(4), 448-477.
- Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A., yLanger, R. (2006). Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *ADVANCED MATERIALS-DEERFIELD BEACH THEN WEINHEIM-*, 18(11), 1345.
- Raemdonck, K., Demeester, J., yDe Smedt, S. (2009). Advanced nanogel engineering for drug delivery. *Soft Matter*, 5(4), 707-715.
- Ratner, B. D., yHoffman, A. S. (1976). Synthetic hydrogels for biomedical applications. *Hydrogels for medical and related applications*, 31, 1.

- Ren, J., Liu, J., Dong, F., yGuo, Z. (2011). Highly efficient synthesis and antioxidant activity of O-(aminoethyl) inulin. *Carbohydrate polymers*, 83(3), 1240-1244.
- Shapira, A., Markman, G., Assaraf, Y. G., yLivney, Y. D. (2010).  $\beta$ -casein-based nanovehicles for oral delivery of chemotherapeutic drugs: drug-protein interactions and mitoxantrone loading capacity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(4), 547-555.
- Song, F., Zhang, L.-M., Yang, C., yYan, L. (2009). Genipin-crosslinked casein hydrogels for controlled drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 373(1), 41-47.
- Spizzirri, U., Altimari, I., Puoci, F., Parisi, O., Iemma, F., yPicci, N. (2011). Innovative antioxidant thermo-responsive hydrogels by radical grafting of catechin on inulin chain. *Carbohydrate polymers*, 84(1), 517-523.
- Trombino, S., Cassano, R., Bloise, E., Muzzalupo, R., Tavano, L., yPicci, N. (2009). Synthesis and antioxidant activity evaluation of a novel cellulose hydrogel containing trans-ferulic acid. *Carbohydrate polymers*, 75(1), 184-188.
- Wichterle, O., yLim, D. (1960). Hydrophilic gels for biological use.
- Yallapu, M. M., Jaggi, M., yChauhan, S. C. (2011). Design and engineering of nanogels for cancer treatment. *Drug discovery today*, 16(9), 457-463.
- Ye, A., Cui, J., Taneja, A., Zhu, X., ySingh, H. (2009). Evaluation of processed cheese fortified with fish oil emulsion. *Food Research International*, 42(8), 1093-1098.
- Zhang, R., Tang, M., Bowyer, A., Eisenthal, R., yHubble, J. (2005). A novel pH-and ionic-strength-sensitive carboxy methyl dextran hydrogel. *Biomaterials*, 26(22), 4677-4683.
- Zhu, J., yMarchant, R. E. (2011). Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert review of medical devices*, 8(5), 607-626.
- Zhu, W., Wang, B., Zhang, Y., yDing, J. (2005). Preparation of a thermosensitive and biodegradable microgel via polymerization of macromonomers based on diacrylated Pluronic/oligoester copolymers. *European polymer journal*, 41(9), 2161-2170.

# 10. INCLUSIÓN MOLECULAR.

**María de los Ángeles Sánchez Contreras**

**Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.**

[msanchez@ciatej.mx](mailto:msanchez@ciatej.mx)

## **Introducción**

La encapsulación ha sido definida como la tecnología mediante la cual se logra confinar compuestos activos dentro de una matriz polimérica. Esta técnica crea un microambiente en la cápsula capaz de controlar las interacciones entre el interior y el exterior. Mediante la inclusión molecular se logra que las pequeñas moléculas o metabolitos de interés, se ajusten dentro de otra molécula que es el agente encapsulante, la cual rodea de forma circular al metabolito de interés. Esta técnica de encapsulación se distingue por que mediante ella se logran interacciones hidrofóbicas y/o hidrofílicas específicas entre los componentes a encapsular y los encapsulantes [1].

## **Inclusión molecular**

Las moléculas poliméricas encapsulantes de principal elección para realizar inclusión molecular, son las ciclodextrinas (CDx). Estas se obtienen durante la degradación enzimática del almidón y consisten en una serie de oligosacáridos cíclicos formados por 6 ( $\alpha$ ), 7 ( $\beta$ ) u 8 ( $\gamma$ ) unidades de  $\alpha$ -D-[1,4] glucosa, que dan lugar a una estructura troncocónica hueca, rígida y con una cavidad interior de volumen fijo, como se muestra en la figura 1. Sin embargo, la unión resultante entre las CDx y la molécula huésped no es fija o permanente, más bien es un equilibrio dinámico gobernado por una constante, cuya fuerza depende del tamaño relativo de la molécula acomplejada y de las interacciones establecidas entre la CDx y la molécula acomplejada. Todos los tipos de CDx tienen estructura troncocónica, debido a la conformación en forma de silla de las unidades de glucopiranosas. Orientados hacia la boca ancha de la estructura troncocónica se encuentran los -OH secundarios de los carbonos C-2 y C-3 de cada unidad de glucosa; y hacia la boca estrecha de la estructura se encuentran los -OH primarios de los C-6, quedando los grupos -CH<sub>2</sub>OH

orientados hacia la superficie externa del cono. Los hidrógenos de los carbonos más apolares de los azúcares (C-3 y C-5) y el oxígeno de los enlaces glucosídicos entre las unidades de glucosa, quedan orientados hacia el interior de la estructura troncocónica. La orientación específica de todos estos grupos, da lugar a una molécula cuya superficie externa es hidrofílica, por lo que es altamente soluble en agua, y cuya cavidad interna es hidrofóbica, pudiendo interactuar fácilmente con pequeñas moléculas de la misma naturaleza hidrofóbica [2].

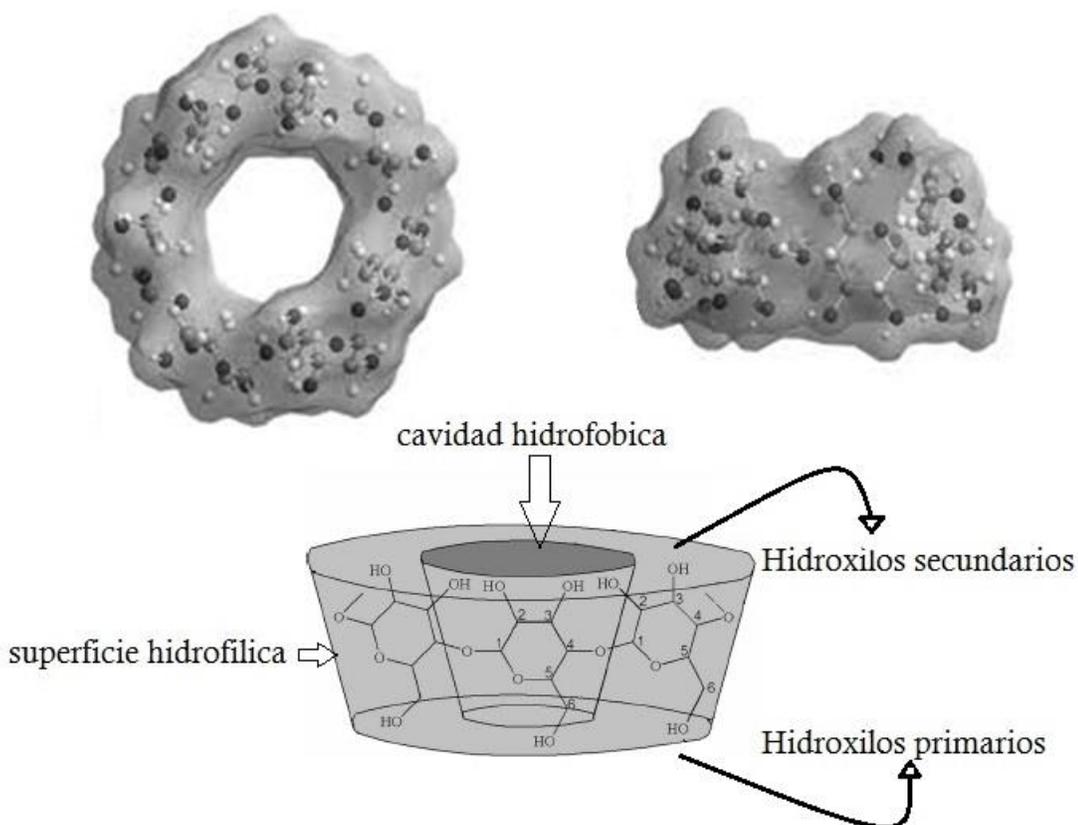


Fig. 1 Estructura troncocónica hueca, rígida y con una cavidad interior de volumen específico característica de las ciclodextrinas. *Diagrama fue adaptado de Corciova et al. 2014.*

Las CDx como materiales polihidroxilados han sido objeto de una amplia variedad de reacciones, siendo el ataque electrofílico al grupo OH el tipo de reacción más estudiado [3]. Evidentemente, en dichas reacciones los grupos hidroxilo primarios OH en la posición 6 son los que reaccionan preferentemente, mientras que los hidroxilos secundarios OH en la

posición 2 tienen la mayor acidez ( $pK_a = 12,2$ ). La cavidad formada en las diferentes CDx tiene distinto diámetro dependiendo del número de residuos de glucosa que la constituyen. Sin embargo, la profundidad es la misma en las tres cavidades. Mientras que la solubilidad de cada una es el resultado de la capacidad de interacción de los grupos hidroxilo libres situados en el exterior de la superficie de los anillos con el medio acuoso.

Tabla 1. Propiedades de las Ciclodextrinas (CDx).

Propiedades	$\alpha$ -CDs	$\beta$ -CDs	$\gamma$ -CDs
Número de glucopiranasas	6	7	8
Peso molecular	972	1135	1297
Solubilidad en agua a 25 °C	14.5	1.85	23.2
Diámetro exterior (Å)	14.6	15.4	17.5
Diámetro de la cavidad (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Altura de la cavidad (Å)	7.9	7.9	7.9
Volumen de la cavidad	174	262	427

## Aplicaciones

Las principales ventajas de la nanoencapsulación es que se logra proteger el material activo de la degradación producida por el medio ambiente (calor, aire, luz, humedad), etc. El compuesto encapsulado se puede liberar gradualmente del compuesto que lo ha atrapado, o bien mantenerse indefinidamente asociado. Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer más fácil su manejo. Por ejemplo un material líquido puede ser convertido a polvo, haciendo que la higroscopia pueda ser reducida, o bien que la densidad sea modificada en el material encapsulado [4]. En la aplicación de las CDs como agentes encapsulantes los factores a considerar son el equilibrio de disociación y la estequiometría del complejo de inclusión. La constante de estabilidad ( $K_c$ ) es un índice útil para estimar la fuerza de unión del complejo y los cambios en las propiedades fisicoquímicas de la molécula huésped. El grado de disociación del complejo depende de la magnitud de  $K_c$ , valor que puede ser afectado por diferentes factores como la dilución, temperatura y pH [5].

Algunos de los metabolitos bioactivos que se han estudiado para formar complejos de inclusión con CDx son los flavonoides. Estos se han empleado desde hace mucho tiempo como colorantes naturales de lana, actualmente también se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes. Su acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades como auxiliares en la fragilidad capilar, dilatadores de las coronarias, espasmolíticas, destacándose la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de las isoflavonas [6].

En frutas cítricas, el flavonoide más abundante es la polihidroxi flavona llamada hesperidina, la cual ha sido ampliamente estudiada por su uso potencial en el tratamiento de enfermedades degenerativas e infecciosas.

La hesperidina está presente en las diferentes partes del fruto, así como en la planta misma, de donde es cosechado. Ha sido comprobado que la mayor cantidad de dicho flavonoide se encuentra en la fracción de flavedo de la cáscara de naranja, alcanzando hasta 1700-2300 mg/100 g de peso de fruto fresco, aunque también se encuentra en las semillas, la cáscara y el jugo (422, 1400 y 94 mg/100g peso fresco, respectivamente) [7]. Por la cantidad presente en este último, en CIATEJ se desarrolló la tecnología que ha permitido lograr la suplementación de Jugos naturales, adicionando hesperidina nanoencapsulada proveniente de la cáscara y el flavedo. Este proceso permite aumentar considerablemente su capacidad como preservadores naturales y antioxidantes en el jugo natural dando solución al problema técnico de mejorar la solubilidad de la hesperidina y aumentar su estabilidad sin afectar la palatabilidad de los alimentos suplementados [8].

En la actualidad, existen estrictas regulaciones sobre el uso de productos químicos en alimentos, muchos de los cuales han sido retirados del mercado. En consecuencia, se han venido desarrollando diversas alternativas al uso de estos compuestos para el control de enfermedades o como preservadores naturales y antioxidantes.

En el estado de la técnica, existen múltiples trabajos que refieren el proceso de obtención de extractos de flavonoides cítricos que incluyen a la citroflavona hesperidina a partir del residuo del procesamiento industrial. Sin embargo, no se encuentra referencia al empleo de la hesperidina pura y encapsulada obtenida a partir de los desechos generados del proceso de extracción del jugo, para la suplementación de los mismos. Considerando el efecto benéfico para la salud, que representa el consumo de flavonoides, es importante mantener e incluso mejorar la cantidad de hesperidina contenida en los jugos naturales de naranja. Siendo que las flavanonas son los principales fitocompuestos presentes en los desechos de industrialización de Naranja (*Citrus sinensis*). Y que la hesperidina (Hes) es la flavanona que se encuentra en mayor proporción, apreciada por su capacidad antioxidante, pero su uso como aditivo alimentario se encuentra limitado, debido a que es poco soluble en agua y altamente sensible a la oxidación por temperatura, pH y luz.

En trabajos de investigación realizados en CIATEJ se emplearon las ciclodextrinas alfa-beta- y gama- (CDx) para formar complejos de inclusión con la citroflavona hesperidina. El método utilizado para la extracción y la purificación de hesperidina, fue el reportado en Sánchez *et al.* (2012) [9], empleando una extracción criogénica con CO<sub>2</sub> y MeOH. La pureza de la hesperidina se determinó por cromatografía líquida HPLC, empleándose estándares de referencia comerciales. Se evaluó el efecto de concentración (0, 3, 6 y 9 mM) y tipo de CDx ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) sobre la solubilidad de hesperidina a temperatura y agitación constantes (25°C y 200 rpm). Los ensayos se realizaron en obscuridad para evitar la degradación y se mantuvieron concentraciones de saturación de hesperidina. Se construyeron los diagramas de solubilidad de fase de acuerdo al método de [10], para determinar la constante de solubilidad  $K_s = (\text{pendiente}/S_o \times (1-\text{pendiente}))$  y la actividad antioxidante se determinó midiendo el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

Se obtuvo un total de 1.45g del extracto criogénico por cada 100g de harina de residuos cítricos de naranja procesada, el extracto tiene un aspecto de polvo color amarillo pardo. En la tabla 2 se resumen los tiempos de retención y rendimientos de los compuestos flavonólicos recuperados. Este polvo tiene un punto de fusión de 260 °C, dos grados más que la hesperidina comercial, esto es debido a que la pureza de la hesperidina obtenida

alcanza en un 85%. Este extracto se agregó a saturación en soluciones de concentración creciente las diferentes CDx. En la Fig. 2, se muestra el efecto en la solubilidad de la hesperidina, en  $\beta$ -CDx demostrándose que en todos los casos a las 24 horas se alcanza la estabilidad de formación del complejo.

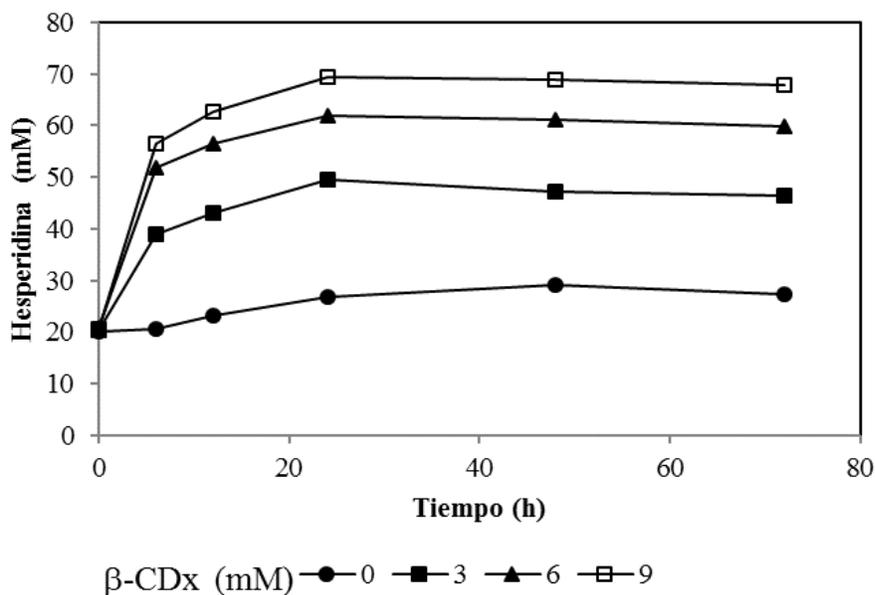


Fig. 2 Solubilidad de la hesperidina en concentraciones crecientes de  $\beta$ -ciclodextrina en función del tiempo.

Tabla 2. Flavonoides en el extracto de residuos de naranja.

Compuesto	Tr (min)	Abundancia (%)
HPLC		
Hesperidina	29.35	85
Neohesperidina	31.42	12
Quercetina	41.93	3

HPLC con detector de arreglo de diodos a 280 (nm), Columna: Phenomenex, Gemini 5 $\mu$ , C 18, 110 A. Disolvente A: Agua HPLC, con ácido fórmico al 0,1 % Disolvente B: Acetonitrilo. Con ácido fórmico al 0,1 %.

Con estos resultados se construyó el diagrama de fase solubilidad teniendo una relación lineal con un coeficiente de regresión cuadrático de  $R^2 = 0.9915$ . La ecuación que

correlaciona ambas concentraciones  $[\text{Hes mM}] = 7.36 [\beta\text{-CDx mM}] + 31.595$ . Con estos datos se calculó la constante de solubilidad aparente ( $K_s=57.58 \text{ mM}$ ) del complejo obtenido y la solubilidad intrínseca ( $S_0= 31.59 \text{ mM}$ ) de la hesperidina sin encapsular. Podemos observar que se alcanza un aumento de hasta 3 veces más en su solubilidad cuando se emplea la concentración máxima de  $\beta\text{-CDx}$  (9 mM). Así mismo, la actividad antioxidante alcanza valores de 57 % de inhibición del radical DPPH.

En la solicitud de Patente MX/A/2014/015444 se describe el método para la obtención de hesperidina a partir de los residuos del procesamiento de naranja, y su posterior inclusión molecular, logrando formar complejos de inclusión hesperidina-CDx que permiten aumentar la estabilidad de la hesperidina a la luz, temperatura y pH, mejorando significativamente su solubilidad. Adicionalmente, se ha comprobado que este complejo de inclusión ha favorecido la disminución de la carga bacteriana de jugos de naranja no pasteurizados, a los cuales se les ha suplementado con este complejo.

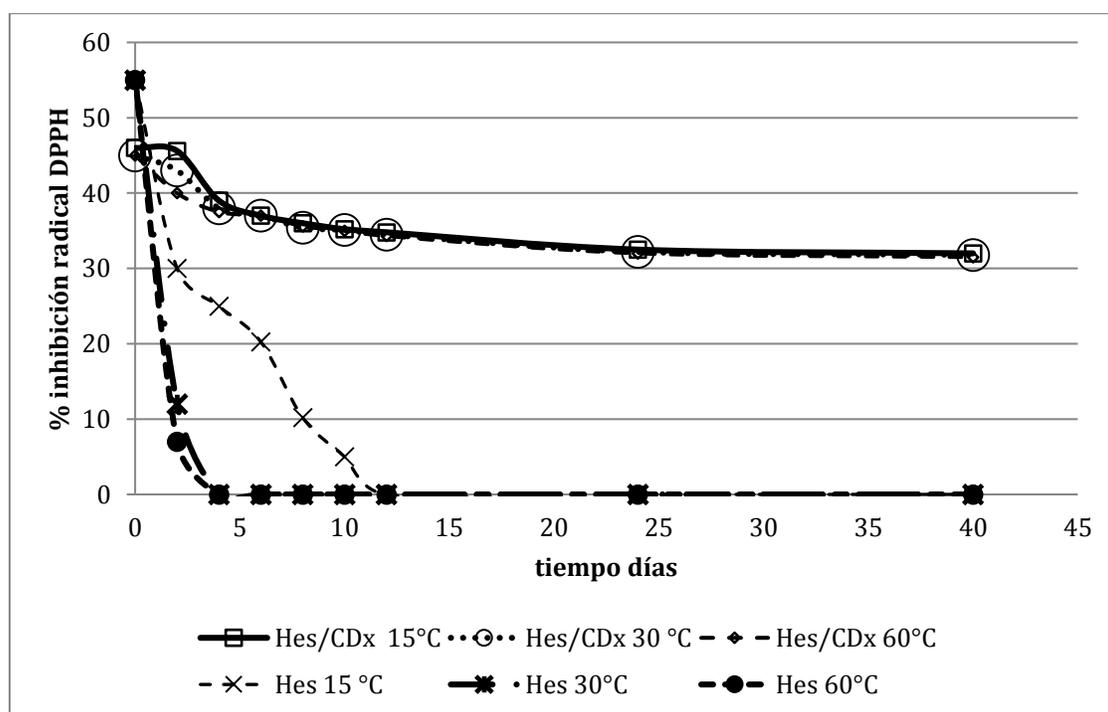


Fig. 3 Efecto de la temperatura sobre la actividad antioxidante del complejo de inclusión CDx/hesperidina y hesperidina sin encapsular, en función del tiempo.

Mediante este desarrollo hemos logrado que el complejo de hesperidina-ciclodextrina cristalice y permanezca estable a la temperatura y a la luz. Adicionalmente, el complejo de inclusión (1:1) Hes/ $\beta$ -CDx obtenido, se analizó por microscopía electrónica de barrido, comparándolo con  $\beta$ -CDx y la hesperidina sin encapsular (Fig. 4). Este complejo de inclusión obtenido, posee mejores propiedades antioxidantes, microbicidas y aumenta su solubilidad en comparación con la hesperidina no encapsulada, pudiendo ser adicionado en forma de nano partículas a los jugos de naranja para mejorar sus cualidades nutracéuticas, sin afectar su sabor. En la Fig. 4, se puede observar que el complejo forma nano cristales hexagonales, a los que se les determino un punto de fusión de 305°C, siendo un 10% mayor comparando con el punto de fusión de la hesperidina sin encapsular.

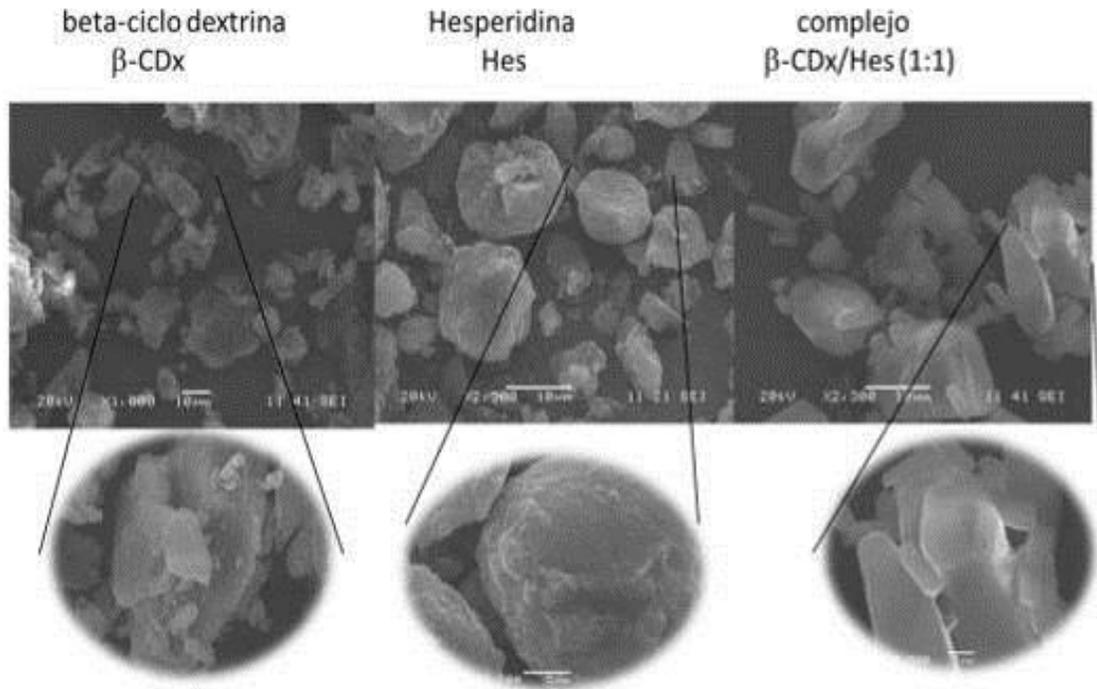


Fig. 4 Micrografía electrónica de Barrido del complejo de inclusión Hes /  $\beta$ -CDx (1:1).

A manera de conclusión en el tema de inclusión molecular en CIATEJ se ha logrado obtener hesperidina de los residuos de Naranja y encapsularla exitosamente con  $\beta$ -CDx, formando nanoencapsulados que permiten aumentar la estabilidad y solubilidad de la

Hesperidina en el agua, con este desarrollo se genera una propuesta para agregar valor a los subproductos del procesamiento industrial de cítricos.

## Referencias

1. Nguyen, T.A., et al., *An investigation into the supramolecular structure, solubility, stability and antioxidant activity of rutin/cyclodextrin inclusion complex*. Food chemistry, 2013. **136**(1): p. 186-192.
2. Corciova, A., et al., *Antibacterial and antioxidant properties of hesperidin:  $\beta$ -cyclodextrin complexes obtained by different techniques*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2015. **81**(1-2): p. 71-84.
3. Liu, B., et al., *Empirical, thermodynamic and quantum-chemical investigations of inclusion complexation between flavanones and (2-hydroxypropyl)-cyclodextrins*. Food chemistry, 2012. **134**(2): p. 926-932.
4. Tommasini, S., et al., *Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with  $\beta$ -cyclodextrin*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2004. **35**(2): p. 379-387.
5. Pinho, E., et al., *Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds*. Carbohydrate polymers, 2014. **101**: p. 121-135.
6. Sanchez-Contreras, A., et al., *Psidium guajava and Tagetes erecta Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity*. Nutraceuticals and Functional Foods: Conventional and Non-Conventional Sources, 2011: p. 167-186.
7. Ricalde, F.J.G., et al., *Potencialidades del mercado nacional e internacional de la hesperidina de origen natural obtenida de la naranja como sustituto de antioxidantes químicos en la industria alimentaria*.
8. Sánchez Contreras Angeles, M.O.R.S., Neith A. Pacheco López e Ingrid Rodríguez Buenfil, *Encapsulación molecular de hesperidina obtenida de desechos de cascara de cítricos Citrus sinensis*. Revista de la Facultad nacional de Agronomía Medellin, 2014. **67** (2).

9. Sánchez Contreras Angeles, N.A.P.L., Manuel O. Ramirez Sucre y Ingrid Rodriguez Buenfil, *Proceso de secado por micro aspersion y preparacion del complejo de inclusion hesperidina/ciclodextrina MX/a*, 2014. **015444**.
10. Higuchi, T. and A. Connors, *Phase-solubility techniques*. 1965.

# 11. LIPOSOMAS

**Alba Adriana Vallejo Cardona**

**Catedrática-CONACYT, CIATEJ, A.C.**

**Jesus Bernardino Velázquez Fernández**

**Universidad Autónoma de Nayarit.**

**Tanya Amanda Camacho Villegas**

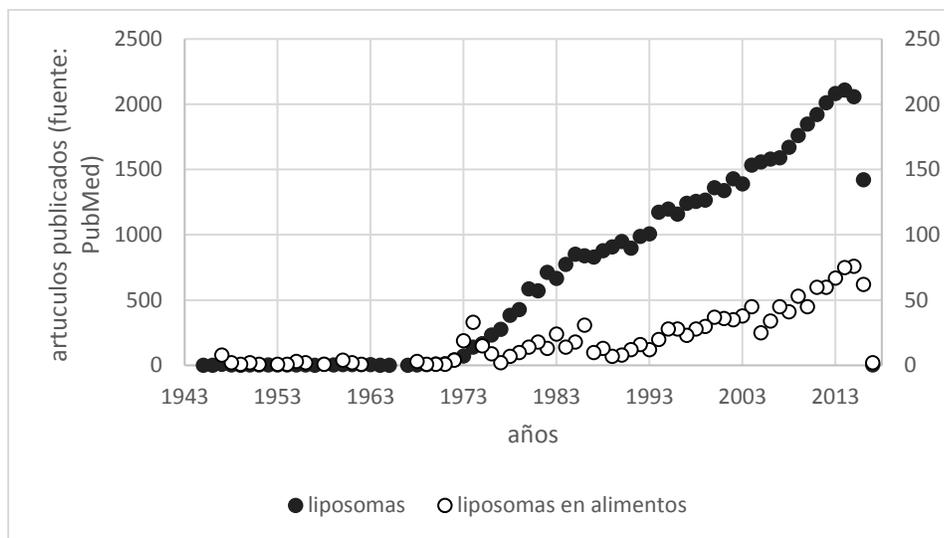
**Catedrática-CONACYT, CIATEJ, A.C.**

[avallejo@ciatej.mx](mailto:avallejo@ciatej.mx)

## **Introducción**

Dentro de la nanotecnología se encuentra el estudio de estructuras como los liposomas, nanoemulsiones, microemulsiones nanopartículas lipídicas sólidas y nanopartículas biopoliméricas como sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos, utilizados en alimentos funcionales (Sing, 2016).

Los liposomas son estructuras vesiculares conformadas de lípidos organizados en bicapas o multicapas. Estas estructuras son similares a la estructura de la membrana lipídica. En el área médica han sido estudiadas como modelo del comportamiento físico y químico de la membrana celular, de los compartimentos celulares y de las propias estructuras vesiculares de transporte dentro y hacia fuera de la célula. Estos estudios comienzan desde 1945, y se enfocan al área médica y farmacéutica. Durante varias décadas los reportes son escasos y se incrementan en los años ochenta cuando se reportaron más de 500 estudios. Sin embargo, el auge es observado a partir del 2000 con el incremento a más de mil artículos por año, alcanzando hasta el 2016, el número de 28,682 reportes, entre estudios originales y revisiones indexadas en la base de datos de PubMed. Este incremento quizá se deba al desarrollo y aceptación de la nanotecnología en el área de la salud. Por su parte, en el caso del uso de liposomas dentro del área de alimentos, también ha presentado un incremento referido al número de publicaciones como se observa en la gráfica 1, donde el número de publicaciones está alrededor de 76 artículos por año.



Gráfica 1. Publicaciones anuales de liposomas y liposomas aplicados a alimentos.

El área de alimentos enfoca el uso de los liposomas hacia la encapsulación de moléculas activas, ya que las moléculas activas que se extraen de plantas, tienen una aplicación tanto de suplemento alimenticio como de moléculas con potencial terapéutico. El uso de los liposomas para encapsular las moléculas activas se realiza con el fin de conservar dichas moléculas ante cambios físicos y químicos dentro del organismo o durante su almacenamiento (Istenic *et al.*, 2015), además que se aprovecha que los liposomas son capaces de acarrear compuestos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos.

### La estructura de los liposomas

Los liposomas se consideran vesículas con una estructura esférica unilamelar o multilamelar, es decir que su conformación lipídica vesicular puede tener una bicapa lipídica o varias bicapas lipídicas concéntricas. Por su conformación, los liposomas unilamelares se clasifican en liposomas unilamelares pequeños (SUV), medianos (MUV), grandes (LUV) o gigantes (GUV). La medida de los SUV se encuentran entre 15-100 nm, y su preparación es por sonicación de punta o bien por extrusión. Este método de sonicación debe ser utilizado cuando las moléculas no sean susceptibles a degradación por fricción o por calentamiento. El tamaño de los liposomas MUVs oscila entre 100-500 nm, los cuales se obtienen regularmente a partir de una sonicación de baño; este método de sonicación es más recomendado debido a que la solución no se contamina por el titanio de la punta de

sonicación. Los LUVs se consideran aquellos liposomas que miden entre 500 y 1,000 nm; estos al igual que los MUVs, se preparan a través del baño de sonicación y por extrusión, estos liposomas son los más socorridos para el encapsulamiento de moléculas activas, sin ser considerados como nanoliposomas. Los GUVs son todos aquellos liposomas que se encuentran por arriba de una micra y estos son utilizados generalmente en estudios físicos y químicos que se llevan a cabo sobre la membrana celular, debido a la curvatura e interacción interfacial que tiene la superficie lipídica comparada con la curvatura de la membrana celular. Los GUVs son preparados utilizando una técnica de rehidratación de bicapa (Akbarzadeh *et al.*, 2013, Swaay y de Mello, 2013). Para los protocolos de preparación, el lector puede revisar páginas comerciales como la de Avanti Polar Lipids®.

Algunos de los lípidos que se utilizan con mayor frecuencia son los fosfolípidos con grupos funcionales de colinas, etanolaminas, serinas o fosfoglicerol, todos ellos con diferentes cadenas acílicas, entre 12, 14 y 16 carbonos principalmente, tanto saturadas como insaturadas.

### **Ventajas de los liposomas**

Los nanoliposomas presentan varias ventajas como una mejoría en la estabilidad fisicoquímica los compuestos encapsulados, mejora la dispersabilidad en agua y no necesariamente influyen en la efectividad biológica del compuesto. Por el contrario, se ha considerado que los costos de materiales y elaboración de los liposomas encapsulados, son la mayor desventaja para su uso potencial (Singh, 2016).

Los nanoliposomas pueden mejorar la estabilidad fisicoquímica. Ello resulta de especial importancia, cuando los compuestos a encapsular son reactivos o inestables o cuando pueden sufrir procesos indeseables al estar libres. Por ejemplo, sin ser encapsulada, la curcumina quela Cu y Fe, lo que provoca la formación de un sedimento del complejo. La encapsulación en liposomas preparados con fosfolípidos, colesterol y Tween 80, previene la interacción de la curcumina con metales pesados, evitando así, la formación de precipitados (Chen *et al.*, 2015). El encapsulamiento de la nisina (un péptido antimicrobiano ampliamente usado en alimentos, en especial en productos fermentados como los quesos)

en liposomas mejora su eficiencia biológica e incrementa su estabilidad ante los cambios de pH, temperatura e incluso variaciones en el contenido de grasa durante la fermentación de la leche sin afectar el proceso de preparación de queso (Laridi *et al.*, 2003).

Los nanoliposomas pueden mejorar la "solubilidad" en agua. Por ejemplo, Chen y col. (2015) demostraron que la curcumina en liposomas mejoraba su solubilidad en agua y evitaba la formación de grumos o sedimentos del compuesto. Si bien, los liposomas constituyen una fase lipídica, dada su semejanza con la membrana, permiten una fusión relativamente rápida con ella. Esta ventaja, parecería ir en contra de la "solubilidad" en agua, sin embargo, la elaboración de dispersiones moleculares, se facilita, cuando los compuestos se "compartamentalizan" dentro de los liposomas, lo que evitaría que, en el caso de coloides, puedan aglomerarse y formar partículas de tamaño más grande y separarse de la dispersión.

La actividad biológica de los compuestos encapsulados en liposomas puede no ser alterada. Por ejemplo, la capacidad antioxidante de astaxantina con alfa-tocoferol no es cambiada después de que son encapsulados en liposomas (Kamezaki *et al.*, 2016). A pesar de ello, no se debe perder de vista que los nanoliposomas pueden producir una liberación controlada de su contenido. Esto lleva a cinéticas diferentes del compuesto original en el transporte a través del cuerpo. Los compuestos encapsulados en liposomas, deben ser endocitados para poder ser transferidos al interior de la célula (Un *et al.*, 2012), lo que implica que el transporte a través de las membranas biológicas estará supeditado a dicho proceso. Ello podría contrastar con el transporte del compuesto sin encapsular que puede ser diferente (difusión simple, difusión facilitada, transporte activo) y que dependerá de sus propiedades fisicoquímicas y de los mecanismos biológicos disponibles para dicho compuesto.

En la Tabla 1, se enlistan los factores que pueden afectar la eficiencia biológica de los liposomas. Factores como el pH y los componentes lipídicos utilizados pueden afectar la estabilidad del liposoma y la cantidad del compuesto encapsulado (da Silva *et al.*, 2010). Por ejemplo, a pH bajos (menores a 6), la cantidad de nisina encapsulada es mucho mayor.

Más allá de los parámetros fisicoquímicos per se, debe cuidarse la posible interrelación entre el compuesto a encapsular y los fosfolípidos del liposoma. Si el compuesto es de naturaleza lipídica, puede interaccionar con la bicapa del liposoma, lo que podría alterar su fluidez y por tanto su permeabilidad (Sikkema *et al.*, 1994).

Así mismo, la fluidez puede ser alterada por los componentes lipídicos que constituyan la bicapa, es por eso, que puede ser necesario probar diferentes lípidos para poder encapsular a ciertos compuestos en liposomas. Ello implica un buen conocimiento de la naturaleza hidrofóbica del compuesto y de las características físicas de los lípidos que compondrán la bicapa lipídica. Para ello, se requiere el conocimiento de la interacción de los distintos lípidos entre ellos y las estructuras autoensambladas que pueden formar con el agua. Ello está más allá del enfoque del presente trabajo, pero una buena guía la ha constituido la clasificación propuesta desde hace varias décadas por Small (1968). En ella misma, puede observarse que los liposomas pueden elaborarse no solo con fosfolípidos, sino que también pueden incluirse algunos surfactantes, en especial los no iónicos (Lasic, 1995).

Tabla 1. Factores que afectan la eficiencia de los liposomas como un vehículo en alimentos relacionados con su preparación.

Relacionados con el compuesto a encapsular	Relacionados con los lípidos componentes de los liposomas	Relacionados con el proceso fabricación
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabilidad sónica, (bio)química y térmica,</li> <li>• pKa,</li> <li>• hidrosolubilidad, dispersabilidad</li> <li>• biodisponibilidad a la diana biológica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pKa,</li> <li>• hidratabilidad, interacción con el agua (diagramas binarios o ternarios),</li> <li>• potencial Z</li> <li>• interacción con el compuesto (cargas, i. hidrofóbicas)</li> <li>• composición lipídica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compatibilidad del proceso con los componentes,</li> <li>• pH, salinidad de la solución.</li> </ul>

Dado que algunos compuestos pueden ser sensibles a la energía que impone la sonicación, no es de extrañar que el método más usado para la preparación de liposomas sea el de rehidratación de bicapa. Este método puede generar GUVs y más frecuentemente MLVs. Por un lado, esto podría disminuir la capacidad de los compuestos para atravesar membrana, y por otro, hacer que la evidencia obtenida de liposomas creados en el laboratorio no corresponda con la actividad biológica in vivo cuando se construyan MLV. Para ello, se requiere tener mayor conocimiento del efecto que tiene el tipo de vesículas sobre su efectividad biológica o sobre la velocidad de liberación del compuesto encapsulado. Al respecto, se quieren aún más estudios, sobre todo para mejorar su aplicabilidad en la industria alimentaria.

## Referencias

Singh H. Nanotechnology Applications in Functional Foods; Opportunities and Challenges. *Prev. Nutr. Food Sci.* 2016, 21, 1-8.

Istenic K, Korosec RC, Ulrich NP. Encapsulation of (-)-epigallocatechin gallate into liposomes and into alginate or chitosan microparticles reinforced with liposomes. *J. Sci. Food Agric*, 2016, 96 4623-4632.

Akbarzadeh A. Rezaei-Sadabady R, Davaran S. Joo SW. Zarghami N. Hanifehpour Y, Samiei M. Kouhi M. Koshki K. Liposome:classification, preparation and Applications. *Nanoscale Research letters*, 2013, 8:102, 1-9

Escobar-Chavez JJ. *Current Technologies to Increase the Transdermal Delivery of Drugs*. Bentham eBooks. ISBN:978-1-60805-191-5

Swaay Dv and deMello A. Microfluidic methods for forming liposomes. *Lab Chip*, 2013, 13, 752.

Páginas electrónicas: [www.avantilipids.com](http://www.avantilipids.com)

Chen, X., Zou, L.Q., Niu, J., Liu, W., Peng, S.F., Liu, C.M. The Stability sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. *Molecules* 2015, 20, 14293-14311.

Un, K.; Sakai-Kato, K.; Oshima, Y.; Kawanishi, T.; Okuda, H. Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes. *Biomaterials* 2012, 33, 8131–8141.

Laridi, R., Kheadr, E.e., Benech, R.O., Vuillemand, J.C., Lacroix, C., Flis, I. Liposome encapsulated nisin Z: optimization, stability and release during milk fermentation. *Inter. Dairy J.* 2003, 13(4), 325-336.

da Silva, M. P., Joner, D.D., Brandelli, A. Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends Food Sci. Technol.* 2010, 21, 284-292.

Kamezaki, C., Nakashima, A., Yamada, A., Uenishi, S., Ishibashi, H., Shibuya, N., Hama, S., Hosoi, S., Yamashita, E., Kogure, K. Synergistic antioxidative effect of astaxanthin and tocotrienol by co-encapsulated in liposomes. *J Clin Biochem Nutr.* 2016, 59(2), 100-106.

Sikkema, J., de Bont, J.A.M., Poolman, B. Interactions of Cyclich hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 1994, 269(11), 8022-8028.

Small, D.M. A classification of biologic lipids based upon their interacton in aqueous systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1968, 45, 108-119.

Lasic, D.D. Capítulo 10. Applications of Liposomes. En Lipowsky, R., Sackmann, E. *Handbook of Biological Physics, Volumen 1.* 1995, Elsevier Science B.V.

# 12.MICRO Y NANOPARTÍCULAS MEDIANTE LA RÁPIDA EXPANSIÓN DE SOLUCIONES SUPERCRÍTICAS (RESS)

**Gustavo Adolfo Castillo Herrera**

**Tecnología Alimentaria, CIATEJ, A.C.**

[gcastillo@ciatej.mx](mailto:gcastillo@ciatej.mx)

## **Introducción**

En la actualidad existen diferentes métodos para obtener micropartículas y nanopartículas, y su obtención se logra mediante fenómenos físicos como: secado por aspersión, enfriamiento mediante atomización, recubrimientos en lecho fluidizado, mediante fenómenos químicos como: coacervación, polimerización, gelificación iónica; o por fenómenos físico-químicos como: inclusión molecular, liposomas, micelas o fluidos supercríticos.

En la mayoría de los métodos de obtención mencionados, para lograr la disminución de tamaño de partícula, se emplean factores como temperatura, pH's, esfuerzos cortantes, entre otros, que resultan agresivos y pueden causar la degradación de las moléculas, incluso pueden causar modificaciones superficiales, lo que repercute en una disminución de la bioactividad de los principios activos. Además de que en la mayoría de ellos se requieren de por lo menos dos operaciones para la obtención de estas micro o nanopartículas, un ejemplo es el secado por aspersión en nanoencapsulados, o la evaporación de solventes en nanoemulsiones.

El utilizar fluidos en estado supercrítico, es en gran medida para obtener micro y nanopartículas de una manera sencilla y presentando ciertas ventajas, tales como temperaturas medias de operación, sin residuos de solventes orgánicos o muy pocos de ellos, separaciones eficientes y amigable con el ambiente.

Lo que hace necesario entender lo que es un fluido supercrítico (FSC), y no es más que cualquier compuesto a una temperatura y presión por arriba de su punto crítico. En este punto el compuesto es compresible, se comporta como un gas; características que no tiene cuando está en estado líquido (fluido no compresible que ocupa el fondo del contenedor). No obstante tiene la densidad de un líquido y por lo tanto su poder disolvente (Luque de Castro y col., 1993).

En el diagrama de fases de la Fig. 1 el punto crítico (PC) se encuentra marcado al final de la curva del equilibrio líquido-gas, y el área sombreada indica la región de fluido supercrítico. El punto crítico de un compuesto se encuentra en la intersección de la temperatura y la presión crítica (Bhimanagouda y col., 2006).

**Temperatura crítica:** Por arriba de esta temperatura el componente gaseoso del compuesto puro no puede ser licuado sin importar la presión aplicada.

**Presión crítica:** Por encima de esta presión, el componente líquido del compuesto puro no puede ser evaporado sin importar la temperatura aplicada.

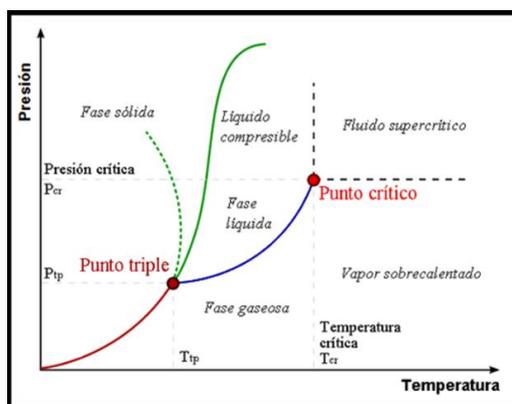


Fig. 1. Diagrama de fases sólido/líquido/gas/fluido supercrítico.

PT: punto triple; PC: punto crítico; Pc: presión crítica; Tc: temperatura crítica disolvente

## Micronización por RESS

La tecnología de fluidos supercríticos, en particular la rápida expansión de soluciones supercríticas (RESS), misma que se estudió por primera vez por Hannay y Hogarth [Jung y Col. 2001] hace más de 120 años, cuando describieron “Sólidos precipitan bruscamente cuando se reduce de repente la presión, estos son cristalinos, y se observa como nieve a partir del gas”.

En un proceso RESS, el soluto, primero se debe disolver en el fluido supercrítico, y una vez con el fluido cargado con soluto, este es enseguida despresurizado a condiciones ambientales a través de una boquilla de aspersion, lo que ocasiona una disminución de la cantidad de solvente (fluido supercrítico), y ocasionando una alta saturación del soluto, el cual precipita súbitamente y se generan como consecuencia las micro o nanopartículas (Fig. 2).

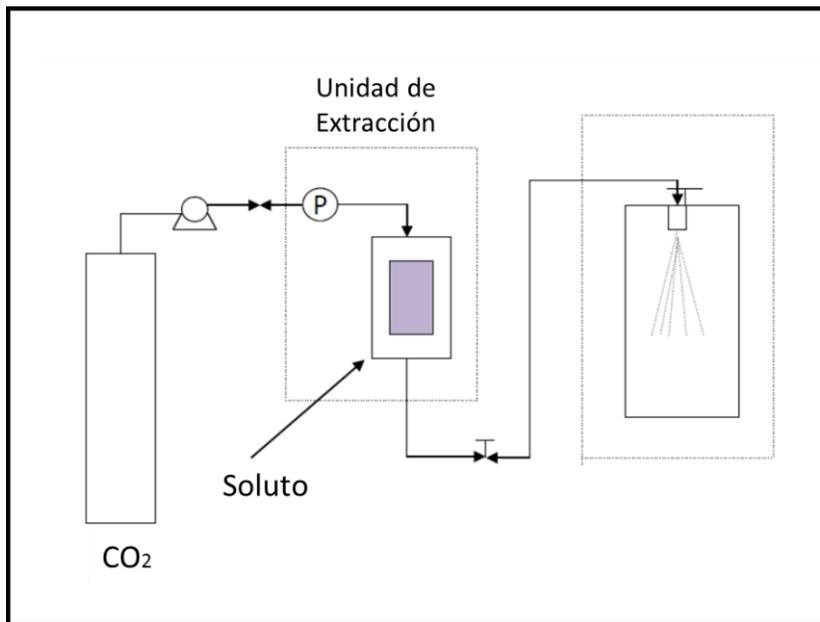


Fig. 2 Esquema general del proceso de rápida expansión de soluciones supercríticas (RESS).

Waters, (2009).

La principal barrera que presenta este método, es la solubilidad de los solutos en los fluidos supercríticos, ya que, aunque se podrían utilizar diferentes fluidos (Tabla 1) el más utilizado es el dióxido de carbono, el cual presenta un comportamiento no polar, aunque se pueden evaluar diferentes presiones y temperaturas para lograr solubilizar el soluto o bioactivo a micronizar.

Tabla 1 Fluidos supercríticos comúnmente usados.

Compuesto	Temperatura Crítica (K)	Presión Crítica (Bar)
<b>Dióxido de carbono</b>	<b>304.1</b>	<b>73.8</b>
Etano	305.4	48.8
Etileno	282.4	50.4
Propano	369.8	42.5
Propileno	364.9	46.0
Trifluorometano	299.3	48.6
Clorotrifluorometano	302	38.7
Amoniaco	405.5	113.5
Agua	647.3	221.2
Ciclohexano	553.5	40.7
n-Pentano	469.7	33.7
Tolueno	591.8	41.0

(Yu, 2007)

La morfología que resulta en los materiales micronizados, depende en gran medida de la estructura del material (cristalina, amorfa, pura, etc.) y de los parámetros a los cuales se realiza la expansión (RESS) como son temperatura, caída de presión, distancia desde la boquilla de aspersión hasta donde chocan las partículas con el recipiente de atomización, el tamaño y la geometría de la boquilla de aspersión (Fig. 3).

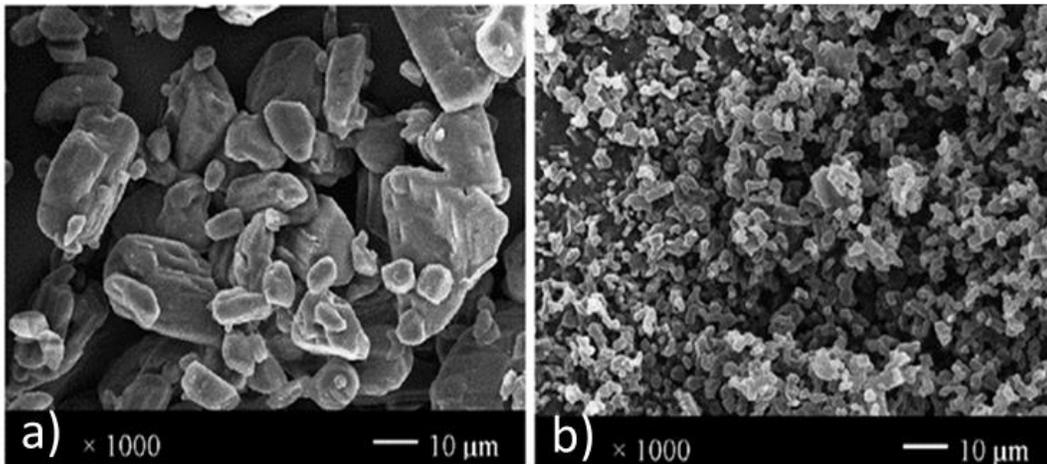


Fig. 3 Imágenes de nabumetona antes (a) y después (b) de someterse a un proceso RESS (Su y col. 2009)

Un ejemplo de ello, es la micronización de la nabumetona, fármaco que se utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoide y de la osteoartritis realizado por Su y col. 2009, quien evidenció el efecto de la presión sobre el tamaño de partícula obtenido (Fig. 4).

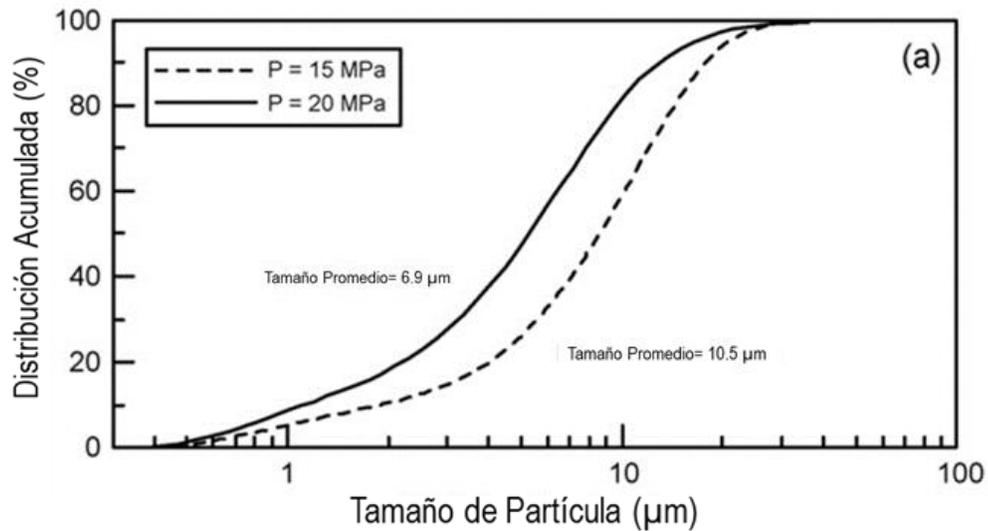


Fig. 4 Distribución de tamaño de partícula de nabumetona a diferentes presiones de expansión (Su y col. 2009).

Además de este fármaco, la rápida expansión ha resultado ser una técnica atractiva para micronizar diferentes compuestos, como los que se aprecian en la tabla 2.

Tabla 2 Compuestos Micronizados mediante la técnica RESS

Sustrato	Fluido Supercrítico	Resultado	Referencia
Quitosano	CO <sub>2</sub>	Se logró disminuir el tamaño de partícula del quitosano hasta 230µm. El tamaño fue significativamente afectado por la presión de operación.	Ghoreishi y Col. 2016
Diclofenaco	CO <sub>2</sub>	Se lograron tamaños de partícula de 1.3 µm, y una modificación a su morfología, de irregular a cuasiesférica	Zeinolabedini y Col. 2011
Teofilina	CO <sub>2</sub> - vanilina	Se alcanzaron tamaños de 85 nm y además el efecto de usar co-solvente coadyuvó al proceso de cristalización.	Uchida y Col. 2015
Deferasirox	CO <sub>2</sub>	Se lograron partículas de 50 nm–5 µm, lo que aumentó su solubilidad.	Iman y Col. 2012
Extracto de corteza de Magnolia	CO <sub>2</sub>	Se trabajó entre presiones de 200-300 bares y se lograron tamaños de 4.7 µm.	He y Col. 2010
Lidocaína	CO <sub>2</sub>	Se logró reducir el tamaño de partícula desde 50-100µm hasta 0.3 µm trabajando en un rango de presión de 150-300 bares	Kim y Col. 2010
Ácido Benzoico	CO <sub>2</sub>	Se micronizó mediante RESS hasta lograr tamaños de partícula de 2.1 µm.	Kim y Col. 2010
Gemfibrozil	CO <sub>2</sub>	Se disminuyó el tamaño de partícula de 14 µm a 5.8 µm a presiones de 200 bares.	Chen y Col. 2010
Dihidroartemisina	CO <sub>2</sub>	Se emplearon presiones de entre 180-260 bares, y se disminuyó el tamaño de partícula de 7.3 µm hasta 0.8 µm.	Chingunpitak y Col. 2008
Ibuprofeno	CO <sub>2</sub>	Se emplearon presiones relativamente bajas y se disminuyó su tamaño de partícula desde 45 µm hasta 2.8 µm.	Kayrak y Col. 2003

## Bibliografía

- Bhimanagouda Patil, S., Brodbelt Jennifer, S., Miller Edward, G., y Turner Nancy, D.. “Potential Health Benefits of Citrus: An Overview Potential Health Benefits of Citrus”, 936, (2006). 1-16: American Chemical Society.
- Chen Y.-M., P.-C. Lin, M. Tang, Y.-P. Chen, “Solid solubility of antilipemic agents and micronization of gemfibrozil in supercritical carbon dioxide”, *J. Supercrit. Fluids* 52 (2010) 175–182.
- Chingunpitak J., S. Puttipipatkachorn, Y. Tozuka, “Micronization of dihydroartemisinin by rapid expansion of supercritical solutions”, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 34 (2008) 609–617.
- Ghoreishi S.M., Hedayati Ali, Kordnejad M., “Micronization of chitosan via rapid expansion of supercritical solution”. *J. of Supercritical Fluids*, 111,(2016),162-170.
- He S., Z. Zhang, F. Xu, S. Zhang, Z. Lei, “Micronization of Magnolia Bark extract with enhanced dissolution behavior by rapid expansion of supercritical solution”, *Chem. Pharm. Bull.* 58 (2010) 154–159.
- Iman Asghari, Feridun Esmaeilzadeh “Formation of ultrafine deferasirox particles via rapid expansion of supercritical solution (RESS process) using Taguchi approach” *International Journal of Pharmaceutics*, 433 (2012), 1–2, 20, 149-156.
- Jennifer Jung, Michel Perrut. “Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey”, *J. of Supercritical Fluids* 20 (2001) 179–219.
- Kayrak D., U. Akman, Ö. Hortaçsu, “Micronization of ibuprofen by RESS”, *J. Supercrit. Fluids* 26 (2003) 17–31.
- Kim J.-T., H.-L. Kim, C.-S. Ju, “Micronization and characterization of drug substances by RESS with supercritical CO<sub>2</sub>”, *Korean J. Chem. Eng.* 27 (2010) 1139–1144.

Luque de Castro, M. D., y Valcárcel, M. (1993). “Extracción con Fluidos Supercríticos en el Proceso Analítico: Reverté.

Su Chie-Shaan, Tang Muoi, Chen Yan-Ping “ Micronization of nabumetone using the rapid expansion of supercritical solution (RESS) process”, J. of Supercritical Fluids, 50, (1),2009, 69-76.

Uchida Hirohisa, Masamichi Nishijima, Kyohei Sano, Kohei Demoto, Junichi Sakabe, Yusuke Shimoyama. “Production of theophylline nanoparticles using rapid expansion of supercritical solutions with a solid cosolvent (RESS-SC) technique”, J. of Supercritical Fluids, 105, 2015, 128-135.

Waters Corporation, “REES, Newark Training”, 2009.

Yu, J., Dandekar, D. V., Toledo, R. T., Singh, R. K., y Patil, B. S. (2007). “Supercritical fluid extraction of limonoids and naringin from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) seeds”. Food Chemistry, 105(3), 1026-1031.

Zeinolabedini Ali Hezave, Feridun Esmaeilzadeh “The effects of RESS parameters on the diclofenac particle size”, Advanced Powder Technology, 22 (2011), 5, 587-595.

## 13. OLEOSOMAS

**Diana Karina Baigts Allende**

**Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico y de  
Estudios Superiores de Monterrey**

[dbaigts@itesm.mx](mailto:dbaigts@itesm.mx)

### **Introducción**

Durante los últimos años los avances en nanociencia y nanotecnología, han permitido el desarrollo y caracterización de compuestos bioactivos transportadores. La entrega de compuestos a sitios específicos en el organismo y su comportamiento de liberación es afectada por el tamaño de partícula. La encapsulación de compuestos mediante sistemas nano-transportadores en comparación de los micro niveles, radica en que estos sistemas proveen una mayor área superficial, aumentan la solubilidad y por lo tanto mejoran la biodisponibilidad y precisión de la liberación controlada del material atrapado. Los sistemas a nivel nano, además de tener el potencial de entrega específica, disminuyen la necesidad de consumir grandes cantidades de fármacos o compuestos bioactivos mejorando el costo de efectividad de la formulación [1].

Los procesos de manufactura que son empleados para la preparación de nanopartículas determinan el tipo de material a utilizar. Productos como nanoesferas, nanocápsulas, oleosomas y liposomas ricos en compuestos funcionales como vitaminas y antioxidantes, pueden ser elaborados mediante coacervación o separación de fases. Estas técnicas tienen el objetivo de mejorar las formulaciones empleadas en diferentes sectores como el alimentario, farmacéutico, médico y de cosmética y mantener la estabilidad de los compuestos atrapados. Hay un gran número de materiales que pueden ser incorporados a este tipo de sistemas como por ejemplo aminoácidos, ácidos nucleicos de base terapéutica para la generación de tejidos, fármacos y compuestos bioactivos hidrofílicos como los antioxidantes [2].

## Composición y origen

El almacenamiento de energía en tejidos vegetales comúnmente es realizado en forma de carbohidratos o lípidos. Los compuestos lipídicos desempeñan diversas funciones en los organismos vegetales, los triacilgliceroles (TAG) por ejemplo, se encargan de suministrar principalmente los requerimientos energéticos de reserva los cuales son movilizados durante el periodo de metabolismo activo y son utilizados durante la germinación y el desarrollo de la planta. Por otro lado, los fosfolípidos y lípidos cuticulares participan en la formación de las membranas celulares y en el control de la migración del agua celular al medio, pueden actuar como intermediarios metabólicos y/o como agentes protectores otras moléculas bioactivas presentes como flavonoides y tocoferoles [3].

Los triglicéridos son los lípidos más abundantes y se encuentran localizados como pequeños organelos intracelulares de forma esférica en el citosol de las células. Estos organelos o gotas lipídicas citólicas fueron identificadas desde los años ochenta por Hanstein, quien observó microsomas fuera del tejido de la semilla, conocidas actualmente como cuerpos lipídicos u oleosomas.

La presencia de oleosomas han sido reportada principalmente en semillas aunque también han sido observadas en el polen, flores, tallos de plantas florales, esporas y órganos vegetativos de organismos no florales, algas, germen de maíz y algunos cereales [4]. Los oleosomas presentan un diámetro aproximado entre 0.2 y 2.5  $\mu\text{m}$  compuestas principalmente por lípidos neutros (94-98%) y pequeñas fracciones de fosfolípidos y proteínas superficiales en rangos de entre de 0.5-2% y 0.5-3.5% respectivamente. Los fosfolípidos se encuentran embebidos con proteínas altamente anfífilas (oleosina, caleosina y esteroleosina) formando una monocapa anfipática. Una de las proteínas más importantes y la que se encuentra en mayor cantidad es la llamada oleosina.

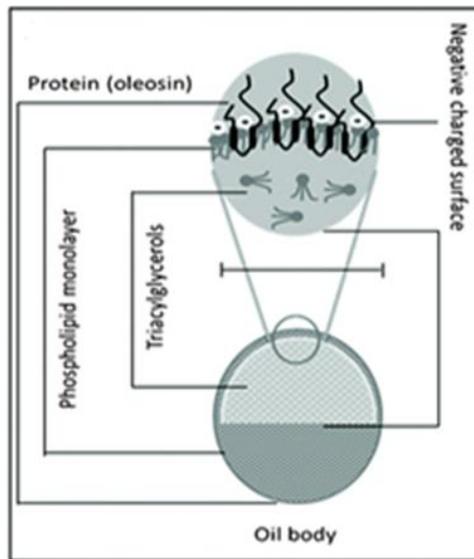


Fig. 1 Modelo estructural de un cuerpo lipídico natural [5]

Las oleosinas al igual que los TAG y los fosfolípidos, son sintetizadas durante la maduración de la semilla en el retículo endoplásmico. Están compuestas por tres regiones estructurales, el dominio N-terminal anfipático,  $\beta$ -antiparalelo hidrofóbico central y  $\alpha$ -helical C-terminal anfipático. Son clasificadas como las proteínas más alcalinas y tienen un peso molecular relativamente bajo (15-23 kDa) con residuos hidrofóbicos que se insertan en el centro lipídico de los oleosomas [6]. Aproximadamente, el 20% de los aminoácidos residuales se encuentran mezclados con la capa fosfolipídica, el 30% en la matriz de lípidos neutros y el 50% restante se encuentran expuestos al exterior. La presencia las oleosinas, permite la formación de una barrera estérica que mantiene a los oleosomas en pequeñas entidades, confiriéndoles una gran estabilidad al estrés físico y osmótico durante los ciclos de deshidratación-rehidratación durante la vida latente impidiendo la coalescencia.

Entre los fosfolípidos presentes en los oleosomas de semillas, se encuentran la fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE) en rangos de porcentajes entre 41-64 y 2.8-15.8 respectivamente [7]. También se han reportados compuestos exógenos como algunos compuestos polares poder antioxidante como el tocoferol localizado en la membrana interfacial y vitaminas. A estos compuestos se le ha atribuido contribuir en el

control de la oxidación lipídica, limitando la propagación de los radicales libres entre las gotas y ayudando a mantener la estabilidad estructural y química de la membrana. Existen reportes que señalan que los oleosomas encontrados en diversos materiales vegetales de diferente origen como granos de soya, germen de maíz, avena, semilla de girasol, almendras, arroz y cacahuates entre otras, presentan características estructurales más o menos similares [8]. En su forma nativa, éstos son almacenados en azúcares en condiciones de humedad bajas (5-10%), desestabilizándose durante su hidratación y germinación por lo que se espera que estas gotas lipídicas sean estables a condiciones similares antes de ser extraídos [9].

Durante los últimos años, estudios científicos han enfocado su atención en el uso de estos organelos como agentes encapsulantes de materiales hidrófobos y en la producción de emulsiones naturales para su uso en diversos sectores industriales. Su fácil extracción, la funcionalidad de sus componentes y su alta estabilidad física y oxidativa representan una alternativa novedosa y viable como ingrediente funcional, en el desarrollo de nano-sistemas vehículos y en la elaboración de emulsiones naturales.

### **Métodos de obtención**

La extracción convencional de aceites requiere un gran número de etapas de procesamiento antes de ser utilizados. El proceso da comienzo con la ruptura del material, el proceso de refinamiento mediante extracciones orgánicas (hexano), el desgomado, neutralización, blanqueado y el filtrado.

A diferencia de este procesamiento, la metodología seguida para la obtención de oleosomas requiere únicamente el rompimiento mecánico del material vegetal, extracción acuosa alcalina y su recuperación gravitacional. Las ventajas de este procedimiento son el mantenimiento intacto de la estructura del aceite o parcialmente afectada, la obtención de un aceite naturalmente emulsificado que no requeriría ser homogenizado y que además no utiliza solventes orgánicos de tipo flamable que generan emisiones contaminantes al medio ambiente [10].

La optativa de obtener compuestos lipídicos de alta pureza y sin pérdida de funcionalidad ha dado paso al estudio de la extracción de oleosomas para ser aplicados en diferentes sectores como promotores del bienestar. Se han sido estudiados muchos procedimientos para extraer y purificar oleosomas utilizando diferentes condiciones. Durante la etapa de la extracción acuosa, a difusión de la proteína en la solución acuosa permite la liberación de los oleosomas, los cuales son recuperados como una crema después de la aplicación de fuerzas gravitacionales; su concentración estará determinada por el método aplicado. Se ha observado que la presencia de sales, el control del pH y la temperatura, son factores determinantes en el rendimiento [11].

Un factor crítico en la estabilidad de los oleosomas es la presencia de proteínas exógenas, por lo que muchos investigadores han enfocado investigaciones en el efecto de la presencia o ausencia de estas estructuras en el tamaño de las gotas y el mecanismo de coalescencia durante su almacenamiento mediante técnicas de lavado utilizando soluciones salinas, urea y sacarosa [12-14].

## **Aplicaciones**

Los oleosomas pueden ser usados tanto como sistemas de entrega de compuestos bioactivos específicos o propios (triglicéridos, antioxidantes, vitaminas) como agentes emulsificadores o de barrera naturales que permitan extender la liberación de compuestos y/aromas sustituyendo a los de origen sintético de manera más eficiente y con un menor costo energético.

La estructura y orientación topológica los oleosomas y oleosinas han sido puntos clave para ser utilizados como herramientas en aplicaciones biotecnológicas como transportadores de proteína recombinantes y matrices de inmovilización [15].

Oleosomas nanofuncionales obtenidos mediante su expresión en la levadura *Yarrowia lipolytica*, han servido en la biosíntesis de proteínas utilizando sistemas nanoproteínas-oleosomas utilizados tanto en el transporte de fármacos como en la detección de patógenos, inmovilización de enzimas y nuevos biomateriales [16]. Utilizando esta misma vía, se ha

estudiado la producción transgénica de insulina humana produciendo altos rendimientos [17]. Sistemas blanco mediante la fusión de oleosinas recombinantes con oleosomas para conducir péptidos de interés [18]. Se han reportado que sistemas nanos transportadores de liberación han mejorado las propiedades farmacocinéticas en la administración de fármacos hidrofóbicos de consumo oral o intravenoso [19].

Otros estudios han enfocado sus esfuerzos en la elaboración de oleosomas artificiales como transportadores dirigidos de sustancias utilizando la membrana primaria de semilla de ajonjolí (oleosina) sobreexpresada en *Escherichia coli* [20]. La explotación de las oleosinas como vehículos de proteínas exógenas y péptidos también han sido alternativas atractivas en la preparación de soluciones altamente enriquecidas en oleosomas aislados con función inmunológica activa de fácil incorporación en la formulación de vacunas [21]. Igualmente, las caleosinas también han sido utilizadas como nanotransportadores en la encapsulación de agentes hidrófobos, mediante el ensamble de oleosomas artificiales a nanoescala mostrando una mayor estabilidad y efectividad en la liberación de fármacos específicos [22, 23].

Acevedo y colaboradores [24], utilizaron oleosomas de semilla de colza (*Brassica napus*) para microencapsular astaxantina (molécula antioxidante) logrando mejorar la estabilidad oxidativa en exposición al aire y luz, además de tener un efecto protector en la producción de especies de oxígeno reactivas (ROS). Su uso como sistema acarreador o sistema de liberación sostenida de un agente fotosensible productor de especies reactivas de oxígeno en la elaboración de medicamentos que intervengan en activar funcionalmente células madre y ser aplicados en medicina regenerativa y recuperación de daños epiteliales [25].

Bettini y colaboradores [5], estabilizaron curcuminoides mediante su encapsulación con oleosomas y observaron efectos benéficos farmacológicos involucrados en propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y anticancerígenas. Nuevas formulaciones sólidas en forma de polvo y tabletas con un tamaño de 150 nm han sido elaboradas para la administración oral de fármacos hidrofóbicos y drogas anticancerígenas [26, 27]. Así como

rutas optimizadas y modificadas en la entrega de compuestos aromáticos volátiles en el espacio de cabeza de productos, han aumentado el impacto en la percepción de aromas [28].

Los oleosomas dispersos en agua representan una emulsión natural y su estabilidad puede ser controlada gracias al conocimiento de sus propiedades interfaciales, a la fracción volumétrica de la fase dispersa y el tamaño y distribución de las gotas [29].

La producción emulsiones a partir de oleosomas, ha apuntado al desarrollo de productos farmacéuticos, de cuidado personal y de alimentación como alternativa económica, funcional y respetuosa con el medio ambiente. En el ámbito alimentario, se han aplicado en el desarrollo de nuevos productos como mayonesas, helados, aderezos, budines entre otros, lo cual representa una alternativa funcional con alto contenido en ácidos grasos polinsaturados, vitamina E y compuestos antioxidantes.

Es importante mencionar que para que los oleosomas puedan ser utilizados comercialmente en la manufactura de alimentos, es importante asegurar la estabilidad fisicoquímica de las dispersiones de aceite contra la agregación y coalescencia tiene a cambios ambientales como variaciones de pH, fuerza iónica y temperatura [10, 30].

Estrategias para la mejora de la estabilidad de oleosomas en dispersiones acuosas han sido estudiadas mediante la modificación de la carga neta de las gotas lipídicas utilizando polisacáridos de carga opuesta como gomas carragenina, xantana y moléculas de pectina formando un recubrimiento de protección, incluyendo el uso de agentes surfactantes como dodecilsulfato sódico, Tween 80 [31] o entrecruzamientos enzimáticos [20]. Nikiforidis y colaboradores [11], estudiaron la estabilidad de nanoemulsiones de oleosomas extraídos de germen de maíz sometidos a ultrafiltración, encontrando que los sistemas fueron altamente estables a la coalescencia durante almacenamiento prolongado a temperatura ambiente sin presentar floculación incluso sometidos a altas temperaturas (90 °C). La versatilidad de uso de estos compuestos ha permitido igualmente incursionar en el desarrollo de recubrimientos

comestibles en combinación con el caseinato de sodio, mostrando buenas propiedades tensiles, resistencia a la sorción de agua y a la permeación de vapor [32].

El seguimiento en investigación de estos compuestos aumenta año con año, lo cual apunta a la exploración de materiales no estudiados como potenciales recursos para su aplicación con funcionalidad agregada como los materiales ricos en PUFAS como pueden ser las semillas de chía, nativa de países como México y Guatemala.

## Referencias

1. Khosravi-Darani, K., et al., *The role of high-resolution imaging in the evaluation of nanosystems for bioactive encapsulation and targeted nanotherapy*. *Micron*, 2007. **38**(8): p. 804-818.
2. Mozafari, M.R., *Bioactive entrapment and targeting using nanocarrier technologies: an introduction*, in *Nanocarrier technologies*. 2006, Springer. p. 1-16.
3. Fisk, I., *Physicochemical characterisation of sunflower seed oil bodies ex-vivo*. 2007, University of Nottingham.
4. Huang, A.H., *Oil bodies and oleosins in seeds*. *Annual review of plant biology*, 1992. **43**(1): p. 177-200.
5. Bettini, S., et al., *Efficient stabilization of natural curcuminoids mediated by oil body encapsulation*. *Rsc Advances*, 2013. **3**(16): p. 5422-5429.
6. Purkrtova, Z., et al., *Structure and function of seed lipid body-associated proteins*. *Comptes rendus biologiques*, 2008. **331**(10): p. 746-754.
7. Tzen, J. and A. Huang, *Surface structure and properties of plant seed oil bodies*. *The Journal of cell biology*, 1992. **117**(2): p. 327-335.
8. Tzen, J.T., et al., *Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species*. *Plant physiology*, 1993. **101**(1): p. 267-276.
9. Murphy, D.J., *The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms*. *Progress in lipid research*, 2001. **40**(5): p. 325-438.
10. Iwanaga, D., et al., *Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: a natural source of pre-emulsified soybean oil*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2007. **55**(21): p. 8711-8716.

11. Nikiforidis, C.V., O.A. Karkani, and V. Kiosseoglou, *Exploitation of maize germ for the preparation of a stable oil-body nanoemulsion using a combined aqueous extraction–ultrafiltration method*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(5): p. 1122-1127.
12. Nikiforidis, C.V. and V. Kiosseoglou, *Physicochemical stability of maize germ oil body emulsions as influenced by oil body surface– xanthan gum interactions*. Journal of agricultural and food chemistry, 2009. **58**(1): p. 527-532.
13. White, D., I. Fisk, and D. Gray, *Characterisation of oat (Avena sativa L.) oil bodies and intrinsically associated E-vitamers*. Journal of Cereal Science, 2006. **43**(2): p. 244-249.
14. Fisk, I.D., et al., *Entrapment of a volatile lipophilic aroma compound (d-limonene) in spray dried water-washed oil bodies naturally derived from sunflower seeds (Helianthus annus)*. Food Research International, 2013. **54**(1): p. 861-866.
15. Bhatla, S., V. Kaushik, and M. Yadav, *Use of oil bodies and oleosins in recombinant protein production and other biotechnological applications*. Biotechnology advances, 2010. **28**(3): p. 293-300.
16. Han, Z., C. Madzak, and W.W. Su, *Tunable nano -oleosomes derived from engineered Yarrowia lipolytica*. Biotechnology and bioengineering, 2013. **110**(3): p. 702-710.
17. Nykiforuk, C.L., et al., *Transgenic expression and recovery of biologically active recombinant human insulin from Arabidopsis thaliana seeds*. Plant Biotechnology Journal, 2006. **4**(1): p. 77-85.
18. MARKLEY, N., et al., *Producing proteins using transgenic oilbody-oleosin technology*. Biopharm international, 2006. **19**(6).
19. Ferrari, M., *Cancer nanotechnology: opportunities and challenges*. Nature Reviews Cancer, 2005. **5**(3): p. 161-171.
20. Chiang, C.-J., et al., *Selective delivery of cargo entities to tumor cells by nanoscale artificial oil bodies*. Journal of agricultural and food chemistry, 2010. **58**(22): p. 11695-11702.
21. Boothe, J., J. Saponja, and D. Parmenter, *Molecular farming in plants: Oleosins as vehicles for the production of pharmaceutical proteins*. Drug Development Research, 1997. **43**: p. 172-181.
22. Liu, T.-h., et al., *Stability of artificial oil bodies constituted with recombinant caleosins*. Journal of agricultural and food chemistry, 2009. **57**(6): p. 2308-2313.
23. Chiang, C.-J., et al., *Functionalized nanoscale oil bodies for targeted delivery of a hydrophobic drug*. Nanotechnology, 2011. **22**(41): p. 415102.

24. Acevedo, F., et al., *Oil bodies as a potential microencapsulation carrier for astaxanthin stabilisation and safe delivery*. Journal of microencapsulation, 2014. **31**(5): p. 488-500.
25. Espada, J., et al., *Uso de un agente fotosensible capaz de producir especies reactivas de oxígeno en la preparación de un medicamento útil para la terapia fotodinámica de una enfermedad relacionada con células madre, uso "in vitro" y composición farmacéutica*. 2014.
26. Chang, M.T., et al., *Development of a protocol to solidify native and artificial oil bodies for long-term storage at room temperature*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013. **93**(6): p. 1516-1519.
27. Vergaro, V.Z., Z.; Zheng, X.; Lvov, Y.M.; Giovinazzo, G.; Santino, A.; Cingolani, R.; Rinaldi, R.; Leopatti, S. , *Nanocarriers for cancer therapy*. 2010. **Nanotechnology**(3): p. 393 - 394.
28. Fisk, I.D., ed. *Aroma release. In Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*. ed. J.K.E. Parker, S.: Methven, L. 2015, Woodhead Publishing, Elsevier: Woodhead. 105-109, 273.
29. McClements, D., *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. 1999, Boca Raton, FL: CRC Press.
30. White, D., et al., *Sunflower-seed oil body emulsions: rheology and stability assessment of a natural emulsion*. Food Hydrocolloids, 2008. **22**(7): p. 1224-1232.
31. Nikiforidis, C.V. and V. Kiosseoglou, *Competitive displacement of oil body surface proteins by Tween 80—Effect on physical stability*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(5): p. 1063-1068.
32. Matsakidou, A., C.G. Biliaderis, and V. Kiosseoglou, *Preparation and characterization of composite sodium caseinate edible films incorporating naturally emulsified oil bodies*. Food Hydrocolloids, 2013. **30**(1): p. 232-240.

# 14. SECADO POR ASPERSIÓN

Miriam Fabiola Fabela Morón,

Catedrática(o) CONACYT-Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.

[mfabela@ciatej.mx](mailto:mfabela@ciatej.mx)

## Introducción

El secado por aspersión es una operación unitaria en la cual se transforma un fluido (solución, dispersión o pasta) en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado, dando como producto un polvo o pequeñas esferas [1]. Durante el proceso de secado, mientras se reduce la densidad empacada y el tamaño del sólido obtenido mediante deshidratación, el secado por aspersión minimiza su manejo y preserva el producto por la reducción de la actividad de agua y del contenido de humedad a niveles bajos requeridos para detener el crecimiento microbiano y así las velocidades de reacciones químicas son significativamente reducidas (Fig. 1) [2].

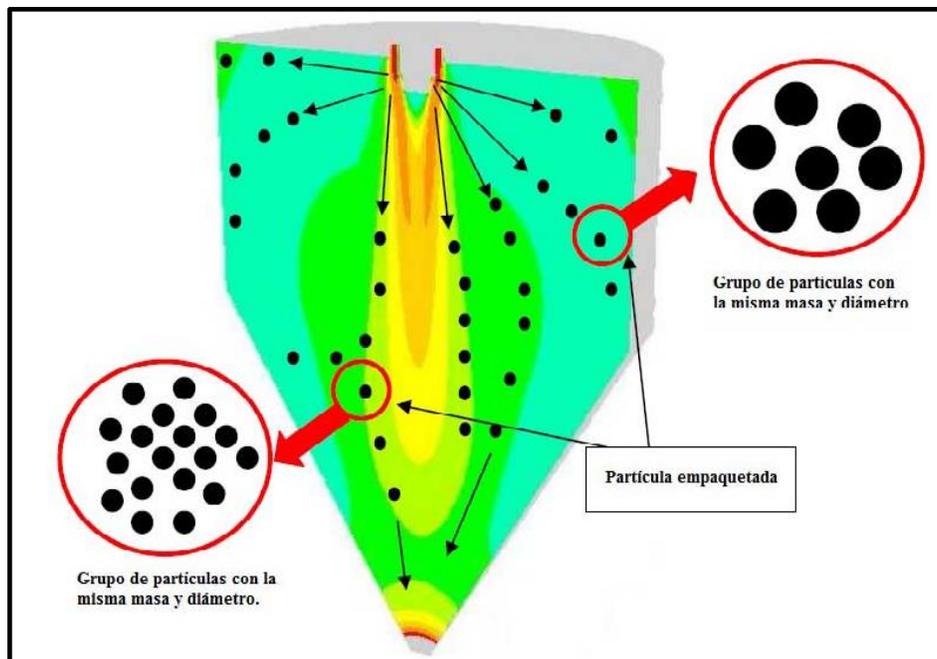


Fig. 1. Obtención de micro y nano partículas mediante secado por aspersión. El diagrama fue adaptado de Woo *et al.*, [4]

Actualmente, el secado por aspersión es ampliamente empleado en la industria alimenticia, farmacéutica y química debido a que es un método efectivo para la protección y conservación de compuestos bioactivos, además de que permite obtener partículas a nivel micro y nano con una morfoestructura característica [3]. En este capítulo se presentan aspectos generales del uso del secado por aspersión como una tecnología innovadora en la obtención de micro y nano partículas de liberación controlada, que a su vez permiten la protección de compuestos bioactivos.

### Secado por aspersión

En el secado por aspersión el producto está expuesto al aire caliente durante tiempos cortos y la evaporación del líquido en la aspersión mantiene la temperatura del producto a un nivel bajo aún en presencia de gases muy calientes, este aire se alimenta a través de un filtro y un calentador, entra por la parte superior de la cámara de secado fluyendo a través de aspersores en paralelo, contra-corriente o de flujo mixto/fuente con las gotas asperjadas que se están secando y a medida que caen las gotas, se evapora la humedad en el gas caliente, dejando el material sólido en forma de partículas, las cuales son arrastradas por el gas hacia separadores de ciclón (Fig. 2) [5].

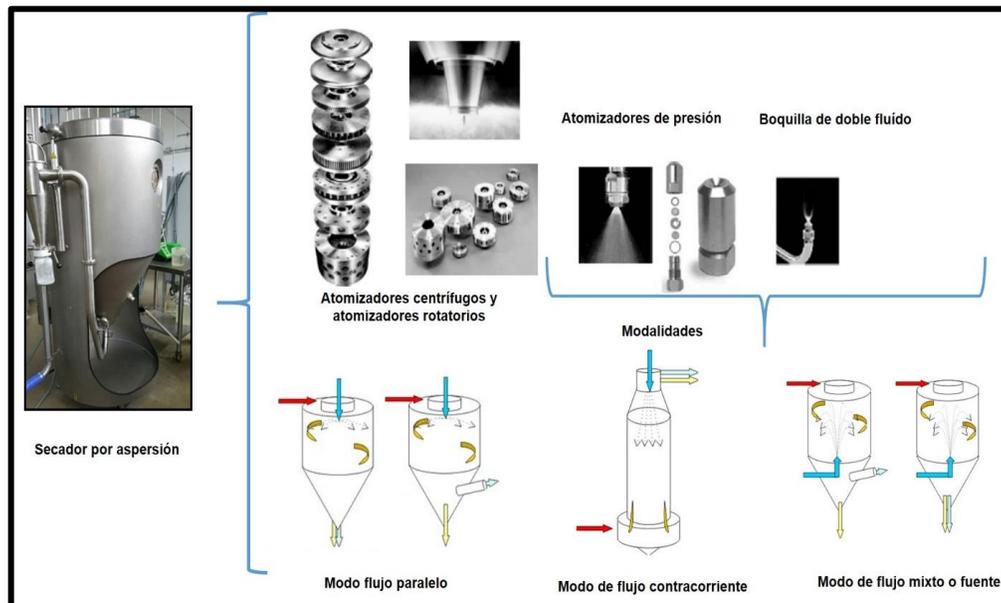


Fig. 2. Tipos de aspersores en secado por aspersión (Fuente: elaboración propia con imágenes adaptadas de *Niro Group*: [www.niro.com](http://www.niro.com) y <http://secadospray.blogspot.mx/>)

Normalmente si se trabaja por debajo de la capacidad de la boquilla de aspersión, el tamaño de la partícula disminuye. El flujo está ligado a la presión, donde partículas más pequeñas se formarán con boquillas de mayor ángulo. A mayor presión, menor tamaño de partícula. A mayor viscosidad mayor tamaño de partícula. La viscosidad está relacionada con la densidad y la temperatura. Se incluyen dos fases de secado y una de expansión de partículas secas, en ambas fases se elimina la humedad en más del 93%, la temperatura del producto aumenta desde una cercana a la temperatura de bulbo húmedo hasta llegar a una mayor a la de ebullición del agua [6].

Los productos obtenidos por este proceso pueden ser catalogados en dos grupos:

- a) Productos pegajosos, esta categorización es relativa ya que algunos productos no pegajosos se comportan de manera contraria dependiendo de las condiciones del proceso.
- b) Los productos no pegajosos pueden ser tratados a través de un secador simple. Los productos secos obtenidos son de baja higroscopicidad y de libre flujo. Los productos pegajosos son generalmente de tratamiento más difícil.

En el caso de alimentos ricos en azúcares, es importante tener en cuenta que la remoción rápida de la humedad durante el secado da como resultado productos completamente amorfos con regiones microcristalinas dispersas en una masa amorfa que es inestable y con una alta higroscopicidad [7]. La temperatura de transición vítrea, es el indicador más utilizado y aplicado en las investigaciones acerca de la determinación de la temperatura de pegajosidad de diferentes materiales y puede ser analizada usando varias técnicas, las cuales miden una propiedad específica que cambia durante la temperatura de transición, entre ellas se encuentra el volumen, la entalpía y las propiedades mecánicas y eléctricas (Fig. 3.) [8].

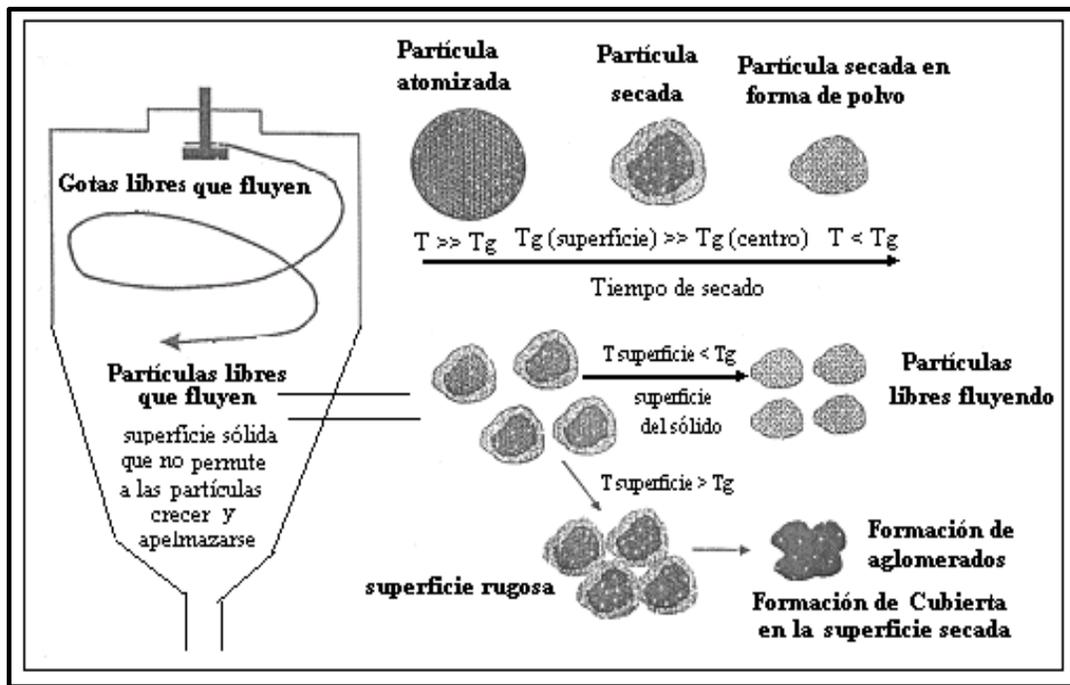


Fig. 3. Partícula atomizada en secado por aspersión (Fuente: elaboración personal basada en información de Boonyai *et al.*, 2004 y Schebor *et al.*, 2010)

Asimismo, en el secado por aspersión el tiempo de contacto con el aire es corto de forma tal que el daño que sufre el producto durante el secado es mínimo y el tiempo de residencia considera tiempos cortos, medios y largos:

- a) Corto: De 10 a 15 segundos, recomendado para polvos finos no sensitivos al tratamiento térmico, conteniendo altas cantidades de humedad no ligada, no higroscópicos.
- b) Medio: de 25 a 35 segundos, recomendado para polvos semi-gruesos con tamaño medio de partícula por debajo de 180 micras, para productos sensitivos y resistentes al tratamiento térmico, humedad residual requerida baja (3 al 1%), higroscópicos.
- c) Largo: 40 segundos o más, recomendado para polvos muy gruesos con tamaño medio de partícula de 200 a 275 micras, no sensibles al tratamiento térmico y humedad residual muy baja (menor a 0.5%).

Durante el secado por aspersión, la naturaleza del material y las condiciones de operación, pueden modificar el desarrollo morfológico de la partícula, debido a que estos

aspectos están influenciados por la composición de la alimentación, su concentración, temperatura y humedad del aire, presión de atomización, arreglo de atomización, geometría del secador, direcciones del flujo del producto y del aire en el secador [6].

En el proceso de secado, se observa el encogimiento de partícula seguida por una expansión incipiente de la misma, la partícula puede llegar a duplicar su tamaño y en algunos casos puede presentarse ruptura de coraza, en la fase de expansión, la eliminación de humedad y los cambios de temperatura son despreciables. Cualquier cambio en las condiciones de operación puede modificar el desarrollo morfoestructural de la partícula y la altura mínima para alcanzar un secado efectivo [6]. Las partículas presentan morfoestructura lisa, con hendiduras y cierto grado de esfericidad y circularidad (Fig. 4.).

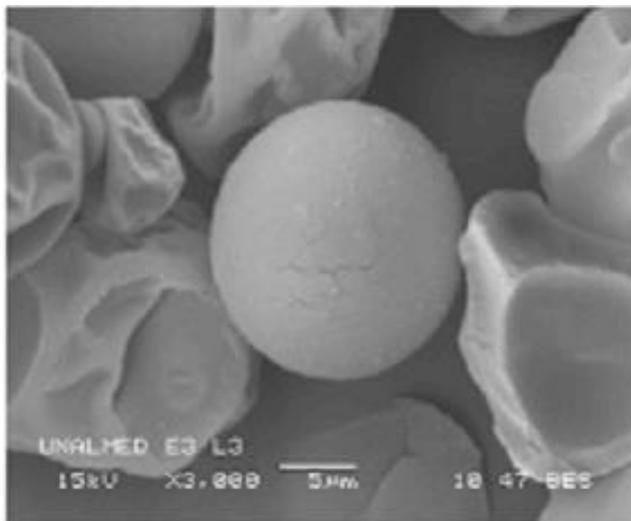


Fig. 4. Morfoestructura de partículas obtenidas mediante secado por aspersión (Fuente: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-40042009000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042009000100007))

Estos aspectos representan una ventaja en el procesamiento de productos sensibles a altas temperaturas, razón por la cual presenta también ciertas características y ventajas sobre otros procesos: capacidad de operar en forma continua, adaptabilidad a la automatización del proceso, diversidad de condiciones de operación, aplicación a materiales sensibles y no sensibles al calor, amplias posibilidades de manejo a todas las

escalas (laboratorio, planta piloto, pequeña y gran industria), control del tamaño de gota, dependiendo del método de atomización seleccionado, contacto directo entre aire-gota y tiempos cortos de residencia; sin embargo, presenta algunas desventajas tales como: ocupa gran espacio en planta, elevados costos de inversión y de operación y el producto húmedo puede incrustarse en las paredes del equipo [9-11].

## **El secado por aspersion como método encapsulación de compuestos**

### **bioactivos**

La encapsulación es una técnica que permite transformar compuestos bioactivos líquidos (componentes volátiles, aceites esenciales y oleorresinas) en polvos estables que puedan fluir libremente, que sean fáciles de manejar e incorporar, conservando sus características naturales y optimizando su uso.

El proceso de encapsulación se define como el revestimiento de pequeñas partículas de líquidos, sólidos o gases con una delgada capa protectora de material de barrera o pared, la cual inhibe la volatilización y protege al material encapsulado contra condiciones ambientales adversas, como lo son los efectos de la luz, humedad, oxígeno, y el deterioro químico, además de brindar protección contra la radiación ultravioleta y exposición a productos peligrosos o tóxicos, contribuyendo a incrementar la vida de anaquel del producto y promoviendo la liberación controlada del encapsulado [10, 11]. En micro y nanoencapsulación los tamaños de las partículas obtenidas se encuentran en  $\mu\text{m}$  y  $\text{nm}$  respectivamente. La selección del método de encapsulación está en función del tamaño de partícula requerido, las propiedades fisicoquímicas del material pared y de la sustancia a encapsular, las aplicaciones para el material, los mecanismos de liberación y costos. Existen varios métodos de encapsulación, los cuales se pueden dividir en tres grupos:

- a) Procesos físicos:** Secado por aspersion, extrusión, cristalización.
- b) Procesos químicos:** Polimerización interfacial, inclusión molecular.
- c) Procesos fisicoquímicos:** Coacervación simple o compleja (separación de la fase acuosa), evaporación de solvente en la emulsión (separación de la fase orgánica), solidificación de la emulsión [12, 13].

En la encapsulación mediante secado por aspersión, en la micro o nanocápsula obtenida, al contenido interior se denomina núcleo, fase interna, relleno o agente activo y a la capa exterior, material portador, coraza, capa, red, matriz o material de pared, la cual puede variar en su espesor o en el número de capas y generalmente no reacciona con el material a encapsular. El término microcápsula aplica para partículas que tienen tamaños que van desde 1  $\mu\text{m}$  a 5000  $\mu\text{m}$ , mientras que a las que son inferiores a 1  $\mu\text{m}$ , se les denomina nanocápsulas. Las dos etapas principales en la micro y nanoencapsulación mediante secado por aspersión, es la emulsificación del material a encapsular utilizando materiales de pared biopolímeros como los almidones modificados, maltodextrinas y las gomas; la otra etapa es el secado, formándose una capa protectora lo suficientemente densa y al mismo tiempo fina para evitar mecanismos difusivos, siendo el secado por aspersión el método que domina en gran parte el mercado de protección de compuestos bioactivos [10, 14].

El material a encapsular se dispersa en un acarreador coloidal (gelatina, almidón modificado, dextrinas o maltodextrinas, goma arábiga) y se adiciona un emulsificante, posteriormente la mezcla se homogeneiza para formar una emulsión aceite en agua, la cual se alimenta al atomizador. Dentro del secador, se evapora la fase acuosa, encapsulando el ingrediente activo dentro de un hidrocoloide o en una película proteínica [10, 11]. Los hidrocoloides en microencapsulación de compuestos bioactivos, pueden actuar como emulsificantes, siendo definidos como moléculas con superficie activa que absorben hacia la superficie de gotas formadas durante la homogeneización, formando una membrana protectora que evita que las gotas que vienen acercándose se aglomeren. La mayoría de los emulsificantes usados en la industria química son moléculas anfifílicas como los surfactantes (proteínas y fosfolípidos). La mayoría de los polisacáridos son predominantemente hidrofílicos y algunos son hidrofóbicos.

En este sentido, los biopolímeros deben de favorecer la formación de una emulsión, la cual contiene dos fases líquidas, de las cuales una es dispersada en glóbulos en la otra y que consta de dos líquidos inmiscibles generalmente agua-aceite [15, 16].

Las partículas secadas por aspersion contienen el material encapsulado como diminutas gotas incrustadas dentro de las paredes de la microcápsula. El núcleo activo es añadido a la solución de pared, mediante la homogeneización hasta formar la emulsión, la cual deberá tener pequeñas gotas de aceite para mejorar su estabilidad y prevenir la coalescencia de las gotas durante el proceso de secado y diferentes tipos de partículas son obtenidas como puede apreciarse en la Figura 5 [9]. El secado por aspersion al ser utilizado como un método de encapsulación de compuestos bioactivos, permite controlar la liberación del material ocluido además de proteger de la degradación, o para separar un componente reactivo dentro de la formulación. Las barreras poliméricas se forman por una parte permeable con alta porosidad o una menos permeable con baja porosidad, lo cual determina el comportamiento de liberación controlada de los materiales del núcleo y la morfología de las microcápsulas (geometría esférica, irregular y pueden tener la fase interna distribuida en una matriz de material de pared) (Fig. 5.).

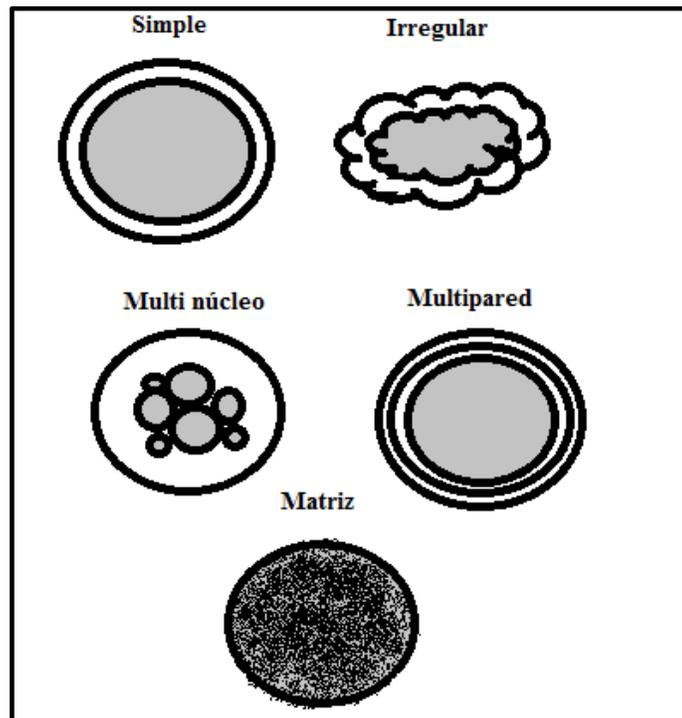


Fig. 5. Tipos de micro y nanopartículas de liberación controlada  
(Fuente: elaboración propia basada en información de Gharsallaoui *et al.*, 2007)

Entre los compuestos bioactivos que han sido encapsulados mediante secado por aspersión, se encuentran las vitaminas A, D, E, K y del complejo B; microorganismos, carotenoides, resveratrol, antocianinas, ácidos orgánicos, extractos de plantas, compuestos fenólicos, etc. Los parámetros involucrados en su liberación controlada se presentan en la Figura 6.

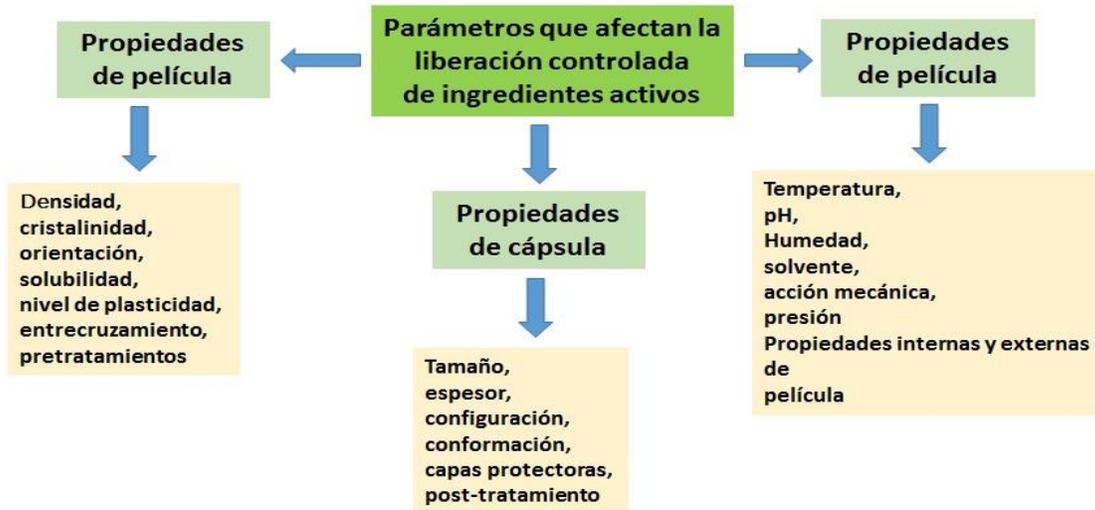


Fig. 6. Parámetros que afectan la liberación controlada de ingredientes activos  
(Fuente: elaboración propia basada en información de Madene *et al.*, 2006)

## Conclusiones

El secado por aspersión es ampliamente usado por ser un método económico y efectivo en la protección de compuestos bioactivos. Los almidones modificados, las maltodextrinas y las gomas son utilizados como acarreadores o materiales pared. Las aplicaciones de esta técnica han ido incrementándose en la industria de los alimentos, farmacéutica y química, debido a la protección de los compuestos bioactivos encapsulados contra factores como calor y humedad, temperatura, luz y microorganismos, permitiendo mantener su estabilidad, viabilidad y liberación controlada.

## Referencias

1. Rodríguez-Huezo, M., et al., *Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids*. JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-, 2004. **69**: p. E351-E359.
2. Langrish, T. and D. Chiou, *Producing Powders of Hibiscus Extract in a Laboratory-Scale Spray Dryer*. International Journal of Food Engineering, 2008. **4**(3).
3. Fabela-Morón, M., et al., *Physical–Chemical Properties and Microstructure of Agave Powders Obtained by Spray Drying*, in *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*. 2015, Springer. p. 345-351.
4. Woo, M.W., et al., *CFD evaluation of droplet drying models in a spray dryer fitted with a rotary atomizer*. Drying Technology, 2008. **26**(10): p. 1180-1198.
5. Legako, J. and N.T. Dunford, *Effect of spray nozzle design on fish oil–whey protein microcapsule properties*. Journal of food science, 2010. **75**(6): p. E394-E400.
6. Alamilla-Beltrán, L., et al., *Description of morphological changes of particles along spray drying*. Journal of Food Engineering, 2005. **67**(1): p. 179-184.
7. Boonyai, P., B. Bhandari, and T. Howes, *Stickiness measurement techniques for food powders: a review*. Powder Technology, 2004. **145**(1): p. 34-46.
8. Schebor, C., M.F. Mazzobre, and M. del Pilar Buera, *Glass transition and time-dependent crystallization behavior of dehydration bioprotectant sugars*. Carbohydrate research, 2010. **345**(2): p. 303-308.
9. Madene, A., et al., *Flavour encapsulation and controlled release—a review*. International journal of food science & technology, 2006. **41**(1): p. 1-21.
10. Gharsallaoui, A., et al., *Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview*. Food Research International, 2007. **40**(9): p. 1107-1121.
11. Re, M.-I.s., *Formulating drug delivery systems by spray drying*. Drying Technology, 2006. **24**(4): p. 433-446.
12. Pedroza-Islas, R., et al., *Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas*. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 2002. **3**.

13. Yáñez, J., et al., *Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación*. Avance y perspectiva, 2002. **21**: p. 313-9.
14. Shaikh, J., R. Bhosale, and R. Singhal, *Microencapsulation of black pepper oleoresin*. Food chemistry, 2006. **94**(1): p. 105-110.
15. Dickinson, E., *Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems*. Food hydrocolloids, 2003. **17**(1): p. 25-39.
16. Krishnan, S., R. Bhosale, and R.S. Singhal, *Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials*. Carbohydrate Polymers, 2005. **61**(1): p. 95-102.

# 15. NANOSECCADO POR ASPERSIÓN

Hugo Espinosa Andrews

Tecnología Alimentaria, CIATEJ, A.C.

[\\*hospinosa@ciatej.mx](mailto:hospinosa@ciatej.mx)

## Introducción

La generación de nanopartículas a partir del secado por aspersión fue introducida al mercado por la compañía Suiza BÜCHI Labortechnik AG con el nanosecador por aspersión B-90 (Fig. 1). Esta tecnología fue desarrollada para deshidratar por pulverización soluciones y suspensiones acuosas en circuito abierto empleando aire comprimido como gas de secado, así como para deshidratar soluciones y suspensiones de disolventes orgánicos en circuito cerrado en atmósfera inertes de N<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub> en su versión más avanzada.



*Fig.1 Nanosecador por aspersión B-90.*

Los parámetros más relevantes en el proceso de nanosecado por aspersión son: 1) Flujo del gas de secado, 2) presión relativa en el interior de la cámara de secado, 3) temperatura de entrada del aire de secado 4) tamaño de caperuzas de pulverización, 5) viscosidad de la muestra, y 6) tasa de alimentación del producto. El cabezal de pulverización está compuesto por un actuador piezoeléctrico con una fina membrana de acero inoxidable que vibra a una frecuencia ultrasónica (60 kHz) expulsando las gotas a gran velocidad. El tamaño de las partículas de salida depende principalmente de las caperuzas de pulverización (4.0, 5.5 y 7.0  $\mu\text{m}$ ) con las cuales se pueden producir gotas entre 8  $\mu\text{m}$  y 21  $\mu\text{m}$ . El tamaño de las partículas deshidratadas puede oscilar entre 300 nm y 5  $\mu\text{m}$  con una tasa de rendimiento de hasta el 90%. El aire es calentado por una resistencia eléctrica de 1400 W, la cual puede generar una temperatura máxima de operación de 120°C. El flujo de gas de secado que circula a través de la cámara de secado puede variar entre 80 y 160 L/min con una capacidad de evaporación máxima de 200 mL H<sub>2</sub>O/h. La muestra es alimentada al cabezal de pulverización con una bomba peristáltica.

La cantidad de material a deshidratar depende del tamaño de malla seleccionada, cuanto menor sea el tamaño de la malla, menor serán las gotas expulsadas y por consecuencia las partículas deshidratadas. El resto del material alimentado no asperjado es recirculado al vaso de producto. El tiempo de residencia de las partículas dentro del secador puede variar entre 1 a 4 segundos. Las partículas deshidratadas son recolectadas en el fondo de la cámara de secado mediante la generación de un campo eléctrico. Este campo eléctrico garantiza un alto rendimiento debido a que el mecanismo de recolección es independiente de masa de las partículas. La configuración de secado de loop cerrado permite la deshidratación segura de disolventes orgánicos. Por ejemplo, mezclas de agua-disolvente orgánico hasta con un 20% del contenido de disolvente orgánico, o para mezclas de disolventes con un punto de ebullición alto (> 70°C) con un contenido de disolvente orgánico de hasta 50% [1].

La nanoencapsulación es un área de creciente interés en los últimos años; en este campo la mayor parte de las investigaciones alrededor del mundo buscan alternativas para aumentar su vida útil y asegurar sus propiedades promotoras de la salud [2] (Fig. 2).

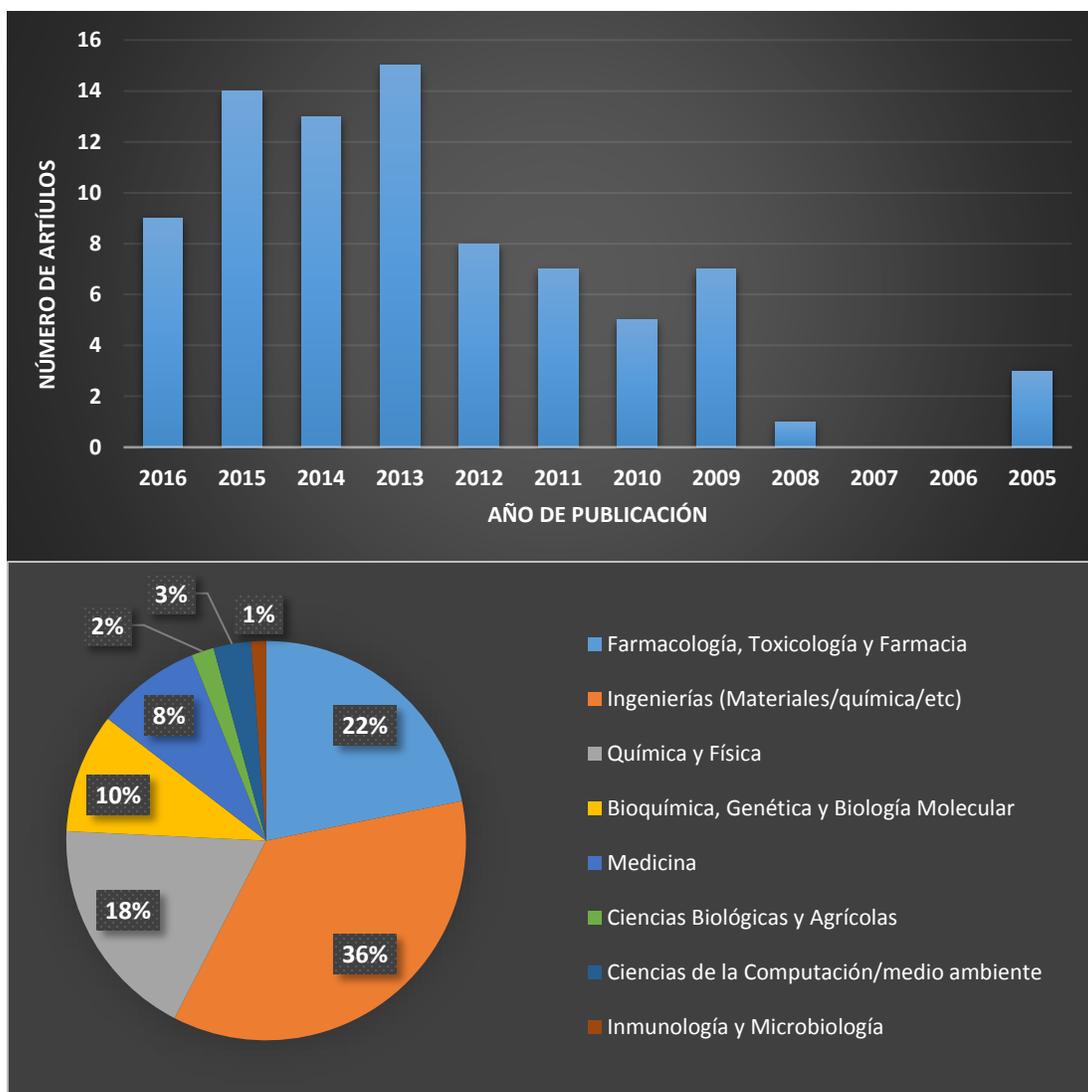
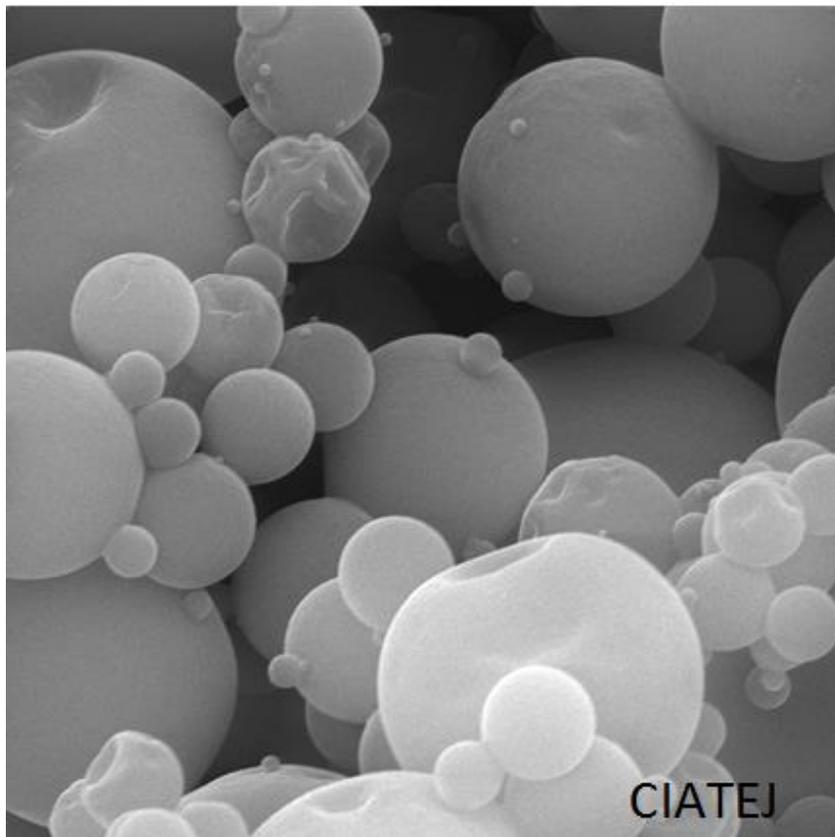


Fig. 2 Tecnología de nanoencapsulación por aspersión: a) número de artículos científicos publicados y b) áreas de publicación. Fuente: Scopus Marzo 2017.

## Aplicaciones de la tecnología

La tecnología puede ser aplicada para la encapsulación de aditivos, nutraceuticos, alimentos funcionales, sabores, vitaminas, proteínas, bacterias probióticas, concentrado de jugo, leche en polvo, entre otros. Entre las principales ventajas que ofrece esta tecnología incluye: 1) la reducción de los costos de I + D, y 2) trabajar con una cantidad mínima de muestra (> 2 mL o > 200 mg).

La Fig. 3 muestra una microfotografía de nanopartículas de aceite de pescado (<math><1\mu\text{m}</math>) desarrolladas en el CIATEJ, unidad de tecnología alimentaria.



*Fig. 3 Nanopartículas de aceite de pescado.*

En los últimos años, el desarrollo de partículas por esta tecnología se ha incrementado. Por ejemplo, Lee, Heng [1] optimizaron la producción de nanopartículas de albúmina de suero bovino (BSA) empleando un nanosecador por aspersión. El estudio incluyó el efecto del tamaño de malla de pulverización, concentración de la solución de BSA, concentración de tensoactivo, el flujo del aire de secado y temperatura de entrada sobre el tamaño y morfología de las partículas. En general, el tamaño de partícula y la morfología fueron influenciados principalmente por el tamaño de malla de pulverización y el tensoactivo, respectivamente. Cuatro diferentes tipos de morfologías fueron observadas: esferas lisas, esferas arrugadas, partículas con forma de rosquilla, y partículas en forma de gránulos. La adición de bajas concentraciones de tensoactivo ayudó a mejorar la morfología de las nanopartículas. Nanopartículas esféricas lisas de tamaño promedio de  $460 \pm 10$  nm fueron obtenidas utilizando la malla de pulverización de  $4 \mu\text{m}$  a temperatura de entrada de  $120^\circ\text{C}$  y  $150$  L/min con una concentración de BSA de  $0.1\%$  (w/v), concentración de tensoactivo de  $0.05\%$  (w/v).

El ácido fólico es un micronutriente esencial que no pueden ser sintetizados por los seres humanos y, por lo tanto, deben ser ingeridos a través de la dieta. Como todas las vitaminas, el ácido fólico es susceptible a la degradación cuando se expone a la luz, temperatura, humedad, medio ácido o alcalino y atmósfera de oxígeno [3]. Pérez-Masiá, López-Nicolás [2] compararon los procesos de encapsulación de nanosecado por aspersión y electrospinning para obtener nanopartículas de ácido fólico. La eficiencia de encapsulación no mostró diferencias significativas entre ambos procesos de secado, pero mostró diferencias en función del material de barrera empleado. La proteína de suero de leche presentó mayor eficiencia de encapsulación, en comparación con el almidón. Este resultado fue relacionado con las interacciones entre la matriz de proteína y el bioactivo, facilitando la incorporación del ácido fólico en la matriz de proteína.

Li, Anton [4] prepararon nanopartículas producidas a partir de nanoemulsiones empleando cinco diferentes materiales pared: goma arábica, proteína de suero de leche, alcohol polivinílico, almidón modificado y maltodextrina. En general, las distribuciones de tamaño de partícula en los polvos permanecieron por debajo de 1  $\mu\text{m}$ , alcanzando tamaños de partículas tan bajos como  $\sim 350$  nm con una desviación estándar de  $\sim 100$  nm para la goma arábica (0.1%). El tamaño y la desviación estándar de las partículas obtenidas varió dependiendo de la naturaleza del material de pared utilizado, la ubicación de recolección de las muestras en polvo en el recolector (dependiendo de la estructura química y la carga intrínseca de la molécula) y concentración de la solución de secado.

Bürki, Jeon [5] evaluaron la influencia de la temperatura de entrada, tamaño de membrana y concentración de etanol sobre la producción de nanopartículas de  $\beta$ -galactosidasa y trehalosa. La temperatura de entrada, así como la interacción entre la temperatura de entrada y tamaño de membrana influenciaron significativamente la actividad enzimática. La trehalosa es conocida por su capacidad de estabilizar proteínas y péptidos en el estado amorfo [6, 7]. Sin embargo, los resultados mostraron que la adición de la trehalosa no mostró efectos significativos sobre la actividad enzimática. Las condiciones laminares desarrolladas durante el proceso de pulverización hacen que el sistema de deshidratación sea ideal para productos altamente lábiles al calor [1].

Moncada, Astete [8] estudiaron la producción de cristales de cloruro de sodio empleando el nanosecador por aspersión sobre las características microbiológicas y sensoriales de galletas de queso. Los resultados mostraron que aproximadamente el 80% de las partículas de sal

producidas se encontraban entre 500 y 1900 nm, en comparación con la sal comercial que presenta tamaños promedio de partícula de 15  $\mu\text{m}$ . Las pruebas sensoriales con 476 participantes mostraron una mayor preferencia por las galletas que contenían la sal producida por el nanosecador en comparación con la sal comercial. La reducción de tamaño de las partículas de sal (aproximadamente 1,5  $\mu\text{m}$ ) aumentó el área superficial de las partículas, lo que aumentó la velocidad de disolución en la saliva incrementando la transferencia de los iones a las células gustativas, como consecuencia, la percepción de la sal incrementó en un 25%.

Hu, Gerhard [9] evaluaron las propiedades físicas de nanopulvos producidos por la deshidratación de una nanoemulsión de eugenol estabilizada con goma arábica y lecitina. El eugenol es el mayor constituyente del aceite de clavo (*Syzygium aromaticum L.*), es comúnmente usado como antimicrobiano y antioxidante en alimentos. Los nanopulvos fueron producidos empleando una temperatura de 100°C con una velocidad de flujo de aire de 100-110 L/min empleando una malla de 4.0  $\mu\text{m}$ . Las nanopartículas producidas por aspersión mostraron una superficie esférica y suave, en comparación con las obtenidas por el proceso de liofilización. El tamaño promedio obtenido varió entre 200 a 500 nm. Los autores concluyeron el tamaño y morfología en las nanopartículas producidas por aspersión, confirieron una mayor dispersabilidad, que las partículas producidas por liofilización. Las nanopartículas rehidratadas mostraron tamaños similares a las emulsiones iniciales, lo que indica que el proceso de secado por nanoaspersión no alteró la estructura de las nanoemulsiones.

Wang, Ma [10] prepararon nanopartículas de curcumina recubiertas por multicapas de caseinato de sodio y pectina. Las nanopartículas fueron tratadas con diferentes agentes entrecruzantes (glutaraldehído y 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida/N-hidroxisuccinimida (EDC/NHS) con la finalidad de evaluar el perfil de liberación controlada bajo condiciones gastrointestinales. Las nanopartículas entrecruzadas fueron deshidratadas a una temperatura de entrada 100°C con una velocidad de flujo de aire de 120 L/min en una malla de 5.5  $\mu\text{m}$ . Los autores observaron que el proceso de entrecruzamiento ayudó al proceso de nanosecado por aspersión, a través de la generación de nanopartículas de mayor homogeneidad. El tamaño de las nanopartícula fue observado por SEM variando entre 500 nm y 1 $\mu\text{m}$ . Los modelos de difusión de Higuchi y orden cero describieron con mayor certidumbre los perfiles de liberación de la curcumina. Los autores reportaron que la capacidad antioxidante de las nanopartículas de curcumina fue mayor en comparación con la curcumina sin encapsular.

Las nanopartículas obtenidas por la tecnología de nanosecado por aspersión, también ha sido aplicada en el área de la agroindustria. Nguyen Van, Dinh Minh [11] investigaron el efecto de la adición de nanopartículas de quitosano (600KDa) sobre las características biofísicas (tasa neta de fotosíntesis, transpiración de las hojas, contenido clorofila, carotenoides, absorción de nutrientes y crecimiento) de café Robusta (*Coffea canephora var Piere Robusta*). Las nanopartículas de quitosano (0,1% w/v) fueron producidas a una temperatura de entrada 80°C con una velocidad de flujo de aire de 850 L/min empleando las tres mallas de pulverización (4.0, 5.5 y 7.0  $\mu\text{m}$ ). El tamaño medio de las nanopartículas de quitosano fue de 420, 750 y 970 nm para las mallas de 4.0, 5.5 y 7.0  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Los resultados mostraron una mejora de las características biofísicas con una concentración de 10 ppm de quitosano. Los autores reportaron un efecto significativo sobre las características biofísicas en comparación con el quitosano sin tratamiento. Sin embargo, no se observó efecto significativo del tamaño de las nanopartículas de quitosano (420 a 970 nm) sobre las características biofísicas y parámetros de crecimiento de las plántulas de café.

Las aplicaciones de la tecnología aún son limitadas en el sector de alimentos, pero el uso de esta tecnología muestra un importante incremento en las aplicaciones del área farmacéutica, En los últimos años, la nanomedicina ha puesto mayor presión sobre los sistemas existentes para producir nanopartículas con alto rendimiento y una distribución de tamaño estrecha de las partículas. De esta manera, esta tecnología ofrece una nueva alternativa para la producción de nanopartículas adecuadas para una variedad de aplicaciones farmacéuticas [12], por ejemplo, nanocristales de naproxeno [13], nanocristales de antiinflamatorios esteroideos (fluorometolona y dexametasona) [14], ciclosporina A y dexametasona [15], o vehículos de suministro de fármacos para deposición pulmonar [16].

## Conclusiones

La tecnología de nanosecado por aspersión ofrece una nueva alternativa para encapsular compuestos bioactivos a tamaños nanométricos. Las aplicaciones en el área de alimentos aún son limitadas, sin embargo, el desarrollo de estudios fundamentales que permitan demostrar la eficiencia en la producción de nanopartículas, estabilidad de los nanoencapsulados, así como conocer los mecanismos y tasas de absorción y disolución de compuestos bioactivos

nanoencapsulados son puntos críticos que soportarán los futuros desarrollos en el área de los alimentos funcionales.

## Agradecimiento

El autor extiende su agradecimiento al “Fondo de Investigación Básica SEP-CONACYT” por el financiamiento de este trabajo a través del Proyecto CB-2015-01-258118.

## Referencias

1. Lee, S.H., et al., *Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **403**(1–2): p. 192-200.
2. Pérez-Masiá, R., et al., *Encapsulation of folic acid in food hydrocolloids through nanospray drying and electro spraying for nutraceutical applications*. Food Chemistry, 2015. **168**: p. 124-133.
3. Penalva, R., et al., *Casein nanoparticles as carriers for the oral delivery of folic acid*. Food Hydrocolloids, 2015. **44**: p. 399-406.
4. Li, X., et al., *Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90*. Journal of Controlled Release, 2010. **147**(2): p. 304-310.
5. Bürki, K., et al., *New insights into respirable protein powder preparation using a nano spray dryer*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **408**(1–2): p. 248-256.
6. Schill, R.O., et al., *Molecular mechanisms of tolerance in tardigrades: New perspectives for preservation and stabilization of biological material*. Biotechnology Advances, 2009. **27**(4): p. 348-352.
7. Moran, A. and G. Buckton, *Adjusting and understanding the properties and crystallisation behaviour of amorphous trehalose as a function of spray drying feed concentration*. International Journal of Pharmaceutics, 2007. **343**(1–2): p. 12-17.
8. Moncada, M., et al., *Nano spray-dried sodium chloride and its effects on the microbiological and sensory characteristics of surface-salted cheese crackers*. Journal of Dairy Science, 2015. **98**(9): p. 5946-5954.
9. Hu, Q., et al., *Antimicrobial eugenol nanoemulsion prepared by gum arabic and lecithin and evaluation of drying technologies*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **87**: p. 130-140.

10. Wang, T., et al., *Solid lipid nanoparticles coated with cross-linked polymeric double layer for oral delivery of curcumin*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2016. **148**: p. 1-11.
11. Nguyen Van, S., H. Dinh Minh, and D. Nguyen Anh, *Study on chitosan nanoparticles on biophysical characteristics and growth of Robusta coffee in green house*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2013. **2**(4): p. 289-294.
12. Heng, D., et al., *The nano spray dryer B-90*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2011. **8**(7): p. 965-972.
13. Kumar, S., et al., *Optimization and dissolution performance of spray-dried naproxen nano-crystals*. International Journal of Pharmaceutics, 2015. **486**(1–2): p. 159-166.
14. Baba, K. and K. Nishida, *Steroid Nanocrystals Prepared Using the Nano Spray Dryer B-90*. Pharmaceutics, 2013. **5**(1): p. 107-114.
15. Schafroth, N., et al., *Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012. **90**: p. 8-15.
16. Beck-Broichsitter, M., et al., *Characterization of novel spray-dried polymeric particles for controlled pulmonary drug delivery*. Journal of Controlled Release, 2012. **158**(2): p. 329-335.

# 16. CRIOGENIA COMO ESTRATEGIA DE ENCAPSULACIÓN DE NUTRACÉUTICOS.

**Rolando Guadalupe Ordaz Mendoza <sup>b</sup>**

**Alejandro Rodríguez Ávila <sup>b</sup>**

**Jorge Armando Jiménez Avalos <sup>b</sup>**

**Rogelio Rodríguez Rodríguez <sup>b</sup>**

**Oscar Miguel Bermejo Gallardo <sup>a</sup>**

**Zaira Yunuen García Carvajal <sup>a\*</sup>**

<sup>a</sup> **Biotecnología Médica y Farmacéutica, CIATEJ, A.C.**

<sup>b</sup> **Posgrado en Ciencias en Innovación Biotecnológica, CIATEJ, A.C.**

[\\*zgarcia@ciatej.mx](mailto:*zgarcia@ciatej.mx)

## **Introducción**

En los últimos años, la industria alimentaria ha sufrido cambios importantes que se han centrado en atender nuevas exigencias por parte de los consumidores, que se preocupan en mayor grado en elevar su calidad de vida. Esta necesidad ha motivado la aparición de alimentos funcionales y nutraceuticos que, además de sus propiedades nutritivas generales, tienen la capacidad demostrable de promover un efecto benéfico en una o más funciones para mantener la salud y el bienestar, además de la prevención o tratamiento de enfermedades (McClements, 2012).

Esa tendencia incluye el consumo de compuestos como vitaminas, ácidos grasos, aminoácidos, minerales, fitonutrientes, antimicrobianos, antioxidantes, enzimas e incluso microorganismos probióticos. Sin embargo, presentan la desventaja de ser más inestables y reactivos que sus homólogos sintéticos, haciéndolos incompatibles con los sistemas alimentarios

y un reto incorporarlos en alimentos, por lo que requieren ser protegidos mediante procesos que aseguren su estabilidad, biodisponibilidad y funcionalidad, lo cual ha impulsado el desarrollo de tecnologías de encapsulación (Polowsky y Janaswamy, 2015, Cosgrove, 2010).

La tecnología de encapsulación ha permitido un incremento en la comercialización de los alimentos saludables (Shell Material, 2015). En el informe de Shell Material (2015), se estima que para 2021, el mercado de la encapsulación de alimentos llegará a 41,74 millones de dólares en EE. UU, con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) de alrededor de 6,0% a partir de 2016.

La encapsulación es un proceso que consiste en atrapar agentes bioactivos u otros compuestos de interés dentro de una matriz polimérica acarreadora, siendo una herramienta útil para mejorar su administración en los alimentos. Estos sistemas de suministro están formados regularmente por uno o varios nutraceuticos y un sistema polimérico cuya función es “transportarlo” y “dosificarlo” en el sitio de liberación específica. El desafío para el fabricante de alimentos y bebidas es decidir qué sistema de entrega es el más adecuado para una aplicación particular, basándose en factores como las propiedades físico-químicas, etiquetado, requisitos legales y factores económicos (McClements, 2012).

Los materiales que se emplean comúnmente en el diseño de la matriz acarreadora deben cumplir ciertos requisitos para ser aprobados por los entes regulatorios pertinentes para su comercialización, siendo los polisacáridos, proteínas y lípidos los materiales más utilizados. Algunos de los requisitos más importantes son los siguientes: ser grado alimentario, biodegradable y capaz de formar una barrera entre la fase interna y sus alrededores. Además de esto, se deben contemplar las diversas formas que estas matrices pueden tener, el perfil de dosificación de las mismas, la naturaleza fisicoquímica de los materiales de partida para mejorar su funcionalidad y la biodisponibilidad de los nutraceuticos. (Nedovic *et al.*, 2011).

Las tecnologías de encapsulación de nutraceuticos presentan enormes desafíos, originados principalmente por la amplia variedad de nutraceuticos, y por ende por la complejidad de propiedades fisicoquímicas que presentan. Debido a lo anterior, una técnica de procesamiento

para su encapsulación tiene que cumplir con numerosos requisitos, tales como: alta eficacia y estabilidad de encapsulación (Liu *et al.*, 2017).

Una tecnología ampliamente utilizada por la industria alimentaria para la encapsulación de nutraceuticos, es el empleo de hidrogeles. Los hidrogeles son materiales blandos que contienen una estructura tridimensional, altamente reticulada y porosa, en los que se puede regular el grado de gelificación (transición sólido-gel, sol-gel), lo que los hace ser una estrategia razonable para diseñar sistemas con cinéticas de liberación de nutraceuticos controladas (Nakagawa and Nishimoto, 2011). La inducción de la gelificación se logra mediante la inducción del hidrogel a temperaturas sub-cero, en un proceso conocido como gelificación criotrópica (criogelación, congelación-gelación), lo cual ocasiona un aumento de concentración de soluto causado por la eliminación de agua del sistema (deshidratación) debido a la formación de cristales hielo. Estos tipos de procesos representan una ruta de transición sol-gel de gran utilidad en procesos industriales, ya que cumple con las necesidades de la industria alimentaria para preparar una matriz de hidrogel funcional y a la vez diseñar sistemas de liberación controlada (Nakagawa y Nishimoto, 2011).

### **Proceso criogénico y liofilización**

Los procesos criogénicos son ampliamente utilizados en la preparación de hidrogeles porosos y biocompatibles. Un proceso criogénico consiste en el procesamiento a ultra baja temperatura y posterior descongelado (por fusión o liofilización) de materiales o precursores con la finalidad de mejorar sus propiedades estructurales. La formación de hielo cristalino (típicamente hielo hexagonal), provoca que cada soluto originalmente dispersado en el medio acuoso sea exudado hacia las fronteras entre los cristales de hielo adyacentes (Kalia y Fu, 2013) (Fig. 1), para que, posteriormente sea “secado” por un proceso de liofilización. Estos hidrogeles adquieren una macroporosidad que corresponde a las zonas vacías en las que originalmente residían los cristales de hielo (Gutiérrez *et al.*, 2007).

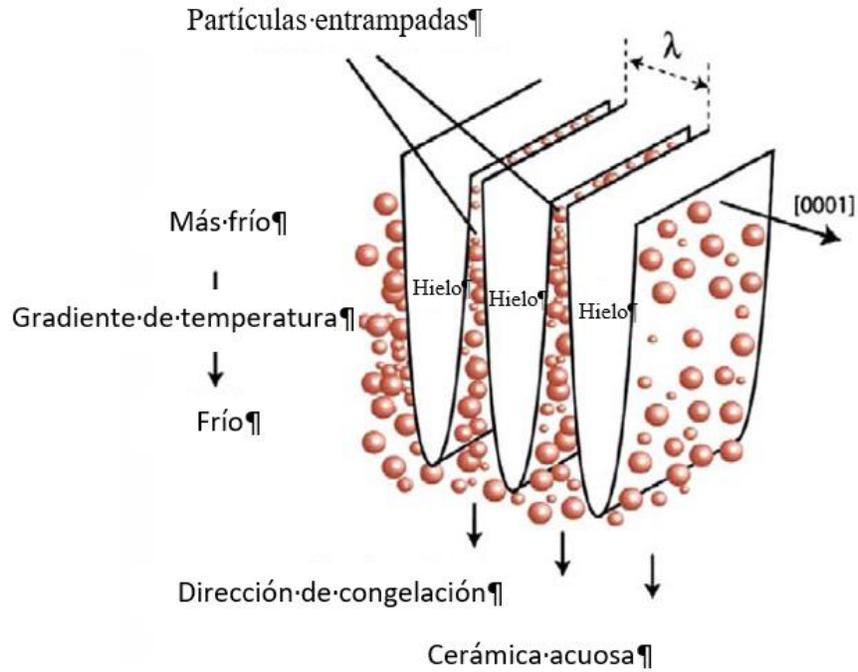


Fig. 1 Patrón de formación y segregación de partículas, durante el congelado de material cerámico (Deville *et al.*, 2007, Gutiérrez *et al.*, 2008)

El proceso criogénico utiliza temperaturas alrededor de los  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , las cuales son alcanzadas fácilmente mediante la utilización de controles de temperatura, cámaras aisladas y nitrógeno líquido (Fig. 2).

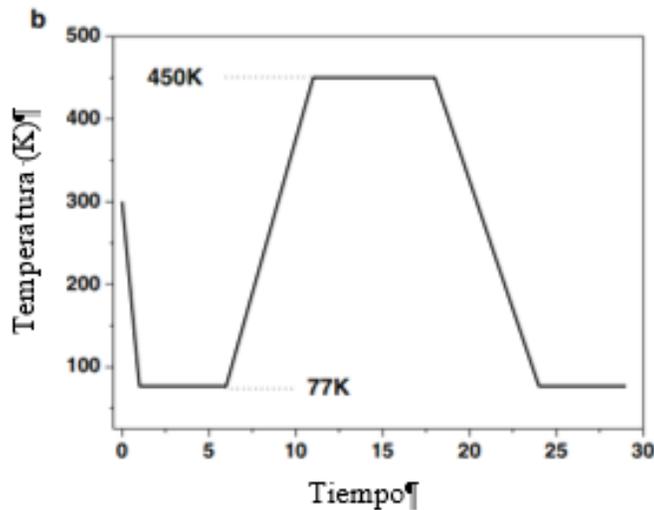


Fig. 2 Curva tiempo-temperatura con velocidad de enfriamiento y calentamiento controlado.

Esta tecnología comprende los siguientes pasos básicos (Kalia y Fu, 2013):

- Rampa hacia abajo: involucra un enfriamiento lento del material, partiendo de la temperatura ambiental hasta alcanzar  $-196^{\circ}\text{C}$ , con un tiempo de descenso de temperatura entre 4-10 h.
- Retención: el material es sometido a temperaturas sostenidas de  $-196^{\circ}\text{C}$  por 20-30 h, dependiendo del volumen del material. En este paso del tratamiento, se realizan los cambios microestructurales del material de interés.
- Rampa hacia arriba: por último, la temperatura del material regresa a la temperatura ambiente, con rampas que van de las 10 a 20 h.

Si tras el proceso de congelado tiene lugar un proceso de liofilización (sublimación de hielo a baja presión), se obtiene como resultado un criogel (palabra que proviene del vocablo griego, κρυος (kryos) y que significa “escarcha” o “hielo”). Los criogeles son estructuras macroporosas caracterizadas por “paredes” de materia rodeando áreas vacías donde originalmente residían los cristales de hielo. El proceso de liofilización permite la preparación de soportes monolíticos, andamios (scaffolds), que mantienen el tamaño y la forma del recipiente que los contenía durante el proceso de congelado (Fig. 3) (An, 2000).



*Fig. 3 Criogel biopolimérico.*

En el proceso de liofilización, el producto o material se congela por debajo de su punto eutéctico (la temperatura más baja a la cual se puede fundir un sólido), para posteriormente eliminar el agua, utilizando alto vacío y temperaturas por debajo de su punto de congelación, manteniendo la calidad y características del producto como textura, color, aroma, sabor y

estabilidad de moléculas como vitaminas, proteínas etc., haciéndolo incomparable a cualquier otro proceso de secado (Technology, 2017). En este proceso no ocurre la evaporación del agua a partir de un estado líquido, sino un cambio de estado sólido a gas, en un proceso de “sublimación” (Fig. 4), que consiste en tener un punto en el que los tres estados de la materia (sólido, líquido y gas) puedan coexistir en equilibrio, por lo cual esta técnica implica obligatoriamente la congelación del material (Technology, 2012). El proceso de congelación es muy importante, ya que puede llegar a interferir directamente en la apariencia final del producto. Enfriar de manera lenta, conlleva a la formación de cristales de hielo de gran tamaño, formando estructuras abiertas al final de proceso, mientras que enfriar de manera rápida formaría cristales de tamaños pequeños, los cuales pueden dificultar el paso del vapor de agua sublimado. Durante la fase de sublimación del material, existen tres parámetros, los cuales permiten modificar la curva típica del proceso: la presión, temperatura y el tiempo, los cuales están íntimamente relacionados en la obtención de una correcta liofilización (Technology, 2017). Al finalizar el proceso, la temperatura y el vacío producido por la presión jugarán un papel muy importante en la eliminación del vapor de agua no congelada ligada al producto, dejando un material totalmente libre de agua manteniendo su estructura molecular.

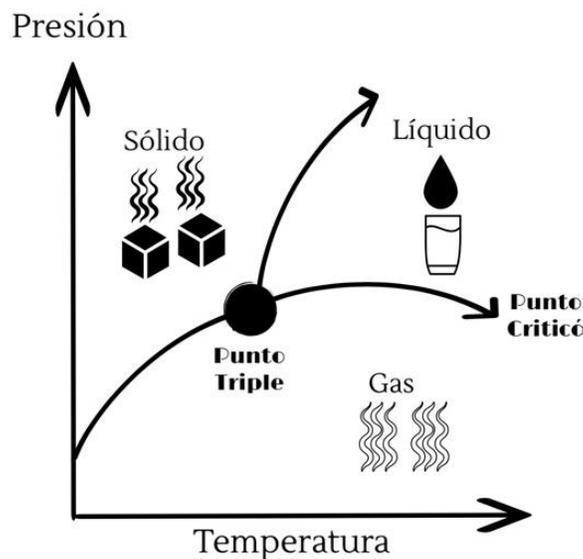


Fig. 4 Diagrama de fases del agua, punto triple.

El proceso de liofilización generalmente es utilizado en aplicaciones en las que se requiere la conservación de los compuestos bioactivos. Suele utilizarse en la elaboración de productos

alimenticios con alto valor agregado como té, café de alta calidad, alimentos para uso militar, alimentos deshidratados, y en la industria nutraceutica y farmaceutica en procesos de conservación y elaboración de sueros, vacunas, ingredientes activos biológicos, entes para el diagnóstico, entre otras. A pesar de ser la liofilización una técnica bastante costosa en comparación con otros procesos, da como resultado productos de mayor calidad para todas sus aplicaciones (Ciencias, 2017). Existen grandes ventajas para encapsular ingredientes alimentarios mediante esta técnica: 1) posibilidad de encapsular materiales sensibles al calor; 2) capacidad de desarrollar formulaciones de sistemas de suministro empleando materiales poliméricos, tanto de origen natural como sintéticos, mediante el proceso criogénico seguido de una liofilización; de tal forma que constituyen uno de los aspectos claves de diseño (Fang, 2012).

### **¿Por qué encapsular nutraceuticos mediante criogenia y para qué sería aplicado?**

Los nutraceuticos promueven grandes beneficios a la salud, principalmente en la prevención y tratamiento de enfermedades como diabetes, obesidad, problemas cardiovasculares y cáncer. Su incorporación en suplementos alimenticios y alimentos funcionales conlleva un gran reto tecnológico debido a la escasa o nula solubilidad, a su inestabilidad durante el proceso de producción y a las complejas condiciones de almacenamiento. Por lo que el empleo de agentes que actúen como vehículos, representan una alternativa para superar eficazmente estos problemas, protegiéndolos desde su producción hasta su liberación en el organismo (Liu *et al.*, 2017, Cosgrove, 2010).

Un sistema de encapsulación puede proporcionar un medio para optimizar el alcance y velocidad de absorción del compuesto en el cuerpo. Los sistemas de suministro también pueden tener considerables beneficios protegiendo nutrientes esenciales y otros componentes bioactivos durante la fase de digestión, procesamiento y absorción de los alimentos, por ejemplo, evitando la pérdida del componente y evadir interacciones adversas que inhiban la absorción. Sin embargo, la absorción óptima no debe confundirse con el máximo de absorción, como ocurre tan a menudo en el campo de la biodisponibilidad, si no que se refiere a qué tanta cantidad es idónea absorber. Diferentes tasas de entrega de la misma carga (nutraceuticos) pueden tener un profundo impacto en salud, por ejemplo, se ha demostrado que los alimentos con carbohidratos

encapsulados de lenta liberación proporcionan efectos benéficos para la salud. Asimismo, la lenta entrega de otros componentes del alimento puede maximizar beneficios para la salud, al no sobrecargar los sistemas de transporte, o causar concentraciones indeseables en plasma y tejido (Faulks y Southon, 2008). El óptimo desarrollo de sistemas de encapsulación, es de gran ayuda para las distintas empresas que hoy en día compiten arduamente para obtener el liderazgo en tecnología e innovación, además de aportar grandes beneficios para la salud de los consumidores. Debido a las grandes ventajas que presentan los nutraceuticos, la investigación se centra en las técnicas de encapsulación y en controlar la liberación de sus componentes, ya que el efecto del nutraceutico está directamente relacionado con las cantidades se liberen del sistema de encapsulación (Tavano *et al.*, 2014).

Existen una serie de razones por las cuales emplear una tecnología de encapsulación criogénica resulta ventajoso:

- 1) Proporciona barreras entre los materiales bioactivos y el medio ambiente.
- 2) Permite estabilizar ingredientes en alimentos, lo que facilita la conservación y diferenciación de sabores y aromas, además de que aumenta su biodisponibilidad.
- 3) Mejora la estabilidad en los productos finales y durante el procesamiento.
- 4) Menor evaporación y degradación de sustancias activas volátiles (aromas).
- 5) Enmascara sabores y olores desagradables.
- 6) Evitar la reacción con otros componentes en productos alimenticios, tales como oxígeno y/o agua.
- 7) Permite inmovilizar células o enzimas en aplicaciones de procesamiento de alimentos, tales como procesos de fermentación y producción de metabolitos.

Diferentes técnicas han sido empleadas para la encapsulación de nutraceuticos, las cuales incluyen coacervación (Habibi *et al.*, 2016), secado por atomización (Bustamante *et al.*, 2017), enfriamiento por atomización (Pedroso *et al.*, 2012), extrusión (de Barros *et al.*, 2015), fluidización en lecho, criogenia y liofilización. El empleo de estas técnicas dependerá de la naturaleza química de la molécula o sustancia a encapsular, el tamaño de partícula requerido, aplicación, mecanismo de liberación requerido, así como el costo del proceso.

A continuación se presenta el estado del arte de compuestos bioactivos encapsulados por el proceso de criogenia y liofilización.

Tabla 1: Estado del arte de nutraceuticos encapsulados por criogenia y liofilización

Autores	Activo	Proceso de Secado	Observaciones
Wang <i>et al.</i> (2017)	Lactoferrina	Liofilización	Alta eficiencia del proceso de liofilización para encapsular proteínas, sin modificar sus características esenciales (peso molecular, cristalinidad y configuración molecular).
Her <i>et al.</i> (2015)	<i>Lactobacillus casei</i>	Liofilización	Alta tasa de supervivencia de probióticos encapsulados mediante liofilización.
Lazaridou <i>et al.</i> (2015)	Proteína	Criogel	Criogeles con gran capacidad para ser portadores de bioactivos y alta capacidad de liberación.
Soares <i>et al.</i> (2013)	Insulina	Liofilización	Mejora en la estabilidad de insulina encapsulada en nanopartículas lipídicas sólidas por liofilización.
Ezhilarasi <i>et al.</i> (2013)	Garcinina	Liofilización	Protección del compuesto activo, evitando el contacto con su medio externo y posibles modificaciones no deseadas.
Antal <i>et al.</i> (2014)	Aceites esenciales de toronjil	Liofilización	Mejora en la retención de compuestos volátiles en hojas liofilizadas a altas presiones.
Chranioti <i>et al.</i> (2013)	Aceite esencial de hinojo	Liofilización	Los agentes de encapsulación, influyen la composición y contenido de compuestos volátiles.
Eggerstedt <i>et al.</i> (2012)	Lisozima	Liofilización por chorro	Alta eficiencia para encapsular proteínas en partículas esféricas y porosas con alta estabilidad.
<b>Patentes</b>			
Inventores	Activo Encapsulado	Proceso de Secado	Conclusión
Gehrmann <i>et al.</i> (2012)	Productos biofarmacéuticos	Liofilización	Mejora en la estabilidad del activo encapsulado, mayor control de la cantidad encapsulada e incremento de la esterilidad.
Zhang (2016)	Bioactivo con efecto antienviejamiento	Nano liofilización	Se mantuvieron las propiedades bioactivas de los compuestos encapsulados por un largo período.

## Conclusiones y perspectivas

Actualmente existe una gran cantidad de estrategias de encapsulación disponibles que permiten la encapsulación de nutraceuticos. La criogenia es una herramienta potente y competitiva en este sector, que permite a los fabricantes añadir valor a sus productos a través de características innovadoras tales como una mejor entrega de nutrientes y mejora de las características sensoriales. Además, favorecerá la preservación y protección de compuestos susceptibles a procesos de degradación o pérdida de la estabilidad química en el ambiente ocasionado por luz, oxígeno, humedad y temperaturas altas. El informe de Mercado Shell, destacó específicamente que las tecnologías híbridas son las que tienen más potencial para agregar valor al mercado al "expandir las áreas de aplicación tradicionales y crear nuevas posibilidades de aplicación". A medida que se presentan nuevas oportunidades de formulación, también lo hacen las oportunidades de avanzar en la encapsulación, especialmente en lo que se refiere a alejarse del enmascaramiento del gusto convencional, el enmascaramiento del color, la oxidación y la estabilización del sabor hacia la fortificación de alimentos y su uso como sistema de inmovilización del biocatalizador, por lo que la encapsulación por criogenia presenta grandes áreas de oportunidad en este sector así como nuevos desafíos.

## Agradecimiento

Los autores extienden su agradecimiento al "Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social, SSA/IMSS/ISSSTE-CONACYT" por el financiamiento de este trabajo a través del Proyecto 234073.

## Referencias

- An, Y. H. 2000. Mechanical Properties of Bone. *In*: AN, Y. H., DRAUGHN, R A (ed.) *Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface*. . CRC Press, Boca Raton.
- Antal, T., Chong, C. H., Law, C. L., Sikolya, L. 2014. Effects of freeze drying on retention of essential oils, changes in glandular trichomes of lemon balm leaves. *International Food Research Journal*, 21, 387-394.
- Bustamante, M., Oomah, B. D., Rubilar, M., Shene, C. 2017. Effective *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium infantis* encapsulation with chia seed (*Salvia hispanica* L.) and flaxseed

(*Linum usitatissimum* L.) mucilage and soluble protein by spray drying. *Food Chemistry*, 216, 97-105.

Ciencias, F. D. 2017. *Secado por Liofilización* [Online]. Available:

<http://fciencias.ugr.es/practicasdcentes/secado-por-lioofilizacion> [Accessed].

Cosgrove, J. 2010. *Encapsulation Trends* [Online].

[http://www.nutraceuticalsworld.com/contents/view\\_online-exclusives/2010-09-16/encapsulation-trends](http://www.nutraceuticalsworld.com/contents/view_online-exclusives/2010-09-16/encapsulation-trends). [Accessed Febrero 2017].

De Barros, J. M. S., Lechner, T., Charalampopoulos, D., Khutoryanskiy, V. V., Edwards, A. D. 2015. Enteric coated spheres produced by extrusion/spheronization provide effective gastric protection and efficient release of live therapeutic bacteria. *International Journal of Pharmaceutics*, 493, 483-494.

Deville, S., Saiz, E., Tomsia, A. P. 2007. Ice-templated porous alumina structures. *Acta Materialia*, 55, 1965-1974.

Eggerstedt, S. N., Dietzel, M., Sommerfeld, M., Süverkrüp, R., Lamprecht, A. 2012. Protein spheres prepared by drop jet freeze drying. *International Journal of Pharmaceutics*, 438, 160-166.

Ezhilarasi, P. N., Indrani, D., Jena, B. S., Anandharamakrishnan, C. 2013. Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. *Journal of Food Engineering*, 117, 513-520.

Fang, Z. 2012. Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In: Garti, N., McClements, D. J. (eds.) *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*. Woodhead Publishing.

Faulks, R. M., Southon, S. 2008. Assessing the bioavailability of nutraceuticals. In: Garti, N. (ed.) *Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals* Woodhead Publishing.

Gehrmann, D., Firus, A., Daun, T., Mueller, H., Wang, D. 2012. *Sterile Freezing, Drying, Storing, Assaying And Filling Process (sfd-saf Process) (pellet Freeze-drying Process For Parenteral Biopharmaceuticals)*. 05769919.1.

- Gutiérrez, M. C., Ferrer, M. L., Del Monte, F. 2008. Ice-Templated Materials: Sophisticated Structures Exhibiting Enhanced Functionalities Obtained after Unidirectional Freezing and Ice-Segregation-Induced Self-Assembly. *Chemistry of Materials*, 20, 634–648.
- Gutiérrez, M. C., García-Carvajal, Z. Y., Jobbágy, M., Rubio, F., Yuste, L., Rojo, F., Ferrer, M. L., Del Monte, F. 2007. Poly(vinyl alcohol) Scaffolds with Tailored Morphologies for Drug Delivery and Controlled Release. *Advanced Functional Materials*, 17, 3505-3513.
- Habibi, A., Keramat, J., Hojjatoleslami, M., Tamjidi, F. 2016. Preparation of Fish Oil Microcapsules by Complex Coacervation of Gelatin-Gum Arabic and their Utilization for Fortification of Pomegranate Juice. *Journal of Food Process Engineering*, n/a-n/a.
- Her, J.-Y., Kim, M. S., Lee, K.-G. 2015. Preparation of probiotic powder by the spray freeze-drying method. *Journal of Food Engineering*, 150, 70-74.
- Kalia, S., Fu, S.-Y. 2013. Cryogenic Processing: State of the Art, Advantages and Applications. 1-7.
- Lazaridou, A., Kritikopoulou, K., Biliaderis, C. G. 2015. Barley  $\beta$ -glucan cryogels as encapsulation carriers of proteins: Impact of molecular size on thermo-mechanical and release properties. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6, 99-108.
- Liu, F., Ma, C., Gao, Y., McClements, D. J. 2017. Food-Grade Covalent Complexes and Their Application as Nutraceutical Delivery Systems: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 76-95.
- McClements, D. J. 2012. Requirements for food ingredient and nutraceutical delivery systems. In: Garti, N., McClements, D. J. (eds.) *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*. Woodhead Publishing.
- Nakagawa, K., Nishimoto, N. 2011. Cryotropic Gel Formation for Food Nutrients Encapsulation - a Controllable Processing of Hydrogel By Freezing. *Procedia Food Science*, 1, 1968-1972.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815.
- Pedroso, D. D. L., Thomazini, M., Heinemann, R. J. B., Favaro-Trindade, C. S. 2012. Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. *International Dairy Journal*, 26, 127-132.
- Polowsky, P. J. & Janaswamy, S. 2015. Hydrocolloid-based nutraceutical delivery systems: Effect of counter-ions on the encapsulation and release. *Food Hydrocolloids*, 43, 658-663.

- Shell Material. 2015. *Food Encapsulation Market* [Online]. [Accessed Febrero 2017].
- Soares, S., Fonte, P., Costa, A., Andrade, J., Seabra, V., Ferreira, D., Reis, S. & Sarmento, B. 2013. Effect of freeze-drying, cryoprotectants and storage conditions on the stability of secondary structure of insulin-loaded solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 456, 370-381.
- Tavano, L., Muzzalupo, R., Picci, N. & De Cindio, B. 2014. Co-encapsulation of antioxidants into niosomal carriers: Gastrointestinal release studies for nutraceutical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 82-88.
- Technology, F. D. 2017. *Liofilización* [Online]. Available: <http://www.freezedryingtech.com/es/etapas-del-proceso-de-lioofilizaci%C3%B3n.aspx> [Accessed].
- Technology, M. 2012. Freeze Drying Basic. *In: TECHNOLOGY, M. (ed.)*.
- Wang, B., Timilsena, Y. P., Blanch, E. & Adhikari, B. 2017. Characteristics of bovine lactoferrin powders produced through spray and freeze drying processes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 985-994.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

# 17. LOS PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA: GENERALIDADES, ACTIVIDADES Y USO DE LA NANOENCAPSULACIÓN PARA AUMENTAR SU BIODISPONIBILIDAD

**Figueroa-Hernández Claudia<sup>1</sup>**

**Fabela-Morón Miriam Fabiola<sup>1</sup>**

**Alonso-Villegas Rodrigo<sup>1</sup>**

**Rodríguez-Buenfil, Ingrid<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> **Catedrático(a) CONACYT- CIATEJ. Unidad Sureste.**

<sup>2</sup> **CIATEJ. Unidad Sureste**

## **Introducción**

En los últimos años, se ha puesto de manifiesto, la estrecha relación que existe entre la ingesta de algunos alimentos con el aumento y/o disminución de ciertas enfermedades. Es por ello, que existe un gran interés por los llamados “alimentos funcionales” entre los consumidores, el sector académico e industrial. <sup>1</sup> Un alimento funcional puede ser definido como un “alimento que tiene características similares a un alimento tradicional pero que aporta beneficios fisiológicos demostrados”. De acuerdo a su definición, estos alimentos pueden proveer beneficios en la salud cuando son consumidos como parte de la dieta normal, debido a que disminuyen el riesgo de padecer enfermedades crónicas y aportar los nutrimentos necesarios para la dieta diaria. Los alimentos tradicionales que contienen compuestos bioactivos de forma natural (fibra dietética, proteínas y péptidos con actividad biológica), alimentos suplementados con sustancias bioactivas (probióticos, antioxidantes, etc.) y alimentos adicionados con compuestos

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

bioactivos provenientes de otros alimentos (prebióticos, péptidos bioactivos, etc.) son considerados alimentos funcionales.<sup>2</sup> Actualmente se sabe que algunas de las proteínas alimentarias y los péptidos derivados de éstas, son capaces de producir efectos fisiológicos benéficos y por lo tanto, pueden tener un impacto en la salud y reducir el riesgo de enfermedades crónicas por ejemplo, diabetes, algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Es por ello que existe una creciente tendencia para la comercialización y desarrollo de alimentos funcionales con este tipo de compuestos, que pueden generar beneficios potenciales en la salud, cuando son consumidos. En los mercados de Estados Unidos, Japón y Europa, ya están a la venta algunos alimentos funcionales y nutracéuticos con péptidos y proteínas bioactivas.<sup>1,3,4</sup>

Las proteínas son componentes esenciales de los tejidos biológicos y están implicados en una gran cantidad de procesos fisiológicos celulares. Las proteínas alimentarias son uno de los macronutrientes más importantes ya que sirven como fuente de energía y aminoácidos. Sin embargo, las proteínas también son responsables de varias propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los alimentos e incluso algunas también pueden actuar y favorecer actividades biológicas que promueven la salud al ser consumidas. Muchas de estas actividades fisiológicas (o bioactividades) se atribuyen a ciertas secuencias peptídicas bioactivas que se encuentran encriptadas dentro de las proteínas precursoras. No obstante, existen proteínas que presentan bioactividades en estado nativo como las proteínas del suero y la soya.

Por otra parte, la palabra “péptido”, que proviene de la raíz griega “πεπτιδια, y que significa pequeños digeridos; son compuestos que están formados de cadenas cortas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos. Asimismo, una o más cadenas de polipéptidos constituyen una molécula de proteína. Estos compuestos pueden ser liberados de su secuencia proteica por medio de enzimas digestivas durante el proceso de la digestión o por la acción de enzimas proteolíticas de bacterias ácido lácticas u otras fuentes. La gran mayoría de los péptidos bioactivos están formados de 3 a 20 aminoácidos.<sup>5</sup>

A partir de los péptidos bioactivos se han logrado obtener una gran cantidad de proteínas alimentarias de origen animal y vegetal,<sup>6</sup> como la leche de vaca<sup>7-9</sup>, humana,<sup>10, 11</sup>, varios tipos de pescados y carnes,<sup>12,13</sup>, huevo,<sup>14</sup>, soya,<sup>15,16</sup> arroz<sup>17-19</sup>, girasol<sup>20</sup> amaranto<sup>21</sup> y otros cereales y leguminosas.<sup>22,23</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

Las actividades biológicas o bioactividades que han sido encontradas en diferentes péptidos provenientes de proteínas alimentarias son las siguientes: antihipertensiva, antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, fijadora de minerales, inmunomoduladora, actividad opioide, antitrombótica, antigluceante, y anticolesterémica.<sup>24,25</sup> La actividad de los péptidos depende de la composición de aminoácidos y su secuencia.<sup>5</sup> En la actualidad, existe una base de datos llamada BIOPEP, que contiene la secuencia de proteínas y péptidos que presentan alguna actividad fisiológica debidamente documentada. Este sitio tiene registrada la secuencia de 707 proteínas y 3231 péptidos con actividad biológica.<sup>26</sup>

## Generalidades

En 1950, Mellander acuñó el término de “péptidos bioactivos” por primera vez. Él sugirió que algunos péptidos fosforilados derivados de la caseína podían aumentar la calcificación de los huesos (un proceso independiente de la vitamina D) en niños con raquitismo<sup>27,28</sup>. A fines de los años 70, se lograron aislar péptidos derivados de proteínas alimentarias que presentaban actividades similares, a la endorfina y la encefalina.<sup>29</sup> A raíz de estos hechos se han logrado aislar una gran cantidad de péptidos bioactivos de diversas fuentes proteicas (como leche, huevo, amaranto y soya), siendo la caseína la mejor proteína para la producción de secuencias peptídicas con actividad biológica.<sup>27,30</sup> Los péptidos bioactivos son definidos, como secuencias de aminoácidos inactivos dentro de la proteína precursora, pero que tienen determinadas actividades biológicas tras su liberación mediante hidrólisis enzimática o química. Varios autores han estudiado que algunas secuencias peptídicas pueden tener múltiples bioactividades.<sup>28,31,32</sup> Por ejemplo, el fragmento 60-70 de la  $\beta$ -caseína ( $\beta$ -CN) presenta actividad opiácea, antihipertensiva (inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina o ACE) e inmunoestimuladora. Esto puede deberse a que existen algunas regiones en la estructura de las caseínas, que contienen secuencias peptídicas, y ejercen diferentes efectos biológicos, a estas regiones se les llama “zonas estratégicas”, porque están protegidas por el rompimiento proteolítico<sup>31</sup> ya que contienen una gran cantidad de residuos de prolina y presentan una secuencia altamente hidrofóbica.<sup>33</sup> Los péptidos poseen un gran potencial como ingredientes para la formulación de alimentos funcionales, a pesar de que se administran en dosis bajas debido a que favorecen efectos fisiológicos en el organismo. La gran mayoría de las proteínas y péptidos bioactivos que han sido

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

estudiados provienen de la leche, queso y otros productos lácteos; sin embargo, recientemente se han realizado investigaciones para la búsqueda de proteínas y péptidos bioactivos derivados de otras fuentes alimentarias.<sup>14,20,22,23</sup> Algunas de las fuentes proteicas alternativas que han sido estudiadas para la generación de péptidos bioactivos son varios tipos de pescado y carne, huevo, leguminosas y diversos cereales.<sup>1</sup>

## Bioactividades

Los péptidos bioactivos pueden ser clasificados de acuerdo a su actividad específica en el organismo: i) péptidos antimicrobianos, ii) péptidos antitrombóticos, iii) péptidos inmunomoduladores, iv) péptidos fijadores de minerales, v) péptidos opioides, vi) péptidos antihipertensivos (inhibidores de la ECA), vii) péptidos antioxidantes, viii) péptidos anticancerígenos, ix) péptidos antigluceimantes y x) péptidos anticolesterémicos.<sup>34,35</sup> En la Figura 1 se muestran las bioactividades reportadas para los péptidos derivados de las proteínas alimentarias.

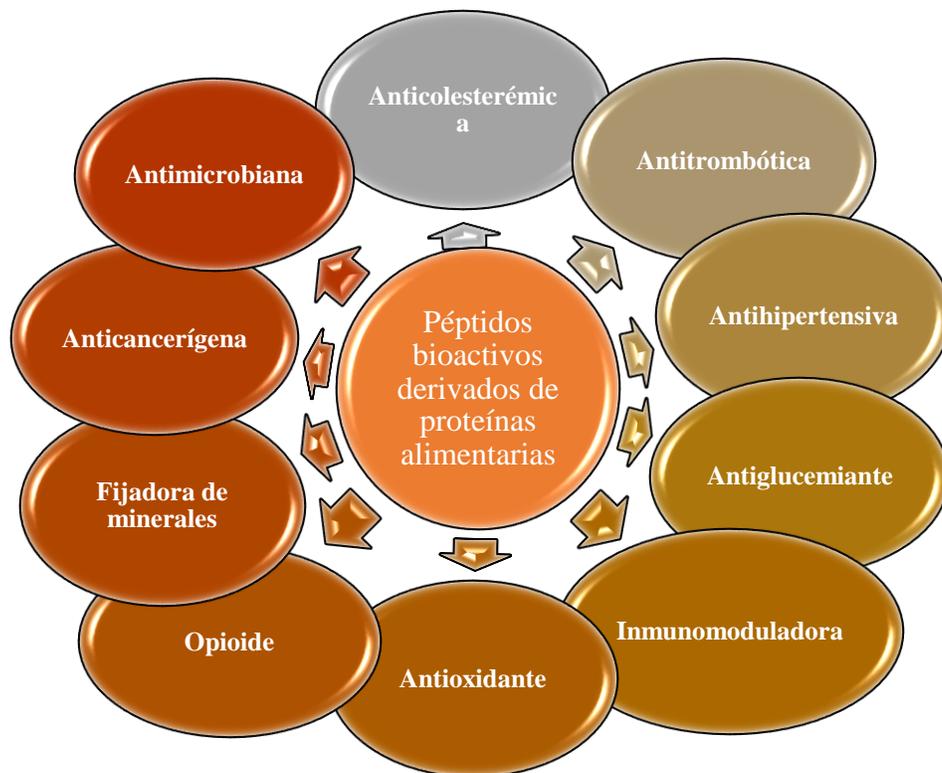


Fig 1. Principales bioactividades de péptidos derivados de las proteínas alimentarias.<sup>33,35,36</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

Las bioactividades más estudiadas son la actividad antihipertensiva (inhibidora de la ECA), antioxidante, inmunomoduladora, y la fijadora de minerales (principalmente calcio y hierro).<sup>36</sup> A continuación se describen brevemente algunas de las actividades biológicas que tienen los péptidos bioactivos.

a) **Actividad inmunomoduladora**

Se ha observado que la leche de los mamíferos, la soya y el arroz contienen una gran cantidad de péptidos con una alta actividad inmunomoduladora, los cuales pueden regular las funciones del sistema inmune, ya sea suprimiendo y/o estimulando los mecanismos de respuesta del sistema inmune.<sup>35,37</sup> Los péptidos inmunomoduladores aumentan la proliferación y la maduración de las células del sistema inmune, estimulan la actividad de las células *Natural Killer* (NK) y la fagocitosis de los macrófagos. También regulan la síntesis de anticuerpos y citoquinas e inactivan a los compuestos inflamatorios. Algunos péptidos presentan un efecto inhibitor sobre la proliferación de los linfocitos, los cuales son utilizados para reducir la hipersensibilidad y las reacciones alérgicas.<sup>35</sup>

b) **Actividad fijadora de minerales**

Los péptidos fijadores de minerales (llamados caseinofosfopéptidos si provienen de la leche) tienen la capacidad de formar complejos solubles con el fosfato de calcio *in vitro*, lo que da como resultado un aumento en la absorción de calcio, y limita la precipitación de este mineral en el íleon distal.<sup>38</sup> En los últimos veinte años se han realizado diversas investigaciones en este tipo de péptidos, los cuales pueden funcionar como acarreadores de diversos minerales ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ). La densidad alta de cargas negativas en los caseinofosfopéptidos (CPP) confiere resistencia a una proteólisis posterior. Además, se ha observado que las cadenas laterales con carga negativa, en particular, las que contienen los grupos fosfatos, son las responsables de la unión de los minerales.<sup>38</sup> Adicionalmente se ha reportado que los caseinofosfopéptidos, además de fijar macroelementos como el calcio, el magnesio y el hierro tienen la capacidad de fijar oligoelementos como el zinc, el bario, el cromo, el níquel, el cobalto y el selenio.<sup>39</sup> En estudios realizados en animales y humanos se ha detectado la presencia de caseinofosfopéptidos después de la ingestión de leche o productos lácteos fermentados que contienen caseína, mostrando que estos péptidos pueden ser encontrados de forma natural y que

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. cierta cantidad puede llegar hasta el íleon.<sup>29,40</sup> Recientemente, estos péptidos son utilizados en ciertas marcas de pastas dentales, enjuagues bucales y material dental de relleno, porque ayudan a la prevención de enfermedades en los dientes.<sup>41</sup>

c) **Actividad opioide**

Los péptidos opioides derivados de las proteínas alimentarias interactúan con los receptores opioides ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ), que se localizan en el sistema nervioso, inmune, endocrino y el tracto intestinal.<sup>38</sup> La mayoría de ellos actúan activando los receptores  $\mu$ , los cuales están relacionados con la motilidad intestinal y pueden ser empleados para el tratamiento de la diarrea.<sup>42</sup> Los péptidos opioides derivados de la leche son considerados péptidos opioides atípicos debido a que en su estructura presentan al menos dos residuos de Tyr;<sup>43</sup> sin embargo, comparten la característica estructural común de los péptidos opioides endógenos y exógenos, que es la presencia de Tyr en el extremo amino. Este aminoácido es esencial para la unión con los receptores opioides, debido a la carga localizada en el grupo fenólico de la Tyr. La ausencia de este aminoácido provoca la pérdida de la actividad del péptido. Se ha visto que la presencia de otro aminoácido aromático (Phe, Tyr) en la tercera o cuarta posición, puede favorecer la fijación del péptido al receptor.<sup>35,38,43,44</sup> Este tipo de bioactividad se ha encontrado en péptidos derivados de la leche, soya y trigo.<sup>24,35</sup>

d) **Actividad antihipertensiva**

Los péptidos antihipertensivos generalmente ejercen su bioactividad por la inhibición de la enzima convertidora de Angiotensina (ACE o ECA). La enzima convertidora de angiotensina (EC 3.4.15.1), es una carboxipeptidasa que se encuentra localizada en la superficie de las células vasculares endoteliales del cerebro, corazón, pulmones, hígado, intestino, páncreas, músculo esquelético y placenta.<sup>38</sup> La ECA actúa en el sistema renina-angiotensina (RAS), como se muestra en la Figura 2, hidrolizando la angiotensina I (Asp-Asn-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu), un decapeptido inactivo para formar angiotensina II y el dipéptido terminal Hys-Leu. La angiotensina II es un compuesto de elevada potencia vasoconstrictora, que provoca el aumento de la presión arterial, además que estimula la secreción de aldosterona, que induce la retención de sodio y agua y la excreción de potasio. La acumulación de agua provoca el incremento del volumen extracelular con el consecuente aumento en la presión arterial.<sup>39</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

De forma simultánea, la ECA actúa en el sistema quinina-caliceína, catalizando la degradación de las bradiquininas, que son potentes vasodilatadores, por lo que su degradación también favorece al incremento de la presión arterial.<sup>24</sup>

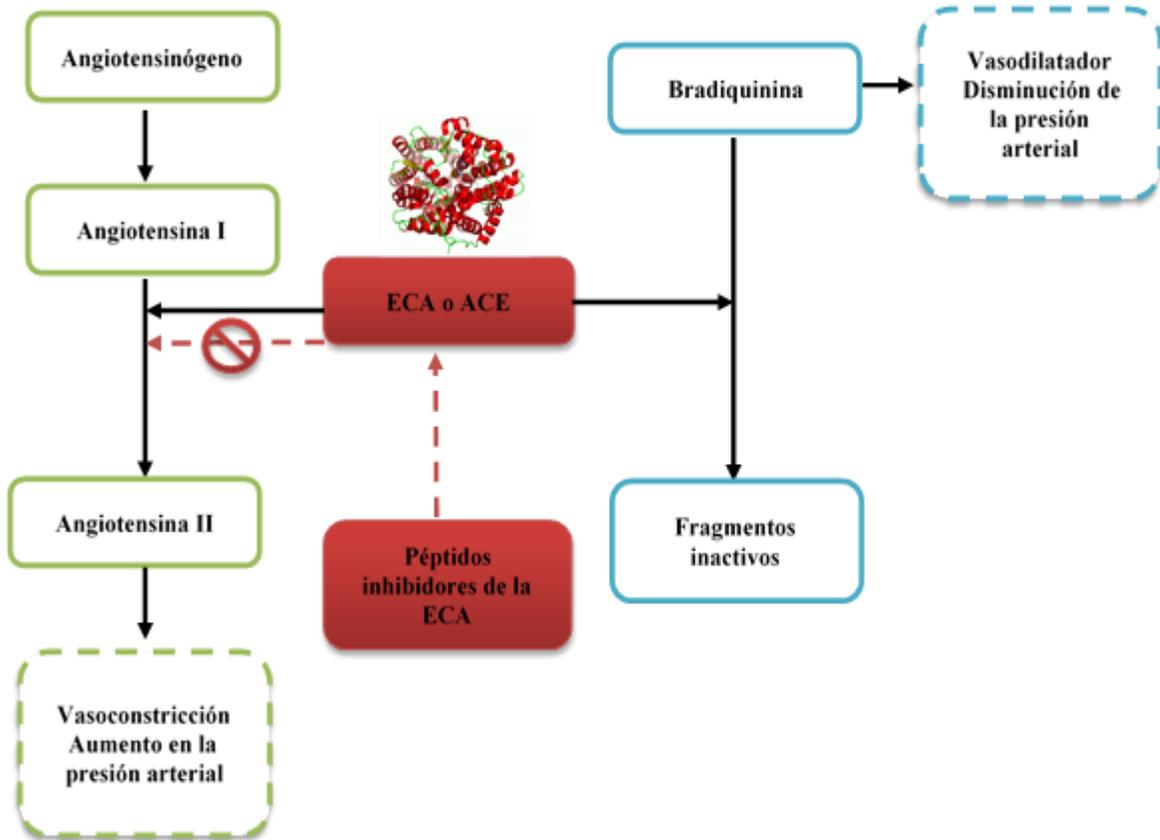


Fig 2. Función de la ACE en el sistema renina-angiotensina (Adaptado de Udenigwe y Aluko <sup>24</sup>)

La inhibición de la ECA provoca un descenso en la presión arterial. Los primeros péptidos inhibidores de la ACE de origen exógeno fueron aislados del veneno de la serpiente *Bothrops jaraca*, los cuales tenían un efecto doble; por una parte, aumentan la actividad de la bradiquinina y por otra inhiben a la ECA.<sup>24</sup> Actualmente, el fármaco más empleado para el control de la hipertensión es el captopril, que presenta un valor de IC<sub>50</sub> (cantidad mínima necesaria para inhibir en un 50% la actividad de la ECA) de 0.006  $\mu$ M. Este fármaco así como el enapril, alecepril, el lisinopril entre otros, pueden causar efectos secundarios como la hipotensión, incremento de los niveles de potasio y la reducción de la función renal.<sup>45</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

Se han encontrado péptidos con actividad inhibidora de la ECA en hidrolizados de plantas, pescados (bonito, sardina, atún) y huevo; pero los péptidos inhibidores de la ECA más estudiados son los que se obtienen de las proteínas de la leche, principalmente de las caseínas.<sup>46</sup> En los últimos años, también se han encontrado péptidos inhibidores de la ECA derivados de las proteínas del suero de la leche.<sup>46,47,24</sup>

Los péptidos inhibidores de la ECA derivados de proteínas alimentarias, no causan efectos secundarios como los fármacos inhibidores de la ECA. Se ha observado que los fragmentos  $\alpha$ 1-CN (23-27) y  $\beta$ -CN (177-183) presentan una elevada potencia inhibidora y se han encontrado fragmentos con una menor actividad inhibidora como el fragmento 60-67 de la  $\beta$ -CN también conocido como  $\beta$ -casomorfina-7.<sup>40</sup> Aunque no se ha podido predecir la relación entre la estructura y la actividad, se sabe que los péptidos inhibidores de la ECA poseen algunas características estructurales comunes:

- ✓ Cadenas peptídicas cortas (2-10 aminoácidos)
- ✓ Presencia de residuos hidrofóbicos en la secuencia (aminoácidos aromáticos o de cadena ramificada) sobre todo en el extremo carbonilo, porque esta región puede interactuar con tres regiones del sitio activo de la ECA
- ✓ Presencia de prolina, lisina, o arginina en el extremo carbonilo del péptido
- ✓ Resistencia a la hidrólisis por enzimas digestivas

Igualmente, se ha encontrado que el extremo amino terminal también influye en la actividad inhibidora de la ACE, ya que la presencia de Val e Ile en esta región aumentan la potencia inhibidora del péptido.<sup>24,44,48,49</sup>

#### e) **Péptidos antioxidantes**

Los péptidos antioxidantes derivados de las proteínas de los alimentos pueden disminuir el daño causado por las especies reactivas de oxígeno y pueden limitar la peroxidación de los ácidos grasos esenciales. Se sabe que los residuos de cisteína, lisina, histidina, metionina, triptófano y tirosina son efectivos como eliminadores de radicales libres. Los péptidos antioxidantes se han encontrado en una gran cantidad de alimentos como la cebada, el trigo, la soya y la leche.<sup>35,50</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

### **Métodos de producción y separación de los péptidos bioactivos**

Los péptidos bioactivos pueden ser liberados de la secuencia de su proteína precursora mediante la hidrólisis enzimática con enzimas digestivas o enzimas proteolíticas derivadas de microorganismos o bien durante el proceso de fermentación de la leche con cultivos iniciadores.<sup>51,52</sup> Una vez que se conoce la estructura de los péptidos también, es posible sintetizarlos por: i) síntesis química; ii) DNA recombinante; iii) síntesis enzimática.<sup>43,51</sup> La selección del método adecuado de síntesis depende principalmente de la cantidad y longitud del péptido que se desea sintetizar. El método de síntesis enzimática solo está recomendado para cadenas peptídicas pequeñas. Para péptidos de mayor tamaño es recomendable utilizar la tecnología de DNA recombinante. Actualmente, el método de síntesis de péptidos más empleado a nivel laboratorio es el método de síntesis química.<sup>28</sup>

La hidrólisis enzimática es el método más empleado para producir péptidos bioactivos generalmente se utilizan enzimas pancreáticas como la tripsina y pepsina para la liberación de algunas de las secuencias peptídicas de las proteínas alimentarias. Se sabe que algunos péptidos inhibidores de la ACE así como algunos caseinofosfopéptidos pueden ser producidos por la tripsina.<sup>27,28,53,54</sup> Además, se ha visto que al hidrolizar la leche con una amplia gama de enzimas entre las que destacan la quimiotripsina, subtilisina (alcalasa), pepsina, pancreatina y proteinasa K producen péptidos antihipertensivos.<sup>33</sup>

Durante el proceso de la digestión gastrointestinal las proteínas y los péptidos de los alimentos son susceptibles a la hidrólisis en diferentes etapas: ingestión, digestión y absorción). Una vez que son ingeridas, las proteínas son hidrolizadas por diferentes clases de enzimas (pepsina, tripsina, quimiotripsina, carboxi- y amino-peptidasas de la superficie de las células epiteliales), lo que produce péptidos de diferente tamaño.<sup>55</sup> Algunos de estos péptidos pueden tener un efecto sobre el tracto gastrointestinal; sin embargo, éstos pueden absorberse para alcanzar otros tejidos y órganos a través de la circulación.<sup>56</sup>

Algunos de los microorganismos empleados como cultivos iniciadores son proteolíticos, esta propiedad ha sido muy utilizada por la industria láctea, porque los péptidos y aminoácidos que se

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. generan a partir de las proteínas de la leche durante la fermentación contribuyen al sabor, aroma y textura típicos de los productos lácteos fermentados.

Hasta el momento han sido caracterizados los sistemas proteolíticos de algunas bacterias lácticas (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). En estos sistemas se distinguen tres etapas principales: i) la primera consiste en la proteólisis inicial de la caseína por proteinasas ligadas a la pared celular para formar una gran cantidad de péptidos, ii) la segunda, los péptidos producidos son transportados dentro de las células por uno de los sistemas de transporte de éstos (aminoácidos, di- y tri- péptidos y oligopéptidos, iii) y finalmente, una vez que los péptidos se encuentran dentro de la célula, son degradados por un grupo diverso de peptidasas, endopeptidasas, aminopeptidasas, tripeptidasas y dipeptidasas hasta la generación de aminoácidos libres, que pueden ser metabolizados o asimilados.<sup>28,33,57,58</sup>

En la Figura 3 se muestra el sistema proteolítico de *Lactococcus lactis*, es el sistema más estudiado y documentado del grupo de sistemas proteolíticos de las bacterias ácido lácticas (BAL). Por lo tanto, es el más utilizado para explicar los sistemas proteolíticos de las BAL. Debido a la escasa cantidad de aminoácidos en la leche, las BAL requieren utilizar el sistema proteolítico para suplir sus necesidades de compuestos nitrogenados para poder crecer. Este sistema está compuesto de una proteinasa ligada a la pared celular (CEP o PrtP), un sistema de transporte para oligopéptidos, sistemas de transporte para di-y tripéptidos y una gran cantidad de peptidasas (la mayoría de ellas localizadas intracelularmente). En estudios realizados con varias cepas de *Lactococcus lactis* se ha observado que la inactivación de las peptidasas o bien de los sistemas de transporte de dipéptidos y tripéptidos, no tiene un efecto significativo en el crecimiento del microorganismo en la leche; pero la inactivación de la proteinasa de la pared celular o del sistema de transporte de oligopéptidos o ambos afectan fuertemente el crecimiento del microorganismo en la leche. Por ese motivo, se sugiere que estos dos elementos son parte esencial del sistema proteolítico de *Lactococcus lactis*.<sup>59,60</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

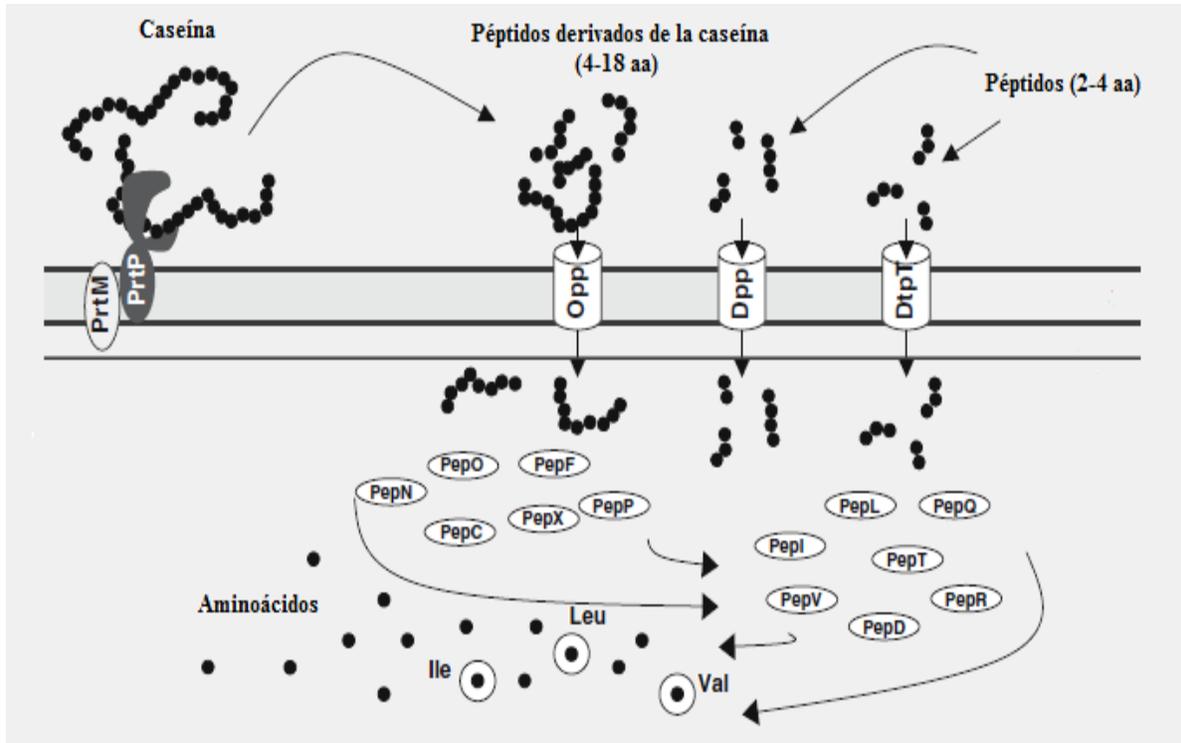


Fig 3. Sistema proteolítico de *Lactococcus lactis*.<sup>60</sup>

### Biodisponibilidad de los péptidos bioactivos

Los péptidos bioactivos tienen un gran potencial para ser empleados como ingrediente de los “alimentos funcionales”, porque pueden favorecer efectos fisiológicos benéficos en el organismo. No obstante, para que este tipo de péptidos produzcan su efecto fisiológico *in vivo* deben llegar intactos al órgano blanco. Lo anterior representa el mayor desafío en el uso de los péptidos bioactivos como ingrediente de los alimentos funcionales debido a que pueden sufrir una proteólisis durante el proceso de la digestión y por lo tanto, pueden disminuir o perder su actividad. Los péptidos bioactivos deben tener la capacidad de resistir el proceso de digestión, que comienza en el estómago por la acción de la pepsina que disminuye el pH del medio entre 2 y 3. El proceso de digestión continúa en el intestino delgado a condiciones más alcalinas (pH 7-8) donde deben resistir la acción de las proteasas pancreáticas (tripsina,  $\alpha$ -quimotripsina, elastasa y carbopeptidasa A y B).

Posteriormente, los péptidos deben ser absorbidos por los enterocitos a través de las membranas de borde de cepillo por medio de distintos sistemas de transporte.<sup>61</sup> En las

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. membranas de borde de cepillo, los péptidos deben de soportar la acción de aminopeptidasas A y N, que hidrolizan el extremo amino. Se ha estudiado que las  $\beta$ -casomorfina pueden resistir el proceso de digestión debido a su alto contenido en prolina.<sup>33</sup> También, se sabe que los péptidos inhibidores de la ECA (IPP y VPP), son más resistentes a la digestión debido a la presencia de la secuencia Pro-Pro en el extremo C, esta secuencia resiste la acción de peptidasas específicas a la prolina.<sup>62</sup>

Hay suficiente evidencia de que los péptidos bioactivos derivados de la leche pueden ser absorbidos completamente en los enterocitos a lo largo de la membrana (células de borde de cepillo), a través de distintos sistemas de transporte para que posteriormente, entren al torrente sanguíneo y producir efectos sistémicos. Igualmente, estos péptidos pueden ser absorbidos por transportes mediados por acarreadores o bien, mediante difusión paracelular; esta última forma ha sido sugerida como el mecanismo principal de transporte de los péptidos completos a través de la monocapa celular.<sup>56,63</sup> Además, se ha reportado la existencia de un sistema de transporte específico para péptidos en las células de borde de cepillo, este sistema facilita el transporte de péptidos entre 2 a 4 aminoácidos a través de esta membrana.<sup>64,65</sup> Otra forma de transporte de péptidos bioactivos que ha sido muy estudiada es el transporte a través de las células Caco-2,<sup>66</sup> que han mostrado la capacidad de los péptidos con actividad opioide, inhibidora de la ACE<sup>67</sup> y antihipertensiva<sup>68</sup> de cruzar la monocapa epitelial celular.

Una vez que llegan al torrente sanguíneo, los péptidos deben de resistir la acción de las peptidasas, así como la degradación de la angiotensina II, que ocurre en un período de tiempo muy corto. Es por ello, que solo los péptidos inhibidores de la ACE que no hayan sido afectados por la acción de las enzimas gastrointestinales y la angiotensina II o aquellos péptidos inhibidores de la ACE que hayan aumentado su potencial inhibidor (también llamados inhibidores pro-droga) mostrarán efectos antihipertensivos *in vivo*.<sup>65</sup>

Se ha logrado detectar la presencia de los péptidos antihipertensivos IPP y VPP en la aorta de ratas espontáneamente hipertensas después de una administración vía oral de leche fermentada.<sup>69</sup> En contraste las  $\beta$ -casomorfina rápidamente son degradadas una vez que entran al torrente sanguíneo, por lo que se cree que producen su efecto al interactuar con los receptores opioides del tracto gastrointestinal.<sup>70</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

En los últimos años, se ha utilizado la encapsulación de péptidos y proteínas bioactivas como un método para conservar su actividad biológica durante el almacenamiento, sobre todo cuando son empleados para la producción de alimentos. Además que, este proceso puede enmascarar la presencia de sabores amargos, sensación característica de una gran cantidad de péptidos bioactivos.<sup>71</sup>

### **Nanoencapsulación de péptidos y proteínas con actividad biológica**

Hoy en día, los consumidores están cada vez más interesados en alimentos con los nutrientes necesarios para realizar sus actividades diarias, que aporten beneficios adicionales en la salud y ayuden a prevenir el desarrollo de enfermedades. Este panorama genera una fuerte demanda de productos alimenticios con compuestos bioactivos (alimentos funcionales), lo que obliga a la industria alimentaria y sector académico desarrollar nuevos productos funcionales que conserven sus propiedades, actividad química y biológica. Estos aspectos son relevantes para lograr la adecuada biodisponibilidad de los compuestos bioactivos y evitar la interacción con otros componentes del alimento.<sup>72,73</sup>

En este sentido, la encapsulación (microencapsulación o nanoencapsulación), es una tecnología que permite la protección adecuada de compuestos bioactivos contra factores ambientales y que facilita la liberación controlada de los mismos. Para la preparación de los encapsulados, existen numerosas técnicas disponibles en la literatura. La selección del método más adecuado depende de diversos factores como: presupuesto disponible, costo de los materiales y reactivos empleados, propiedades del material a encapsular (compuesto bioactivo o microorganismo) y las propiedades del material encapsulante (polisacáridos, proteínas y lípidos), tamaño de la cápsula que se requiere en función de las propiedades de la matriz alimentaria donde serán incorporadas las cápsulas y los mecanismos de liberación del compuesto bioactivo.<sup>74</sup>

La encapsulación de los péptidos y proteínas bioactivas, además de aumentar su biodisponibilidad; puede reducir la higroscopicidad y sabor amargo, el cual se debe a la interacción entre los receptores de sabor con los residuos de aminoácidos hidrofóbicos, que se

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. generan durante la hidrólisis de las proteínas<sup>73</sup>. Cabe mencionar que muchos de los péptidos bioactivos con mayor actividad antihipertensiva contienen una gran cantidad de residuos hidrofóbicos.<sup>35</sup>

La encapsulación de los péptidos bioactivos e hidrolizados proteicos, difiere del proceso de encapsulación de otros compuestos bioactivos, como vitaminas o polifenoles, debido a que pueden tener una naturaleza química altamente heterogénea. Por lo tanto, antes de realizar el proceso de encapsulación, se requiere realizar un proceso de separación y purificación de las fracciones peptídicas con actividad biológica. También, se ha visto que las condiciones óptimas usadas para la encapsulación de otros compuestos bioactivos no son válidas para la encapsulación de los péptidos bioactivos.<sup>73</sup> Los materiales de pared utilizados para la encapsulación de péptidos, hidrolizados proteicos y proteínas con actividad biológica que serán empleados para la formulación y elaboración de alimentos funcionales deben de ser comestibles, biodegradables, no tóxicos y baratos. En la Figura 4 se muestran los principales materiales de pared utilizados, así como las ventajas y desventajas de cada uno de ellos.<sup>73</sup>

El uso de proteínas como material encapsulante de compuestos bioactivos se debe principalmente a sus propiedades como emulsificante, su solubilidad y la capacidad de formar biopelículas y geles. La proteína de soya es ampliamente utilizada para la encapsulación de péptidos bioactivos mientras que las caseínas se emplean para la encapsulación de compuestos bioactivos de naturaleza no proteica.<sup>73,75</sup> Sin embargo, debido a la heterogeneidad estructural que tienen los péptidos bioactivos que serán encapsulados, el mayor reto en el proceso de encapsulación cuando se utilizan proteínas como material encapsulante, es lograr las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas necesarias para el proceso. Para lograr una mayor estabilidad en los encapsulados de péptidos bioactivos, se suele utilizar mezclas de proteínas con polisacáridos como material encapsulante.<sup>73</sup>

Por otro lado, los polisacáridos son muy empleados como agentes encapsulantes debido a que tienen una estructura estable, son abundantes en la naturaleza y relativamente baratos. Además que, los grupos funcionales presentes en los polisacáridos permite que sean una de las mejores elecciones para encapsular compuestos bioactivos.<sup>73,76</sup> No obstante, en condiciones extremas, por ejemplo altas temperaturas, el polisacárido empleado como material de pared es susceptible a

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.  
 reaccionar con los péptidos bioactivos produciendo compuestos de Maillard, que pueden ser tóxicos y modificar la bioactividad del péptido encapsulado.

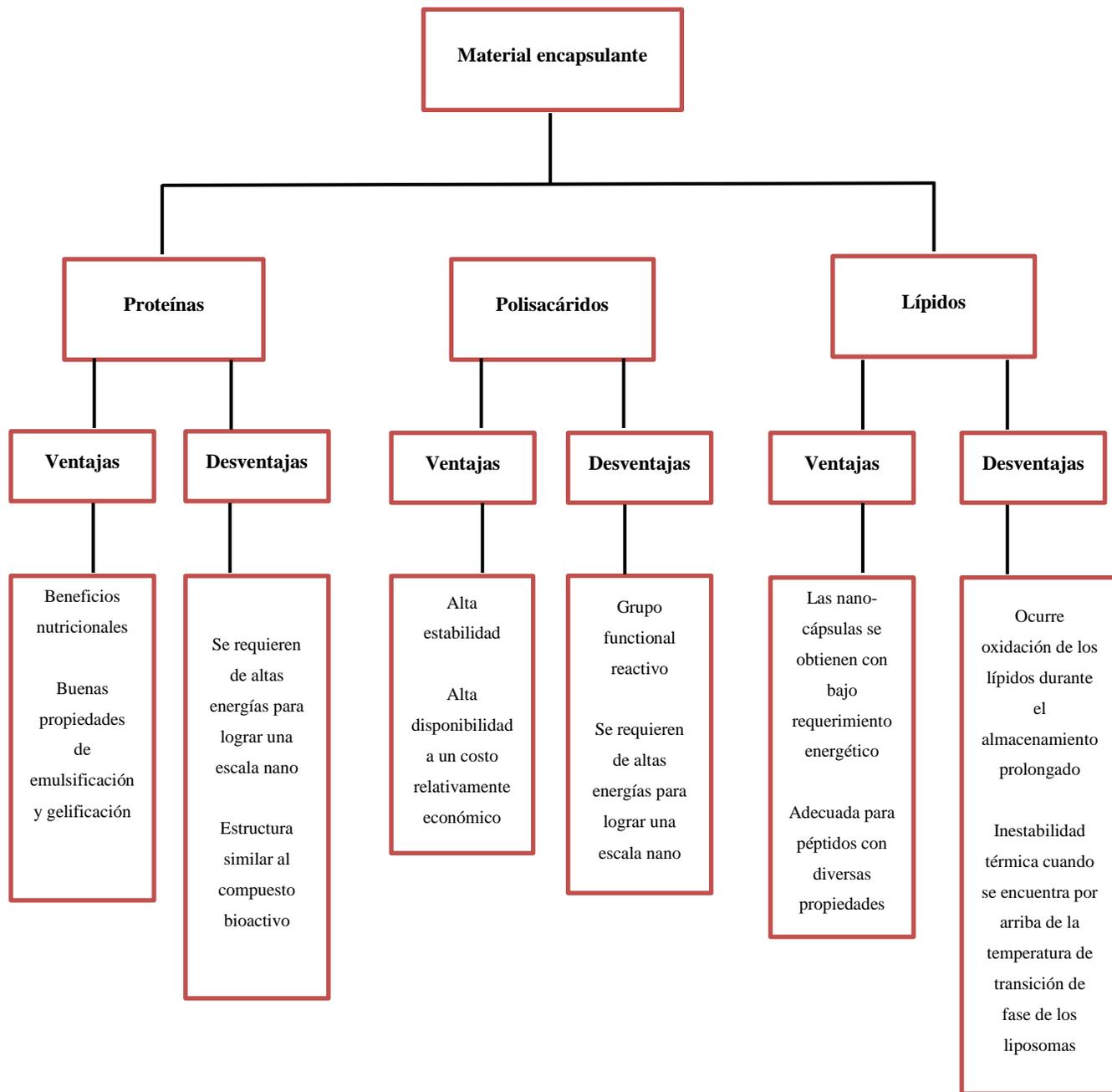


Fig 4. Ventajas y desventajas de los principales materiales de pared utilizados para la encapsulación de péptidos y proteínas.<sup>73</sup>

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

Para prevenir este problema, se utilizan polisacáridos modificados mediante procesos químicos como la carboximetilación, para producir polisacáridos que pueden ser empleados para la encapsulación de péptidos bioactivos. Para la encapsulación de péptidos y proteínas bioactivas se suelen utilizar como agentes encapsulantes, polisacáridos derivados de plantas, microorganismos y animales (goma arábiga, quitosano, ciclodextrina y maltodextrina).<sup>73,76</sup> Igualmente, se utilizan combinaciones de proteínas con polisacáridos como material encapsulante de péptidos bioactivos.<sup>73</sup>

Asimismo, se han utilizado dos sistemas de naturaleza lipídica, (lipoesferas y liposomas) para la encapsulación de péptidos, hidrolizados proteicos y proteínas con actividad biológica. Las lipoesferas están compuestas por una capa interna de la parte hidrofóbica de los ácidos grasos mientras que la capa externa está conformada por la parte hidrofílica de éstos o bien por fosfolípidos. Los liposomas están compuestos por una o más bicapas concéntricas de fosfolípidos, que forma una vesícula. De acuerdo a lo anterior, las lipoesferas son un mejor material encapsulante para los péptidos hidrofóbicos, ya que son compatibles con la capa interna hidrofóbica de la lipoesfera. Sin embargo, se ha observado que estos sistemas presentan una eficiencia de encapsulación (EE) de moderada a alta entre 50 a 85% para los péptidos bioactivos.<sup>73,77</sup>

Por otro lado, los liposomas son muy empleados como material de pared; aunque no se utilizan mucho para encapsulación de compuestos bioactivos que son agregados a alimentos debido a la alta concentración de ácidos grasos y al limitado número de compuestos bioactivos que pueden ser encapsulados. No obstante, los liposomas son materiales de pared muy compatibles con una amplia cantidad de péptidos bioactivos, ya que el centro acuoso es adecuado para la encapsulación de péptidos hidrofílicos y otros compuestos, mientras el interior de la bicapa es compatible con péptidos hidrofóbicos. Adicionalmente, en la interfase entre la cubierta y el centro del liposoma podrían encapsularse péptidos anfifílicos, los cuales tienen la habilidad de interactuar con residuos aminoacídicos hidrofóbicos e hidrofílicos.<sup>73,78</sup> Los liposomas son similares a las membranas celulares y por lo tanto, son sistemas favorables para la liberación de péptidos y compuestos bioactivos, que pueden ser degradados por el ambiente fisiológico del sistema digestivo. Generalmente, se emplea fosfatidil-colina como fosfolípido para la formación

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

de los liposomas. Sin embargo, una gran desventaja que tienen estos sistemas para la encapsulación de péptidos y compuestos bioactivos es que puede producirse una oxidación de los lípidos durante el procesamiento y almacenamiento de los productos o alimentos, que los contienen.<sup>73</sup>

Los criterios necesarios para poder evaluar la calidad en el proceso de encapsulación de los péptidos bioactivos son descritos a continuación:<sup>73</sup>

1) Tamaño de partícula. - La dispersabilidad y solubilidad de los péptidos encapsulados en los productos dependen en gran medida del tamaño de partícula. Un tamaño de partícula mayor de 50  $\mu\text{M}$  puede afectar significativamente la solubilidad, dispersión y por lo tanto, la textura y la calidad sensorial del alimento.<sup>79</sup> Los encapsulados pueden ser micro- y nano- encapsulados. El uso de nanocápsulas puede aumentar la solubilidad y biodisponibilidad de los compuestos bioactivos en el producto alimenticio porque se dispone de una mayor superficie de contacto. Además, el tamaño pequeño de las cápsulas aumenta la liberación de los compuestos bioactivos.<sup>78</sup> Los sistemas lipídicos son los materiales encapsulantes más eficientes para la formación de nanocápsulas de péptidos bioactivos. Cuando se emplean polisacáridos, proteínas y/o mezclas, se obtienen generalmente microcápsulas debido al elevado peso molecular que tienen estos polímeros. Asimismo, se ha observado que el método de producción de las cápsulas y la proporción existente entre la concentración del péptido bioactivo y el material encapsulante son variables que influyen en el tamaño del encapsulado.<sup>73</sup>

2) Potencial Zeta. - La carga superficial o el potencial zeta, es una de las propiedades que imparten estabilidad a los productos encapsulados. Esta estabilidad permite la predicción del comportamiento del compuesto encapsulado en la matriz alimenticia. Cuando se encapsulan compuestos bioactivos en liposomas se obtienen valores de potencial zeta negativos debido a la presencia de fosfolípidos, los cuales tienen un extremo cargado negativamente. Una disminución en el valor del potencial zeta, podría afectar la estabilidad del encapsulado. Los péptidos y los hidrolizados proteicos encapsulados que presentan un bajo valor de carga superficial tienen la tendencia a formar aglomerados en ambientes acuosos; se requiere al menos un valor de potencial zeta de  $\pm 30$  mV para formar encapsulados estables. Por otro parte, no se suele

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. considerar esta propiedad cuando el encapsulado sólo se utiliza para enmascarar el sabor amargo de los hidrolizados proteicos y péptidos.<sup>73</sup>

3) Eficiencia de encapsulación (EE). - La eficiencia de encapsulación puede definirse como la concentración del compuesto bioactivo (péptido o hidrolizado) atrapado en el centro o en la superficie del material de pared con respecto a la cantidad inicial del compuesto bioactivo. La eficiencia en la encapsulación es un factor importante a considerar especialmente en productos comerciales con péptidos encapsulados. Por otro lado, se ha observado que un porcentaje mayor a 50 % en la eficiencia de encapsulación puede incrementar el riesgo de fuga del compuesto bioactivo; y por otra, un menor porcentaje en este factor, puede conducir a un manejo ineficiente de los compuestos bioactivos ya que se necesitarían mayores cantidades del péptido bioactivo para poder realizar sus actividades biológicas en el organismo.<sup>73,78</sup> La eficiencia de encapsulación depende de la relación de concentraciones del compuesto bioactivo y el material encapsulante, de las condiciones empleadas durante la encapsulación y de la técnica empleada para encapsular.<sup>73,75</sup> Finalmente, los encapsulados que emplean polisacáridos y proteínas como material encapsulante generalmente presentan una mayor eficiencia que los encapsulados con materiales lipídicos.<sup>73</sup>

La química de los compuestos que serán encapsulados influye en la eficiencia del encapsulado (EE). Algunos de los factores que tienen mayor influencia en el proceso de encapsulación de péptidos son la carga del péptido, el tipo y la pureza del material de encapsulado y la proporción entre la concentración del péptido y el material encapsulante.<sup>73</sup>

Hoy en día existen muchas técnicas para encapsular péptidos, hidrolizados proteicos y proteínas con actividad biológica como la coacervación, secado por aspersion, hidratación de biopelículas, extrusión, extracción por fluidos supercríticos y co-cristalización. A continuación, se describen brevemente los métodos más empleados para la encapsulación de péptidos:<sup>73</sup>

a) Hidratación de biopelículas. - Generalmente, este método se utiliza para la encapsulación de péptidos con liposomas. Este método es simple y efectivo para lograr el autoensamblaje de fosfolípidos mediante la aplicación de energía, que puede ser calor, agitación o sonicación, consiguiendo atrapar a los péptidos en el centro. Para obtener la formación de la bicapa de los

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

liposomas no se requiere del uso de sofisticados equipos a excepción del equipo utilizado como fuente de energía para lograr el autoensamblaje de los fosfolípidos. La desventaja de este método es que al no tener control del proceso de autoensamblaje se puede tener una baja eficiencia de encapsulación y de reproducibilidad. Además, que se debe remover los solventes orgánicos usados en la encapsulación liposomal antes de utilizar los encapsulados en la producción de alimentos funcionales, lo que acarrea la introducción de pasos adicionales que pueden afectar la eficiencia en la encapsulación y la calidad de los productos encapsulados.

b) Secado por aspersion. - Este método es empleado cuando se requiere encapsular péptidos empleando como materiales encapsulantes polisacáridos y proteínas debido a su bajo costo y factibilidad técnica.<sup>73,79</sup> Este método involucra la formación de gotas y asperjado a altas temperaturas favoreciendo la formación de partículas secas. En la práctica, se ha observado que los compuestos bioactivos se distribuyen uniformemente por toda la capsula, porque el material encapsulante y el compuesto bioactivo poseen una hidrofiliidad semejante. Por lo tanto, para este comportamiento se tendría una alta eficacia en la aplicación del método; sin embargo, todavía no se ha reportado algún estudio sobre la eficiencia de encapsulación de péptidos. Una desventaja de este método es el uso de la temperatura elevada en el proceso, que puede provocar la desnaturalización de las proteínas empleadas como material encapsulante; asimismo, podría causar alteraciones en la estructura de los péptidos e hidrolizados proteicos. Por otro lado, existe la posibilidad de la presencia de reacciones de pardeamiento no enzimático, si la cantidad de azúcares reductores es elevada. En general, este método es más apropiado para la formación de microcápsulas.<sup>73</sup>

c) Coacervación: Este método es efectivo para la encapsulación porque su uso se basa en la atracción electrostática entre el material encapsulante y el compuesto bioactivo. Esta metodología involucra una separación de fases y la deposición de una fase coacervada en el centro.<sup>73,80</sup> Con este método de encapsulación se han logrado obtener valores de eficiencias en el encapsulado mayor del 91%, utilizando las mismas cantidades de material encapsulante (proteína de soya y pectina) y compuesto bioactivo (hidrolizado de caseína).<sup>81</sup> La afinidad que hay entre el compuesto bioactivo y el material encapsulante debido a sus propiedades de superficie contribuyen a tener una alta eficiencia en la encapsulación. El material encapsulante elegido para

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. este método debe de ser compatible (debe tener una carga opuesta a la del compuesto bioactivo) para formar el coacervado. En la coacervación se utiliza goma arábica y alginato para encapsular péptidos catiónicos.<sup>73</sup>

La carga neta del péptido depende del valor de pH del medio durante el proceso de encapsulación y éste puede influenciar la eficiencia del encapsulado. Se ha visto que la encapsulación de péptidos utilizando como material encapsulante proteínas y polisacáridos se obtiene cuando el pH del medio es 8.<sup>73,79,81,82</sup> Aunque, cuando se emplean liposomas, se tienen mayores eficiencias en la encapsulación a un pH neutro.<sup>83–85</sup>

Es de suma importancia considerar que la estabilidad del encapsulado depende de la alta afinidad entre el material encapsulante y el compuesto bioactivo (péptidos, hidrolizados y proteínas) y que resista el procesamiento y almacenamiento del alimento con pérdidas mínimas debidas a la difusión del compuesto bioactivo.<sup>73</sup>

## Referencias

- (1) Rutherfurd-Markwick, K. J. (2012) Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions. *Br. J. Nutr.* 108, S149–S157.
- (2) Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., and Hassan, F. A. (2013) Prebiotics as functional foods: A review. *J. Funct. Foods* 5, 1542–1553.
- (3) Rutherfurd-Markwick, K. J., and Moughan, P. J. (2005) Bioactive Peptides Derived from Food. *J. AOAC Int.* 88, 955–966.
- (4) Li-Chan, E. C. (2015) Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Curr. Opin. Food Sci.* 1, 28–37.
- (5) Shahidi, F., and Zhong, Y. (2008) Bioactive Peptides. *J. AOAC Int. Aoac Int.* 91, 914–931.
- (6) Saavedra, L., Hebert, E. M., Minahk, C., and Ferranti, P. (2013) An overview of “omic” analytical methods applied in bioactive peptide studies. *Food Res. Int.* 54, 925–934.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

(7) Mohanty, D. P., Mohapatra, S., Misra, S., and Sahu, P. S. (2016) Milk derived bioactive peptides and their impact on human health- A review. *Saudi J. Biol. Sci.* 23, 577–583.

(8) Park, Y. W., and Nam, M. S. (2015) Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. *Korean J. food Sci. Anim. Resour.* 35, 831–40.

(9) Raikos, V., and Dassios, T. (2014) Health-promoting properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review 94, 91–101.

(10) Wada, Y., and Lonnerdal, B. (2015) Bioactive peptides released from in vitro digestion of human milk with or without pasteurization.

(11) Wada, Y., and Lönnerdal, B. (2014) Bioactive peptides derived from human milk proteins — mechanisms of action. *J. Nutr. Biochem.* 25, 503–514.

(12) Ryan, J. T., Ross, R. P., Bolton, D., Fitzgerald, G. F., and Stanton, C. (2011) Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients* 3, 765–91.

(13) Khora, S. (2013) Marine fish-derived bioactive peptides and proteins for human therapeutics 5, 31–37.

(14) Majumder, K., and Wu, J. (2010) A new approach for identification of novel antihypertensive peptides from egg proteins by QSAR and bioinformatics. *Food Res. Int.* 43.

(15) Lule, V. K., Garg, S., Pophaly, S. D., Hitesh, S. K., and Tomar, S. K. (2015) “Potential Health Benefits of Lunasin: A Multifaceted Soy-Derived Bioactive Peptide.” *J. Food Sci.* 80, R485–R494.

(16) Capriotti, A. L., Caruso, G., Cavaliere, C., Samperi, R., Ventura, S., Zenezini Chiozzi, R., and Laganà, A. (2015) Identification of potential bioactive peptides generated by simulated gastrointestinal digestion of soybean seeds and soy milk proteins. *J. Food Compos. Anal.* 44, 205–213.

(17) Dei Piu', L., Tassoni, A., Serrazanetti, D. I., Ferri, M., Babini, E., Tagliazucchi, D., and Gianotti, A. (2014) Exploitation of starch industry liquid by-product to produce bioactive peptides from rice hydrolyzed proteins. *Food Chem.* 155, 199–206.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

- (18) Uraipong, C., and Zhao, J. (2016) Identification and functional characterisation of bioactive peptides in rice bran albumin hydrolysates. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 2201–2208.
- (19) Yan, Q.-J., Huang, L.-H., Sun, Q., Jiang, Z.-Q., and Wu, X. (2015) Isolation, identification and synthesis of four novel antioxidant peptides from rice residue protein hydrolyzed by multiple proteases. *Food Chem.* 179, 290–295.
- (20) Taha, F. S., Mohamed, S. S., Wagdy, S. M., and Mohamed, G. F. (2013) Antioxidant and Antimicrobial Activities of Enzymatic Hydrolysis Products from Sunflower Protein Isolate. *World Appl. Sci. J.* 21, 651–658.
- (21) Montoya-Rodríguez, A., Gómez-Favela, M. A., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., and González de Mejía, E. (2015) Identification of Bioactive Peptide Sequences from Amaranth ( *Amaranthus hypochondriacus* ) Seed Proteins and Their Potential Role in the Prevention of Chronic Diseases. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 139–158.
- (22) Malaguti, M., Dinelli, G., Leoncini, E., Bregola, V., Bosi, S., Cicero, A. F. G., Hrelia, S., and Li-Chan, E. C. Y. (2014) Bioactive Peptides in Cereals and Legumes: Agronomical, Biochemical and Clinical Aspects. *Int. J. Mol. Sci* 15, 21120–21135.
- (23) Cavazos, A., and Gonzalez de Mejia, E. (2013) Identification of Bioactive Peptides from Cereal Storage Proteins and Their Potential Role in Prevention of Chronic Diseases. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 364–380.
- (24) Udenigwe, C. C., and Aluko, R. E. (2012) Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. *J. Food Sci.* 77, R11–R24.
- (25) Agyei, D., Ongkudon, C. M., Wei, C. Y., Chan, A. S., and Danquah, M. K. (2016) Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides. *Food Bioprod. Process.* 98, 244–256.
- (26) Minkiewicz, P., Dziuba, J., Iwaniak, A., Dziuba, M., and Darewicz, M. (2008) BIOPEP database and other programs for processing bioactive peptide sequences. *J. AOAC Int.* 91, 965–80.
- (27) Pihlanto-Leppälä, A. (2000) Bioactive peptides derived from bovine whey proteins. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 347–356.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

(28) Korhonen, H., and Pihlanto, A. (2003) Bioactive peptides: new challenges and opportunities for the dairy industry. *Aust. J. dairy Technol.* 58, 129–134.

(29) Hartmann, R., and Meisel, H. (2007) Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18, 163–169.

(30) Korhonen, H. J. (2009) Bioactive Components in Bovine Milk. *Bioact. Components Milk Dairy Prod.*

(31) Smacchi, E., and Gobetti, M. (2000) Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzymes. *Food Microbiol.* 17, 129–141.

(32) Pihlanto, A., Virtanen, T., and Korhonen, H. (2010) Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *Int. Dairy J.* 20, 3–10.

(33) Korhonen, H., and Pihlanto, A. (2006) Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 16, 945–960.

(34) Hafeez, Z., Cakir-Kiefer, C., Roux, E., Perrin, C., Miclo, L., and Dary-Mourot, A. (2014) Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *Food Res. Int.* 63, 71–80.

(35) Maestri, E., Marmiroli, M., and Marmiroli, N. (2016) Bioactive peptides in plant-derived foodstuffs. *J. Proteomics* 147, 140–155.

(36) Hafeez, Z., Cakir-Kiefer, C., Roux, E., Perrin, C., Miclo, L., and Dary-Mourot, A. (2014) Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *Food Res. Int.* 63, 71–80.

(37) Agyei, D., and Danquah, M. K. (2011) Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities. *Trends Food Sci. Technol.*

(38) Meisel, H. (1997) Biochemical properties of bioactive peptides derived from milk proteins: Potential nutraceuticals for food and pharmaceutical applications. *Livest. Prod. Sci.* 50, 125–138.

(39) Silva, S., and Malcata, F. (2005) Caseins as source of bioactive peptides. *Int. Dairy J.* 15, 1–15.

(40) Meisel, H. (2001) Bioactive peptides from milk proteins : a perspective for consumers and

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. producers. *Aust. J. dairy Technol.* 56, 83–92.

(41) Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Ramos, M., and Recio, I. (2004) Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1504–10.

(42) Meisel, H., and FitzGerald, R. J. (2003) Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr. Pharm. Des.* 9, 1289–1295.

(43) Meisel, H., and FitzGerald, R. J. (2000) Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences. *Br. J. Nutr.* 84 Suppl 1, S27-31.

(44) Meisel, H. (1998) Overview on Milk Protein-derived Peptides. *Int. Dairy J.* 8, 363–373.

(45) FitzGerald, R. J., Murray, B. A., and Walsh, D. J. (2004) Hypotensive peptides from milk proteins. *J. Nutr.* 134, 980S–8S.

(46) Saleh, A. S. M., Zhang, Q., and Shen, Q. (2016) Recent Research in Antihypertensive Activity of Food Protein-derived Hydrolyzates and Peptides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56, 760–787.

(47) García-Tejedor, A., Sánchez-Rivera, L., Castelló-Ruiz, M., Recio, I., Salom, J. B., and Manzanares, P. (2014) Novel Antihypertensive Lactoferrin-Derived Peptides Produced by *Kluyveromyces marxianus* : Gastrointestinal Stability Profile and *In Vivo* Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibition. *J. Agric. Food Chem.* 62, 1609–1616.

(48) FitzGerald, R. J., and Meisel, H. (2000) Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Br. J. Nutr.* 84 Suppl 1, S33-7.

(49) Torres-Llanez, M. J., González-Córdova, A. F., Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H. S., and Vallejo-Cordoba, B. (2011) Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese. *J. Dairy Sci.* 94, 3794–3800.

(50) Power, O., Jakeman, P., and FitzGerald, R. J. (2013) Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. *Amino Acids* 44, 797–820.

(51) Korhonen, H., and Pihlanto, A. (2003) Food-derived bioactive peptides--opportunities for

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al. designing future foods. *Curr. Pharm. Des.* 9, 1297–1308.

(52) Phelan, M., and Kerins, D. (2011) The potential role of milk-derived peptides in cardiovascular disease. *Food Funct.* 2, 153–67.

(53) FitzGerald, R. J. (1998) Potential Uses of Caseinophosphopeptides. *Int. Dairy J.* 8, 451–457.

(54) Yamamoto, N., and Takano, T. (1999) Antihypertensive peptides derived from milk proteins. *Nahrung* 43, 159–64.

(55) Hernández-Ledesma, B., del Mar Contreras, M., and Recio, I. (2011) Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. *Adv. Colloid Interface Sci.* 165, 23–35.

(56) Shimizu, M. (2004) Food-derived peptides and intestinal functions. *BioFactors* 21, 43–47.

(57) Juillard, V., Laan, H., Kunji, E. R., Jeronimus-Stratingh, C. M., Bruins, A. P., and Konings, W. N. (1995) The extracellular PI-type proteinase of *Lactococcus lactis* hydrolyzes beta-casein into more than one hundred different oligopeptides. *J. Bacteriol.* 177, 3472–8.

(58) van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., van Hylckama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A., Ayad, E. H. ., Smit, G., and Siezen, R. J. (2002) Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence analysis. *Int. Dairy J.* 12, 111–121.

(59) Helinck, S., Richard, J., and Juillard, V. (1997) The effects of adding lactococcal proteinase on the growth rate of *Lactococcus lactis* in milk depend on the type of enzyme. *Appl. Envir. Microbiol.* 63, 2124–2130.

(60) Savijoki, K., Ingmer, H., and Varmanen, P. (2006) Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71, 394–406.

(61) Vermeirssen, V. (2003) Release and Activity of ACE Inhibitory Peptides From Pea and Whey Protein : Fermentation , in Vitro Digestion and Transport.

(62) FitzGerald, R. J., Murray, B. a, and Walsh, D. J. (2004) Hypotensive peptides from milk proteins. *J. Nutr.* 134, 980S–8S.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

(63) Hayes, M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., and Ross, R. P. (2007) Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions. *Biotechnol. J.* 2, 435–49.

(64) Yang, C. Y., Dantzig, A. H., and Pidgeon, C. (1999) Intestinal Peptide Transport Systems and Oral Drug Availability. *Pharm. Res.* 16, 1331–1343.

(65) Vermeirssen, V., Camp, J. Van, and Verstraete, W. (2004) Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Br. J. Nutr.* 92, 357.

(66) Iwan, M., Jarmołowska, B., Bielikowicz, K., Kostyra, E., Kostyra, H., and Kaczmarek, M. (2008) Transport of micro-opioid receptor agonists and antagonist peptides across Caco-2 monolayer. *Peptides* 29, 1042–7.

(67) Foltz, M., Cerstiaens, A., van Meensel, A., Mols, R., van der Pijl, P. C., Duchateau, G. S. M. J. E., and Augustijns, P. (2008) The angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro show increasing permeabilities with increasing physiological relevance of absorption models. *Peptides* 29, 1312–20.

(68) Quirós, A., Dávalos, A., Lasunción, M. A., Ramos, M., and Recio, I. (2008) Bioavailability of the antihypertensive peptide LHLPLP: Transepithelial flux of HLPLP. *Int. Dairy J.* 18, 279–286.

(69) Masuda, O., Nakamura, Y., and Takano, T. (1996) Antihypertensive peptides are present in aorta after oral administration of sour milk containing these peptides to spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr.* 126, 3063–8.

(70) Meisel, H., and Bockelmann, W. (1999) Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76, 207–215.

(71) Augustin, M. A., and Hemar, Y. (2009) Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem. Soc. Rev.* 38, 902–912.

(72) Cabuk, B., Okuklu, B., Stanciuc, N., and Harsa, S. T. (2014) Nanoencapsulation of Biologically Active Peptides from Whey Proteins. *J. Nutr. Heal. Food Sci.* 2.

(73) Mohan, A., Rajendran, S. R. C. K., He, Q. S., Bazinet, L., and Udenigwe, C. C. (2015)

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: a review. *RSC Adv.* 5, 79270–79278.

(74) Islas, R. P., Bravo, S. M., and Carter, E. J. V. (2002) Oil thermo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. *Rev. Mex. Ing. Química* 1, 37–44.

(75) Tavares, G., Croguennec, T., and Carvalho, A. (2014) Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: applications and trends. *Trends Food Sci.*

(76) Fathi, M., Martín, Á., and McClements, D. J. (2014) Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.* 39, 18–39.

(77) Barbosa, C. M. S., Morais, H. A., Delvivo, F. M., Mansur, H. S., De Oliveira, M. C., and Silvestre, M. P. C. (2004) Papain hydrolysates of casein: Molecular weight profile and encapsulation in lipospheres. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1891–1900.

(78) Fathi, M., Mozafari, M. R., and Mohebbi, M. (2012) Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.* 23, 13–27.

(79) Favaro-Trindade, C. S., Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., and Netto, F. M. (2010) The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocoll.* 24, 336–340.

(80) Gouin, S. (2004) Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Technol.* 15, 330–347.

(81) Mendanha, D. V., Molina Ortiz, S. E., Favaro-Trindade, C. S., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., and Thomazini, M. (2009) Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. *Food Res. Int.* 42, 1099–1104.

(82) Molina Ortiz, S. E., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., Santana, A. S., and Favaro-Trindade, C. S. (2009) Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 919–923.

(83) Yokota, D., Moraes, M., and Pinho, S. C. (2012) Characterization of lyophilized liposomes produced with non-purified soy lecithin: a case study of casein hydrolysate microencapsulation. *Brazilian J. Chem. Eng.* 29, 325–335.

Los péptidos y proteínas con actividad biológica: Generalidades, actividades y uso de la nanoencapsulación para aumentar su biodisponibilidad. Figueroa-Hernández et al.

(84) Mosquera, M., Giménez, B., da Silva, I. M., Boelter, J. F., Montero, P., Gómez-Guillén, M. C., and Brandelli, A. (2014) Nanoencapsulation of an active peptidic fraction from sea bream scales collagen. *Food Chem.* 156, 144–150.

(85) da Rosa Zavareze, E., Telles, A. C., Mello El Halal, S. L., da Rocha, M., Colussi, R., Marques de Assis, L., Suita de Castro, L. A., Guerra Dias, A. R., and Prentice-Hernández, C. (2014) Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct. *LWT - Food Sci. Technol.* 59, 841–848.

# 18. PROCESAMIENTO DE SÓLIDOS GRANULARES EN LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA Y ALIMENTARIA: FLUIDIZACIÓN Y FUENTEADO.

Enrique Arriola Guevara<sup>1</sup>

Guadalupe María Guatemala Morales<sup>2</sup>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara<sup>1</sup>

[arriole@hotmail.com](mailto:arriole@hotmail.com)

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.<sup>2</sup>

[gguatemala@ciatej.mx](mailto:gguatemala@ciatej.mx)

## Introducción

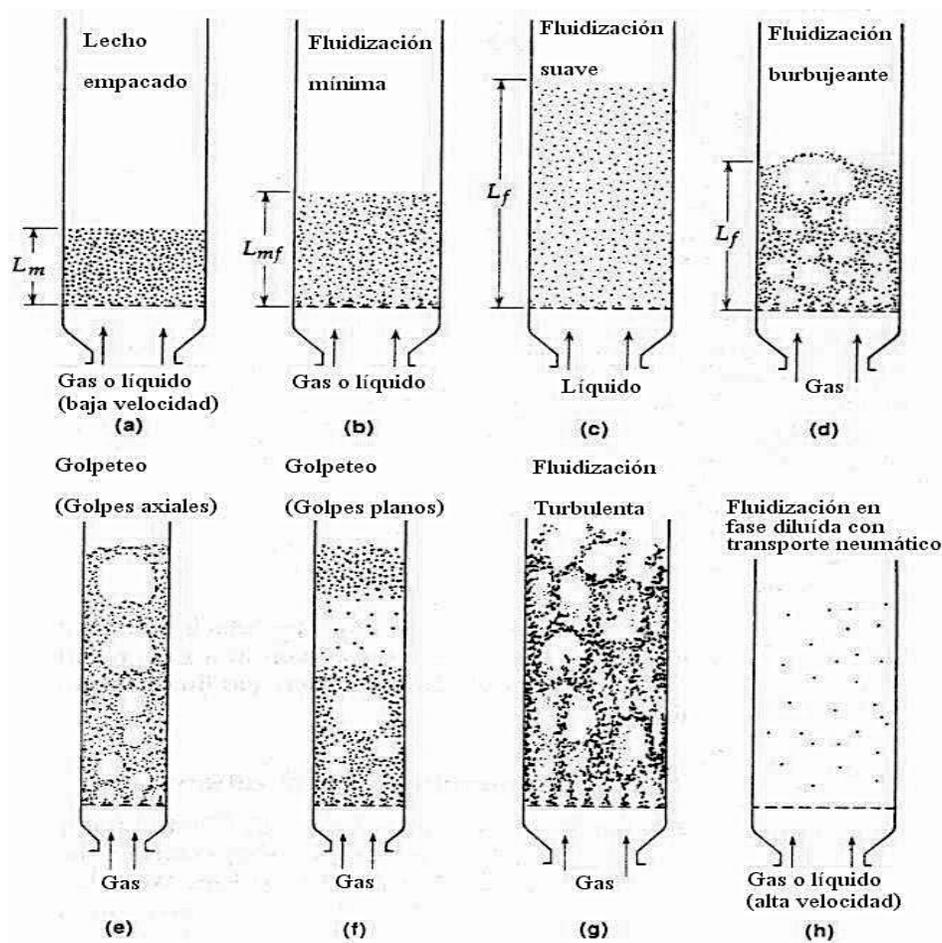
La *fluidización* es la operación por medio de la cual partículas sólidas son transformadas en un estado parecido a un fluido a través de una suspensión de gas o líquido (Kunii y Levenspiel, 1991); es el área del conocimiento que explica los fenómenos involucrados en este proceso de contacto sólido-fluido. Cuando un lecho de sólidos se ve suspendido por un gas que fluye hacia arriba, el lecho puede comportarse de varias formas:

1. Fluidización suave
2. Lecho burbujeante
3. Lecho burbujeante irregular
4. Lecho fuente

Estas formas dependen de numerosos factores que afectan el funcionamiento del lecho como son: el tamaño, la geometría y las propiedades de los sólidos; el flujo y las propiedades del fluido, así como la geometría del recipiente. Por ejemplo, con respecto a las características del

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales

flujo (Figura 1), a bajas velocidades de flujo, el fluido únicamente penetra a través de los espacios vacíos entre las partículas estacionarias; esto es un *lecho empacado* (*fixed bed*). Con un incremento en la velocidad de flujo, las partículas se separan ligeramente y unas cuantas vibran y se mueven en regiones restringidas, formando entonces lo que se llama *lecho expandido* (*expanded bed*). Aumentando aún más la velocidad, se alcanza un punto en donde todas las partículas se encuentran suspendidas por el gas -o líquido- que sube. En esas condiciones, la fricción entre la partícula y el fluido apenas contrarresta el peso de las partículas, el componente vertical de la fuerza compresiva entre las partículas adyacentes desaparece y el gradiente de presión a través de cualquier sección del lecho casi iguala el peso del fluido y las partículas en esa sección. El lecho es considerado como “apenas fluidizado” y se le refiere como un *lecho fluidizado incipiente* (*incipiently fluidized bed*) o un lecho en *fluidización mínima* (Figura 1.b).



**Figura 1.** Varias formas de contacto de un lote de sólidos con un fluido (Kunii y Levenspiel, 1991).

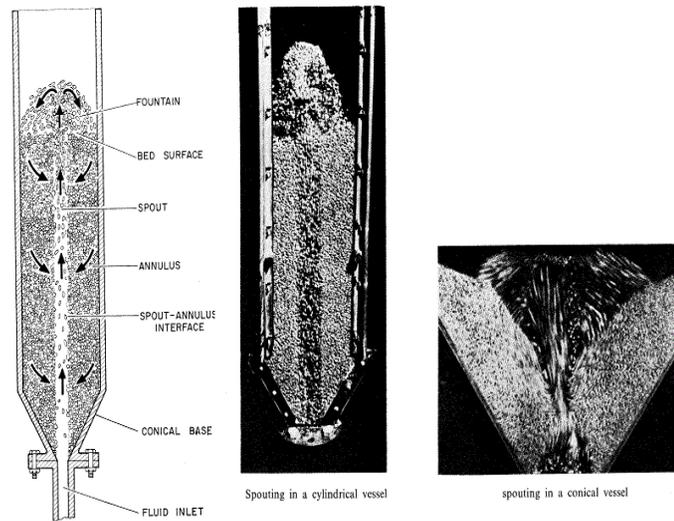
En un sistema sólido-líquido, un incremento en la velocidad de flujo, por encima de la fluidización mínima, generalmente resulta en una suave y progresiva expansión del lecho. Las grandes –posibles- inestabilidades del flujo son amortiguadas, permanecen pequeñas, y la heterogeneidad, o los espacios vacíos del líquido, no se observa bajo condiciones normales (Figura 1.c). A un lecho así descrito se le denomina “*lecho particularmente fluidizado*” (*particulately fluidized bed*), o bien “*lecho homogéneamente fluidizado*” (*homogeneously fluidized bed*), o también “*lecho suavemente fluidizado*” (*smoothly fluidized bed*). En sistemas sólido-gas dichos lechos pueden ser observados únicamente bajo ciertas condiciones especiales de partículas ligeras finas, con gas denso a alta presión. Generalmente, los sistemas sólido-gas se comportan de manera diferente. Con un aumento en la velocidad de flujo, más allá de la fluidización mínima, se observan grandes inestabilidades con burbujeo y canalización (*channeling*) de gas. A mayores velocidades de flujo, la agitación se vuelve más violenta y el movimiento de sólidos se vuelve más vigoroso, dando lugar a diferentes comportamientos (Figuras 1d a la Figura 1.h), hasta alcanzar –finalmente- lo que se conoce como “*lecho fluidizado disperso*”, o “*lecho fluidizado diluido*”, o también “*lecho fluidizado en fase delgada*”, con transporte neumático de los sólidos y arrastre de partículas.

La operación de contacto fluido-sólido en lo que se conoce como “*lecho fuente*”, consiste en inyectar una corriente de fluido a alta velocidad que se mueve a través de un lecho de sólidos, empujándolos y forzándolos a subir por el centro del recipiente hasta alcanzar el nivel superior del lecho, en donde los sólidos después caen por efecto de la gravedad como una lluvia de partículas formando una “fuente” (Figura 2). Los lechos fuente para el contacto gas-sólidos proporcionan una forma muy buena de agitación de partículas grandes.

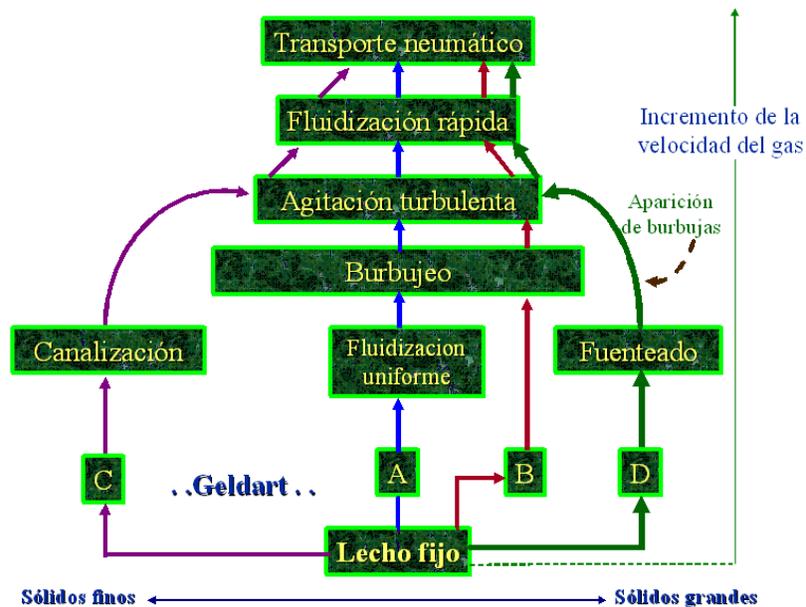
La coexistencia de las dos fases (fluido y sólidos) produce un esquema de circulación de sólidos muy característico de los lechos fuente: el material sólido es arrastrado hacia arriba -en cocorriente- por el fluido que fluye por la parte central del recipiente, luego desciende por gravedad atravesando la fase densa de la región anular en contracorriente con el fluido que asciende, percolándose entre los sólidos. Se establece así, un patrón cíclico, sistemático, del movimiento de las partículas sólidas, dando origen a un sistema hidrodinámico único, que resulta más adecuado para ciertas aplicaciones que otras configuraciones sólido-fluido.

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales

Con respecto al tamaño, la geometría y las propiedades de los sólidos, estos se catalogan de acuerdo a la clasificación de Geldart (Geldart, 1973), comportándose de manera diferente conforme aumenta la velocidad de aireación (Figura 3).



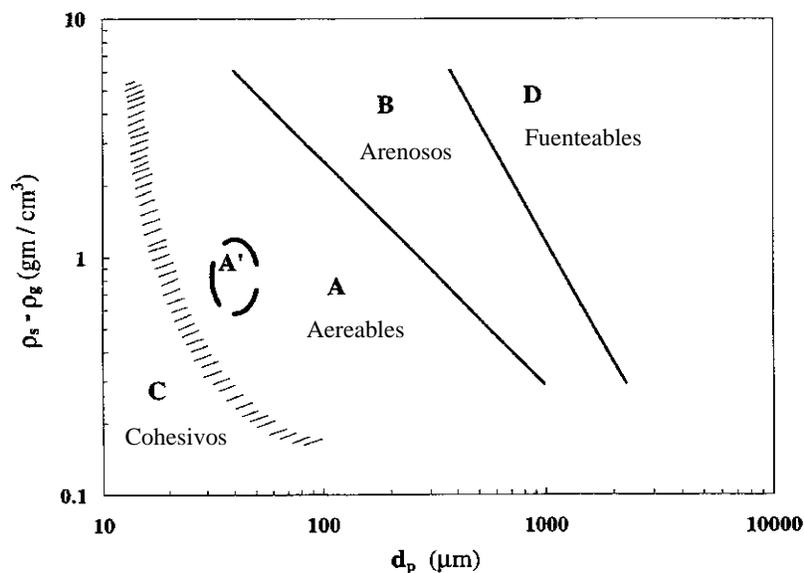
**Figura 2.** Diagrama esquemático de un lecho fuente (Epstein y Grace, 2011).



**Figura 3.** Formas de fluidización esperada en función del tipo de sólido y el incremento en la velocidad de aireación (Adaptada de Kunii y Levenspiel, 1997).

Conforme a esta clasificación, universalmente aceptada, los sólidos se clasifican como:

- “**Geldart A**”: partículas pequeñas y/o de baja densidad,  $< 1.4 \text{ g/cm}^3$ , algo cohesivas, tipo catalizador;
- “**Geldart B**”: tipo arena, con diámetros de partícula  $40 < d_p < 500 \text{ }\mu\text{m}$ , y densidades  $1.4 < \rho_s < 4 \text{ g/cm}^3$ ;
- “**Geldart C**”: partículas muy finas, cohesivas, tipo talco o harina, extremadamente difíciles de fluidizar;
- “**Geldart D**”: partículas “funteables”, grandes,  $d_p > 1 \text{ mm}$ , densas,  $\rho_s > 4 \text{ g/cm}^3$ , tipo granos y/o semillas.



**Figure 4.** Clasificación de Geldart para partículas en contacto con aire en condiciones ambientales (Adaptada de Kunii y Levenspiel, 1997).

## Regímenes de Fuenteado y Fluidización

Es posible establecer una comparación entre el “funteado” y la fluidización de sólidos, observando las características, diferencias y similitudes de ambos procesos. Un lecho fuente es cualitativamente similar a un lecho fluidizado canalizado; sin embargo, en un lecho fuente, la agitación de todo el lecho se consigue por medio del chorro de fluido que produce el contacto íntimo -y deseado- tanto en la fase diluida como en la fase densa. La canalización es un fenómeno indeseable en un lecho fluidizado. Madonna *et al.*, (1961) proponen que "la

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales

canalización es un *bypass* accidental del gas en el lecho fluidizado, mientras que en el lecho fuente es un *bypass* intencional en un lecho empacado". Si bien las aseveraciones de Mathur (1974) y Arriola (1997) coinciden en que *el fuenteado parece lograr el mismo propósito para las partículas grandes que la fluidización para los materiales finos*, sigue siendo cierto que, para ciertas aplicaciones como la granulación y recubrimiento de partículas, el movimiento cíclico de sólidos en un lecho fuente es una característica importante y única. Asimismo, los lechos fuente permiten un movimiento cíclico muy sistemático de partículas que son demasiado grandes para una lograr una buena fluidización. Un movimiento circulatorio total de partículas podría, sin duda, ser alcanzado en un lecho fluidizado con tubo de tiro, pero no sería tan sistemática como en un lecho fuente (Mathur y Ratcliffe, 1974; Arriola, 1997). Los lechos fuente pueden aplicarse para operaciones mecánicas como esmerilado, mezclado y descascarillado. Finalmente, es importante reconocer otro paralelo entre los lechos fuente y los lechos fluidizados: la región de la alimentación del flujo de aire, situada en el fondo del lecho fluidizado, que consiste en un plato perforado, es una región donde se forman pequeños lechos fuente en miniatura con partículas considerablemente más finas usando una entrada de gas muy pequeña. Según Lefroy y Davidson (1969), y Fakhimi y Harrison (1970), el uso de distribuidores de placas de tamiz para lechos fluidizados da lugar a una formación de lechos fuente por encima de cada agujero y los chorros se rompen en burbujas más arriba del lecho. En la Tabla 1 se presenta un resumen de las características, diferencias y similitudes, entre el fuenteado y la fluidización de sólidos.

**Tabla 1.** Comparación entre el fuenteado y la fluidización de sólidos\*

Característica	Fuenteado	Fluidización
Tamaño de partícula	Granulares, tipo Geldart D (> 1mm)	Finas, tipo Geldart A y B (40-500 $\mu\text{m}$ )
Caída de presión	Baja	Alta
Movimiento de los sólidos	Sistemático cíclico	Prácticamente aleatorio
Coefficientes de transferencia de calor y masa	Grandes	Grandes
Velocidad del fluido	Muy alta	Baja-alta
Tiempo de contacto fluido-sólido	De corto a largo (gran flexibilidad para control)	Largo comparado con lechos fuente convencionales

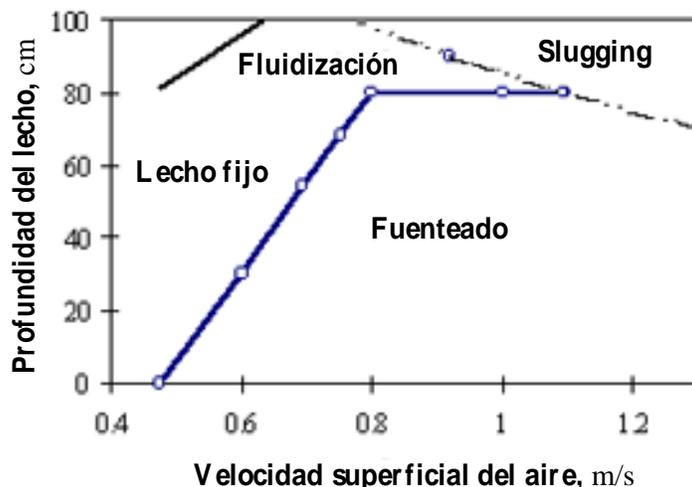
\*Mathur y Epstein "Spouted Beds", Academic Press New York (1974).

## El Lecho Fuente

El lecho fuente es una técnica para el contacto de fluidos con partículas sólidas. Una de las mayores ventajas de estos sistemas de contacto fluido-sólido radica en el hecho de que son capaces de manejar partículas sólidas de gran tamaño ( $> 10^{-3}$  m), las que normalmente resultan muy difíciles de fluidizar. Los lechos fuente, que inicialmente se desarrollaron como un método para el secado de granos (Peterson, 1962; Clary *et al.*, 1970), posteriormente se han utilizado en muchos otros procesos tales como: la separación de sólidos (Van Weert y Van Hasselt, 1997), la granulación (Tsvik, 1967; Parikh, 2005; Schmidt *et al.*, 2014), las reacciones catalíticas (Olazar *et al.*, 1994; Atutxa *et al.*, 2005), tostado de café (Nagaraju *et al.*, 1997), tratamiento térmico para el control de insectos (Banks, 1998 y Beckett, 2000), recubrimiento de partículas (Jones, 2008), encapsulación de aceite esencial de naranja en un secador de lecho fuente fluidizado con sólidos inertes (Velázquez, 2008), pirólisis de poliestireno (Olazar *et al.*, 2005), secado de camarón (Tapaneyasin *et al.*, 2005). Recientemente, se han realizado estudios que demuestran que el secado de microcápsulas en lechos fuente convencionales es un proceso alternativo e interesante para el secado por pulverización, permitiendo obtener propiedades únicas de liberación del fármaco (Marreto *et al.*, 2006); asimismo, se han realizado métodos de monitoreo de secado en lecho fluidizado de gránulos farmacéuticos (Briens y Bojarra, 2010), así como estudios sobre la granulación por fusión en caliente de polvos farmacéuticos gruesos en un lecho fuente (Borini *et al.*, 2009) y, en general, procesos que involucran operaciones de transferencia de calor, masa y reacción química (Arriola, 1997; Guatemala, 2007). La gran mayoría de los diseños de lechos fuente hasta ahora reportados, operan en operaciones por lote, por lo que a sólidos respecta, de una sola etapa, y se refieren a lechos cilíndricos o semi-cilíndricos (Mann y Crosby, 1972; Nagaraju *et al.*, 1997; Benali y Amazouz, 2002; Nagahashi *et al.*, 2002; Bancelos *et al.*, 2004; Souza y Oliveira, 2005; Tapaneyasin *et al.*, 2005; Borini *et al.*, 2009) o lechos fuente cónicos (Olazar *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2002; San José *et al.*, 2005; y Chan *et al.*, 2006).

La operación de *fuenteado* es un fenómeno observable, que ocurre en un cierto rango de velocidad del fluido, para una combinación dada de sólidos, fluido y geometría del recipiente. Un lecho fuente típico tiene una profundidad determinada, que, en el caso de un recipiente cilíndrico, por ejemplo, es generalmente del orden de al menos un diámetro de la columna. La Figura 5 representa un diagrama de fases en el que se muestra, en general, el rango de condiciones de transición desde un lecho fijo, a un lecho fluidizado, a un lecho fluctuante o

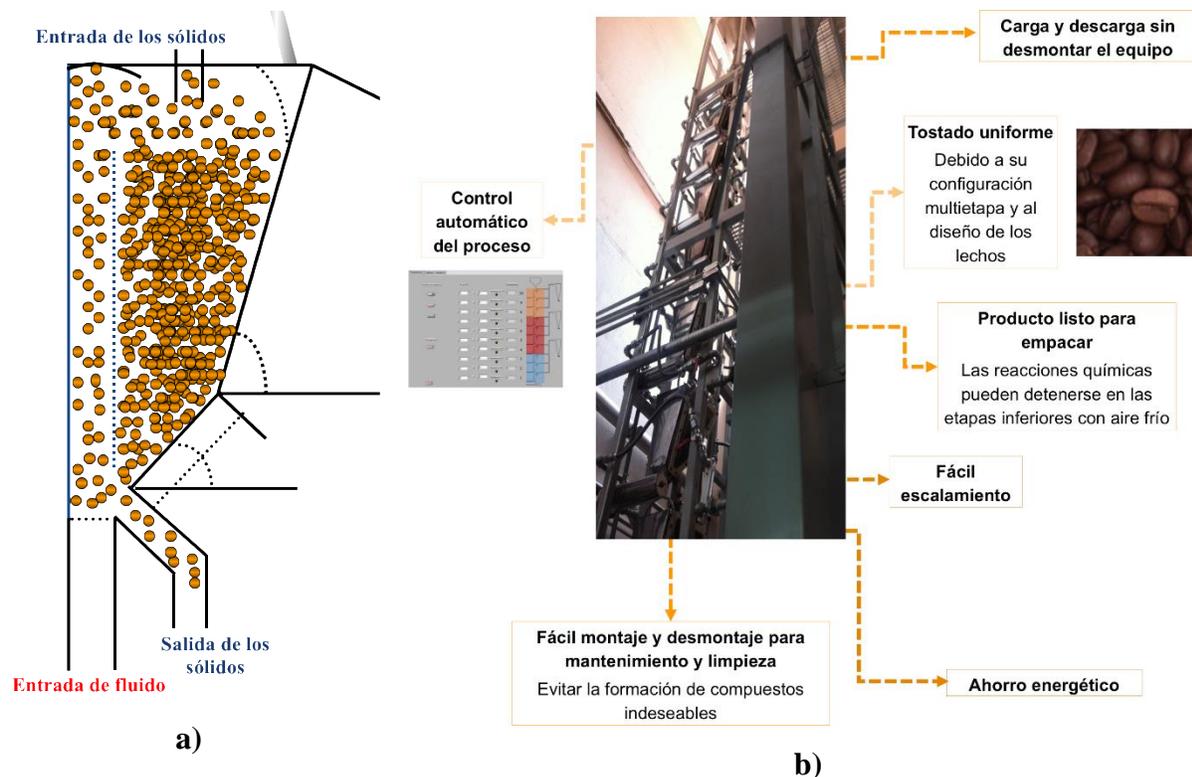
Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales inestable y, finalmente, a un lecho fuente. Se puede observar que el fenómeno de fuenteado ocurre a altas velocidades de fluido y lechos poco profundos.



**Figura 5.** Diagrama de fases para carbón (rango del diámetro de la partícula desde 1 m hasta 5 mm). Adaptado de Dumitrescu y Ionescu (1967).

### El Lecho Fuente de Arriola (2007)

En años recientes, en el CIATEJ-Unidad de Guadalajara. Patente: WO2015088304 A1, se ha venido experimentando con un tostador continuo de lechos fuente en multietapa de diseño original. Por lo novedoso de su diseño (sin zonas muertas ni partes móviles), simplicidad de construcción y facilidad de escalamiento, bajísima caída de presión por etapa debido al uso de tubos de arrastre, estabilidad hidrodinámica, funcionamiento y control, tostado continuo y uniforme, el sistema diseñado inicialmente por Arriola (1997 y 2004) y consolidado posteriormente por Arriola et al., (2007a; 2007b; y 2015) y Guatemala-Morales et al., (2015), presenta claras ventajas sobre diseños anteriores. Las figuras 6a y 6b muestran un esquema de este sistema en una etapa y en multietapa para el tostado de café y el secado de granos y semillas. Los granos son alimentados y extraídos por tubos de igual diámetro; las partículas sólidas entran por gravedad al recipiente (Figura 6a), llenándolo hasta la altura del tubo de arrastre, gracias a un deflector que dirige los sólidos a la parte interior del lecho, junto al tubo de arrastre.



**Figura 6.** Lechos fuente: **a)** Una etapa (Arriola 1997), **b)** Multietapa. Arriola et al., (2007b) y Guatemala-Morales et al., (2015).

Dependiendo de la velocidad de salida de los sólidos, será el tiempo que éstos permanezcan circulando dentro del recipiente. El aire o fluido fuenteante entra por el vértice inferior, empujando a los sólidos, forzándolos a saltar por encima del tubo de arrastre y formando la fuente característica. Dos mallas finas, impiden el paso de sólidos -o polvos finos producto de la trituración o desgaste- a espacios que afectarían el buen funcionamiento del sistema. En este diseño, los sólidos salen del recipiente a través de una válvula que utiliza aire comprimido pulsante como fluido de empuje (Guatemala, *et al.*, 2008). Este sistema se ha utilizado principalmente como un secador de partículas (granos de cacao, café y semillas de cítricos), estudiando la influencia de factores tales como la temperatura (García-Herrera *et al.*, 2008) y el flujo de sólidos (Santoyo *et al.*, 2010; Guatemala *et al.*, 2008; y Guatemala *et al.*, 2012). Además, se han presentado modelos para la cinética de secado de granos de cacao (Virgen *et al.*, 2011) y café (Virgen *et al.*, 2016a y 2016b). El sistema puede ser útil para muchas otras aplicaciones; por ejemplo, se han hecho estudios preliminares de tostado de café en el sistema, proceso que

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales implica muchas reacciones químicas. En la Figura 6b, se muestra una fotografía del sistema de lechos fuente utilizado para el tostado de café. Esta configuración permite tener en la parte superior, etapas de precalentamiento del grano, en la parte intermedia las zonas de reacción química (tostado) con temperaturas de aire más elevadas, y en la parte inferior una zona de enfriamiento para detener el curso de las reacciones químicas y obtener el café con el grado de tostado deseado.

## **Los lechos fluidizado y los lechos fuente en la industria farmacéutica y alimentaria.**

### *1. Secado/tostado*

Una de las aplicaciones más comunes para los lechos fluidizados y los lechos fuente es el secado de partículas sólidas, la experiencia en este tenor es considerable y muy variada; aquí unos ejemplos:

- Shuhama, *et al.*, (2003), trabajaron en el estudio de un nuevo método para la producción de polvos de achiote mediante el secado de los extractos acuosos alcalinos en un lecho fuente.
- El secado en lecho fluidizado de agentes de biocontrol encapsulados, tales como hongos, levaduras, o toxina proteica de *Bacillus thuringiensis* que produce gránulos que se secan rápida y homogéneamente de una manera rentable (Brar *et al.*, 2006).
- Recuperación de fármacos de la clase BCS II durante la re-dispersión acuosa de partículas de nano compuestos de tipo núcleo-cáscara producida a través de recubrimiento de lecho fluidizado (Bhakay *et al.*, 2013).
- Zielinska y Markowski (2007), realizaron un estudio sobre el comportamiento del secado zanahorias secadas en lecho fuente-fluidizado.
- Guatemala, (2007); García Herrera, *et al.*, (2008); Guatemala *et al.*, (2010); Virgen, (2011); y Arriola *et al.*, (2014 y 2015), llevaron a cabo el estudio de secado y tostado de semillas de limón, maíz, cacao y café en un lecho fuente de original diseño.

El proceso de tostado de café es otra aplicación muy frecuente de los lechos fuente, ya que estos tienen un buen mezclado y un contacto efectivo fluido-partícula, que posibilita el uso de aire de calentamiento a altas temperaturas y periodos cortos de tiempo, proporcionando un producto

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales tostado uniformemente y limpio (Nagaraju, *et al.*, (1997); Guatemala, (2007); y Arriola *et al.*, (2015)). Al someter a los granos de café a las altas temperaturas por diferentes periodos de tiempo, se obtendrá un producto con diferentes características, ya que en el proceso de tostado existen cambios físicos, químicos, estructurales y, sobre todo, sensoriales (Sievetz, 1991). El cambio en el color del grano durante el proceso de tostado es un buen parámetro indicador del avance de las reacciones, así como del estilo de tostado que se pretende alcanzar. La temperatura del inicio del tostado de café, oscilará entre 170°C, (Yeretzian *et al.*, 2002), el rango de temperatura de 180-190°C (Guatemala, 2007); o bien los 250°C, (Shimoni y Labuza, 2000), hasta 310°C (Nagaraju, *et al.*, 1997). Finalmente, en años recientes se realizó el modelado matemático del cambio del color del grano de café durante el tostado y la estimación del coeficiente de difusividad durante el tostado de café en un lecho fuente multietapa (Virgen *et al.*, 2016 a y 2016 b).

## 2. Granulación

Existe una tendencia a la obtención de compuestos bioactivos a partir de fuentes naturales como son semillas, plantas, matrices alimentarias y residuos agroindustriales. Es así que se crea la necesidad de proteger esos componentes activos para integrarlos a nuevos productos de uso alimentario, farmacéutico y/o cosmético, asegurando que mantengan su efectividad. Uno de los factores más importantes para el éxito en la incorporación de bioactivos lo constituye la elección de la matriz, las preferencias y necesidades del consumidor a los que van destinados, además de que cumpla con las expectativas de beneficio esperado. No todos los compuestos bioactivos pueden ser adicionados a cualquier matriz, puesto que su estabilidad depende de la misma, así como sus efectos sobre la naturaleza y calidad del mismo, ya que influyen en forma significativa en la viabilidad del proceso y en la aceptación por el consumidor. Entonces, ¿Que hacer para es proteger los componentes activos que se obtienen de los procesos de extracción?

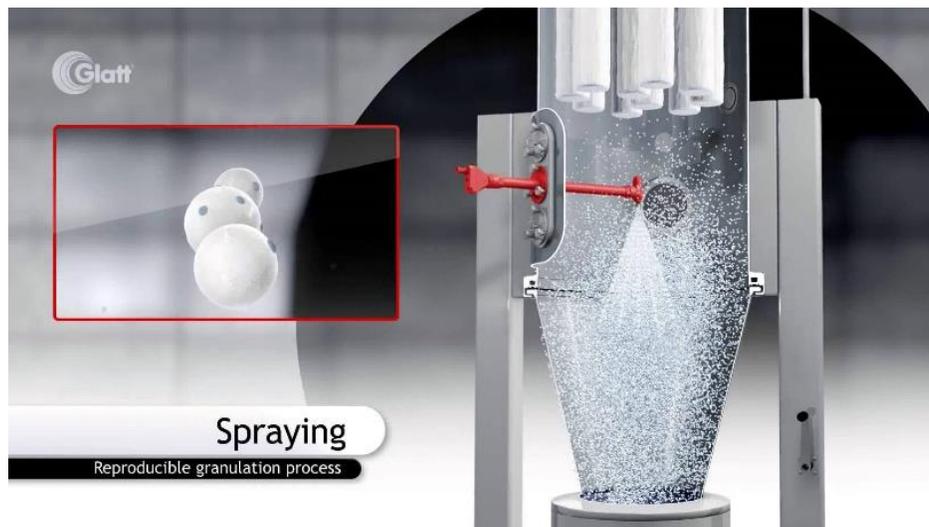
La técnica de encapsulación de extractos se ha convertido en el proceso más socorrido para la protección de estos compuestos bioactivos, posterior a la encapsulación existe la posibilidad de obtener polvos muy finos, difíciles de manejar, por lo que se recurre a un proceso de granulación. Las partículas granuladas o aglomeradas son más deseables que los polvos finos por varias razones (Srivastava y Mishra, 2010), entre otras:

- Mejorar la fluidez.
- Mejorar la compresibilidad de las tabletas.
- Reducir el polvo para el operador y la seguridad ambiental.
- Incrementar la dispersabilidad.
- Optimizar la uniformidad combinando todos los ingredientes

Las técnicas de granulación utilizando lechos fluidizados consisten en: Secado por aspersión por arriba y aspersión tangencial; estos son los métodos elegidos típicamente para la granulación. La Figura 7 muestra el lecho fluidizado fabricado por Glatt® en donde el proceso de granulación es por aspersión hacia arriba (también existe el proceso por aspersión en el fondo).

El proceso por aspersión superior tiene tres componentes:

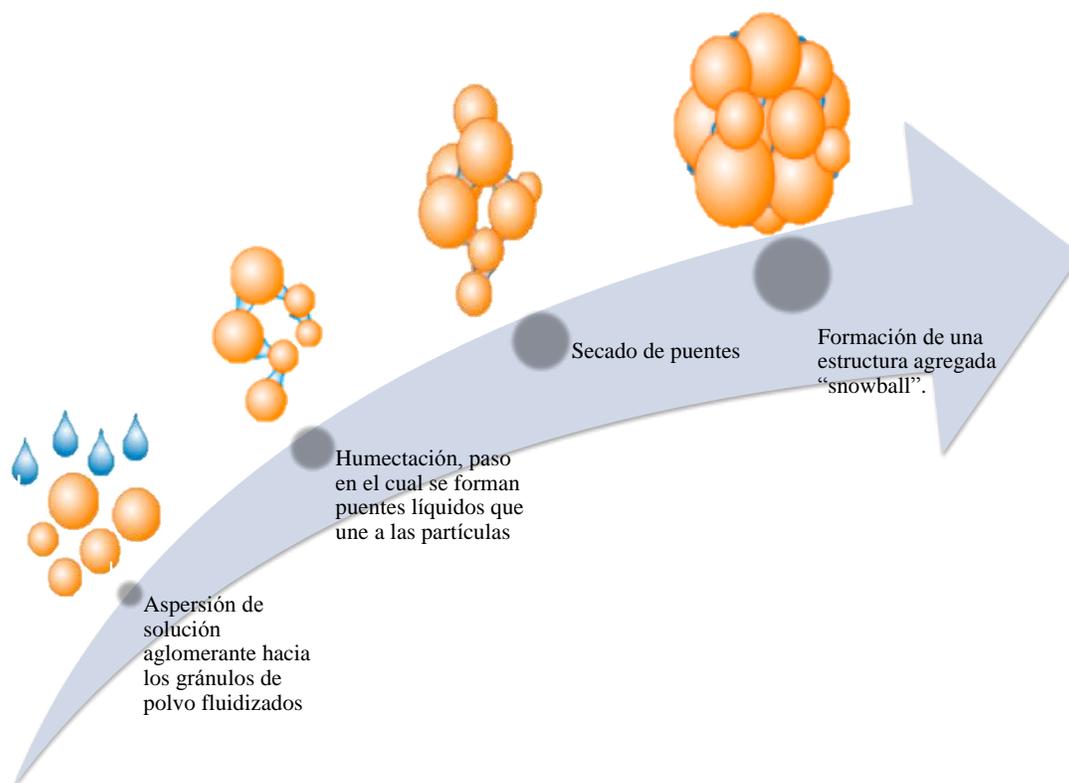
1. Un sistema de tratamiento de aire, que puede equiparse con humidificación o des humidificación y control del punto de rocío.
2. Un contenedor de producto y una cámara de expansión.
3. Un sistema de escape (incluyendo la carcasa del filtro del procesador).



**Figura 7.** Lecho fluidizado para granulación por aspersión superior (Glatt®, 2017).

El proceso de aglomeración por aspersión en lecho fluidizado, también conocido como “granulación” en lecho fluido, consiste en que los polvos que se encuentran en un estado

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales fluidizado son rociados con una solución o suspensión de aglutinante (también conocido como agente ligante) sobre las partículas fluidizadas, creando puentes líquidos que hacen que las partículas se adhieran formando aglomerados a partir del polvo (Figura 8). En la Tabla 2 se proponen algunas de las sustancias empleadas como ligantes en función de su naturaleza orgánica o inorgánica (García, 2010).



**Figura 8.** Proceso de granulación húmeda (adaptado de Srivastava y Mishra, 2010).

Las variables de proceso para el método de granulación por aspersión superior incluyen la velocidad de adición de líquido, la temperatura del aire de entrada, el volumen de aire de fluidificación, la humedad del aire de proceso y la presión de aire de atomización. Debe tenerse en cuenta que el volumen de aire de atomización es la variable clave, aunque a menudo se mide por presión de aire de atomización (Gu *et al.*, 2004).

Tan pronto como se alcanza el tamaño deseado de los aglomerados, la atomización se detiene y el líquido se evapora. Las estructuras creadas por los puentes líquidos se mantienen entonces

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales mediante enlaces aglomerantes sólidos. Cualquiera que haya sido el líquido en el interior de los aglomerados es ahora vacío como tal, permitiendo tamaño y porosidad modificadas de los aglomerados para su cumplir con su función. Para compresión en mesas o aplicaciones de bebidas instantáneas de disolución rápida. La falta de energía cinética en la zona de aglomeración resulta en estructuras ligeras con una gran cantidad de capilares internos.

**Tabla 2.** Ejemplos de ligantes orgánicos e inorgánicos empleados en aglomeración\*

<b>Orgánicos</b>	<b>Inorgánicos</b>
Lignosulfonatos	Silicatos
Almidón	Alúmina
Melazas	Arcillas
Alginatos	Hidróxido sódico
Serrin	Sílice
Carboxi-metilcelulosa	Cemento Portland
Poli-etilenglicol	Bentonita
Gomas	Yeso
Caseinatos	Cal
	Cemento sorel

\*(García, 2010)

La aglomeración por aspersión por arriba y la tangencial son típicamente los métodos elegidos para la granulación. Las condiciones del proceso en la técnica de aglomeración de fondo se pueden ajustar para producir gránulos.

Son importantes, asimismo, los estudios de la capacidad del lecho fluidizado para diseñar gránulos con propiedades fármaco-técnicas, así como físico-químicas, adecuadas para la encapsulación de compuestos bioactivos de extracto de hierbas (Benelli *et al.*, 2014); otros trabajos se enfocan en la investigación acerca de la influencia de las condiciones de secado sobre la generación de exceso de pulverización, las características del producto y la estabilidad del proceso (Schmidt *et al.*, 2014). Se han propuesto diversos modelos matemáticos que permiten una descripción de la tasa de crecimiento de los gránulos dependiendo del tamaño de partícula. Los resultados numéricos, relativos a la evolución dinámica del tamaño de partícula durante la

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuenteado. Arriola Guevara y Guatemala Morales  
granulación en húmedo, se validan con datos experimentales obtenidos en un granulador de lecho fluidizado a escala laboratorio (Hoffmann *et al.*, 2010).

Asimismo, el proceso de granulación es, en general, un proceso por lote, por lo que se está trabajado en el desarrollo de procesos en continuo que reduzcan los costos, mejoren la eficiencia, busquen la utilización óptima de los equipos y sean flexibles en su capacidad de producción. Es así que se está estimulando a la industria farmacéutica a investigar las oportunidades que ofrecen los procesos continuos. Vervaet y Remon, (2005) han trabajado en las técnicas que podrían ser implementadas en un proceso de granulación continua de productos farmacéuticos.

### 3. *Recubrimiento*

El empleo de un lecho fluidizado/fuente para el recubrimiento de partículas es un método alternativo a las pailas/bombos de recubrimiento; este método otorga las características de mezclado y secado de manera simultánea, características que son requeridas para el proceso de recubrimiento pelicular. La tecnología del lecho fluidizado/fuente puede lograr un recubrimiento uniforme y rápido, utilizando aire para mezclar, recubrir y secar el sustrato, todo al mismo tiempo. Esta tecnología tiene su origen en los secadores de los lechos fluidizados utilizados para operaciones de secado de polvo húmedo. El equipo de lecho fluidizado fue modificado para recubrir comprimidos como tecnología de innovación alternativa. Sin embargo, estas modificaciones no fueron populares para recubrimientos de comprimidos. De acuerdo con Colorcon (2017), el mayor interrogante durante el recubrimiento de comprimidos utilizando el lecho fluidizado (si se lo compara con un proceso de recubrimiento en una paila/bombo), es la alta friabilidad y la apariencia del núcleo debido al estrés físico al que se somete durante el proceso de fluidización.

El recubrimiento en lecho fluidizado se fue tornando más común para sistemas de recubrimiento de multiparticulados como gránulos y semillas. La Figura 9 muestra el proceso de recubrimiento por lecho fluidizado. En dicha figura, se puede observar como la partícula que se encuentra suspendida en el aire se impregna con gotitas de líquido, mismo se evapora permitiendo el depósito de la sustancia protectora sobre la superficie.

Al igual que en la granulación la aspersion del material de cubierta se puede realizar por arriba,

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales abajo o tangencialmente. Cada año, toneladas de polvos de alimentos se requieren con algunas propiedades específicas que el producto natural no ofrece.



**Figura 9.** Lecho fluidizado para granulación por aspersión superior (Glatt®, 2017).

La encapsulación ofrece un medio para satisfacer esta demanda. La encapsulación es un proceso en el que se aplican películas delgadas o polímeros (capa o envoltura) a pequeñas partículas sólidas, gotitas de líquido o gases para una variedad de propósitos estéticos y protectores. Más aún, la encapsulación de polvos alimentarios puede (Dezarn, 1995; Dewettinck *et al.* 1998 y 1999; Beristain *et al.*, 1996; y Barbosa *et al.*, 2000):

- Separar los componentes reactivos dentro de una mezcla;
- enmascarar los vapores indeseables;
- proteger ingredientes inestables de factores de degradación (calor, humedad, aire y luz);
- proporcionar una liberación controlada o retardada y reducir la higroscopicidad;
- ayudar a cambiar las características físicas del material original, tales como fluidez y compresión, reducción de polvo y modificación de densidad.

Dada la importancia y amplia variedad de aplicaciones, tanto para la industria farmacéutica como para la alimenticia, han surgido patentes relacionadas a métodos de recubrimiento de

Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales comprimidos por aspersion, partiendo de una solución a los comprimidos en suspensión en un lecho fluidizado (Kuramoto *et al.*, 1995; Ris, 2014 y Hoppu *et al.*, 2014).

## Conclusión

La aplicación de los lechos fluidizados y de los lechos fuente en el campo de la industria farmacéutica y alimentaria donde lo que se busca es la protección de compuestos bioactivos con alto valor agregado, es un tópico rico a explorar; el reto es, ahora, superar los obstáculos que se presentan con la combinación de parámetros entre los que encontramos, entre otros, el diseño particular del equipo, su esquema de contacto, la aplicación que se le desee dar, las condiciones de operación, así como la selección de materiales encapsulantes, aglutinantes y la peculiaridad del material a encapsular.

## Referencias

- Arriola Guevara, E. Residence Time Distribution of Solids in Staged Spouted Beds. Ph.D. Thesis, Oregon State University, September 1997.
- Arriola Guevara, E.; Cruz-Fierro, C.F.; Hamed Alkhalidi, K.; Reed, B. P.; Jovanovic, G. Residence Time Distributions in Staged Spouted Beds. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. **2004**. Volume 82, 94-101.
- Arriola Guevara, E.; Guatemala Morales, G.M.; Garcia Herrera, T.; García Fajardo, J.A. Análisis de Modelos de Lechos Fuente en Multietapa, utilizando la Distribución del Tiempo de Residencia de los Sólidos. *Inf. Tecnol.* [Online] **2007a**, vol.18, n.1, pp.147-160.
- Arriola Guevara, E.; Guatemala Morales, G.M.; García Fajardo, J.A. Dispositivo para el procesamiento de sólidos mediante la aplicación de gases o vapores. Patente otorgada 20 de noviembre del 2011. IMPI. MX/a/2007/016571. Folio MX/E/2007/085606. **2007b**.
- Arriola, E.; Virgen, L.; Herrera, E.J.; García, J.A.; Corona, R.I.; Guatemala, G.M. Heat and mass transfer zones recognition in a continuous multistage spouted bed during coffee beans drying. Proceedings of 19th International Drying Symposium IDS 2014, August 24-27, 2014, Lyon, France. [CD]. Editores: Andrieu Julien, Peczalski Roman, Vessot Severine, **2014**, pp. 1-5.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales
- Arriola, E.; Virgen, L.; Ruiz-Palomino, P.; Corona R.I.; Guatemala, G. Mathematical Modeling of bean roasting in a novel spouted multistage system. 10th European Congress Of Chemical Engineering +3rd European Congress ff Applied Biotechnology and 5th European Process Intensification Conference. ECCE10 + ECAB3 + EPIC5. 27 of September to the first of October del **2015**, Nice, France.
- Atutxa, A.; Aguado, R.; Gayubo, A. G.; Olazar, M.; Bilbao, J.. Kinetic Description of the Catalytic Pyrolysis of Biomass in a Conical Spouted Bed Reactor. *Energy Fuels*, 2005, 19 (3), pp 765–774.
- Bhakay, A.; Davé, R.; Bilgili, E: Recovery of BCS Class II drugs during aqueous redispersion of core–shell type nanocomposite particles produced via fluidized bed coating. *Powder Technology*. **2013**. 236. 221–234
- Banks, H. J. Prospects for heat disinfestations, Stored Grain Research Laboratory, CSIRO Entomology. **1998**. GPO Box 1700, Canberra, ACT 2601, [http://www.sgrl.csiro.au/aptc1998/50\\_banks.pdf](http://www.sgrl.csiro.au/aptc1998/50_banks.pdf).
- Bacelos, M. S.; Spitzner, P.I.; Silveira, A.M.; Freire, J.T. Analysis Of Drying Of Pastes In Spouted Beds, Proceedings of the 14th International Drying Symposium, São Paulo, Brazil. 2004. C, 1537-1544.
- Benelli, L.; Cortés-Rojas, D.F.; Souza, C.R.F.; Oliveira. W.P. Fluidized bed drying and agglomeration of herbal extract compositions. 19th International Drying Symposium. Lyon, France, August 24-27, 2014.
- Barbosa, A., et al. Microcápsulas: uma alternativa viável [en línea]. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* (16). 2000, pp. 26-30. <http://www.biotecnologia.com.br/novas.html>.
- Beckett, S. J. Y Wright, E. J. Increasing Heating Rate and Decreasing Disinfestation Temperature for More Affordable Heat Disinfestation Of Grain, Stored Grain Research Laboratory, CSIRO Entomology. **2000**. G.P.O. Box 1700, Canberra, A.C.T 2601, Australia.
- Beristaín, C., et al. Encapsulation of Orange Peel Oil by Co-crystallization. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. **1996**. Vol. XXIX, (7), pp. 645-647.
- Borini, G.B.; Andrade, T.C.; Freitas, L.A.P. Hot melt granulation of coarse pharmaceutical powders in a spouted bed. *Powder Technology*. **2009**. 189, 520–527.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales
- Brar, S.K.; Verma, M.; Tyagi, R.D.; Valero, J.R. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Process Biochemistry*. **2006**. 41:323-342.
- Briens, L. and M. Bojarra. Monitoring Fluidized Bed Drying of Pharmaceutical Granules. *AAPS PharmSciTech*, Vol. 11, No. 4, pags. 1612-1618.
- Clary, B. L.; Agrawal, K. K.; G. L. Nelson. Simultaneous Heat And Mass Transfer From Peanuts In A Spouted Bed. Meeting Amer. Soc. Of Agr. Eng..**1970**. Chicago, Paper No. 70-308. ASAE, St. Joseph, Michigan.
- Chan L. W.; Tang E. S. K.; Heng, W. S. P. Comparative Study of the Fluid Dynamics of Bottom Spray Fluid Bed Coaters, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **2006**. 7(2), Article 372006, E1-E9.
- Colorcon, 2017. <https://www.colorcon.com/spanish/products-formulation/process/fluid-bed-coating>.
- Dumitrescu, C.; Ionescu, D. The Spouted Bed, An Aspect Of The Fluidized Bed. *Rev. Chim.* (Bucharest). 1967. 18, 552.
- Dewettinck, K. et al. Agglomeration tendency during Top-Spray fluidized bed coating with gums. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. Vol. XXXI (6), 1998, pp. 576- 584.
- Dewettinck, K.; Messens, W.; Deroo, L.; Huyghebaert, A. Agglomeration tendency during top-spray fluidized bed coating with gelatin and starch hydrolysate. *Lebensmittel Wissenschaftund-Technologie*. **1999**. 32:102-106.
- Epstein, N. y Grace, J.R. Spouted and Spot-Fluid Beds. Fundamental and aplicaciones. Cambridge University Press. Published in the United States of America, New York. 2011.
- Fakhimi S. y Harrison, D. Multi-orifice distributors in fluidized beds: A guide to design. "Chemeca 70" Chem. Eng. Conf., Australia. 1970. Paper No. 1.3. Inst. Chem. Eng., London.
- García Triñanes, P. Avances en Aglomeración y Compactación de Partículas. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela. 2010.
- García Herrera, T.; Guatemala Morales, G.; Arriola Guevara, E.; García Fajardo, J. A. Influence of temperature and flow of solids on the drying process of Mexican lime seeds using a multi-stage spouted bed system. 16th International Drying Symposium. (IDS 2008). Hyderabad, India 9-12 November 2008. *Drying* **2008**, Volume C, 1551-1558.
- Geldart, D. Types of gas fluidization. *Powder Technology*. **1973**, 7, 285-292.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales
- Gu L, Liew CV, Heng PW. Wet spheronization by rotary processing: a multistage single pot process for producing spheroids. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2004**; 30: 111-123. [www.engineering.uakron.edu](http://www.engineering.uakron.edu); Accessed on 15.11.2010.
- Guatemala Morales, G.M. Tostado de café (*coffea arabiga*) utilizando un sistema de lechos fuente en multietapa. Tesis doctoral. Universidad de Guadalajara. 2007.
- Guatemala Morales G.M.; Arriola Guevara, E.; García Fajardo, J.A. Dispositivo no mecánico para el control de flujo de sólidos granulares mediante la inyección intermitente de aire o gas. Patente Otorgada en febrero del 2017. Solicitud: MX/a/2008/016567. **2008**.
- Guatemala, G.; Virgen, L.; Orozco, I.; Arriola, E. Preliminary Studies of Drying Cacao Beans in a Novel Continuous Multistage Spouted Bed System. 17th International Drying Symposium (IDS 2010), Magdeburg, Germany. *Drying* **2010**. Vol. C, 1623-1628.
- Guatemala, G.; Santoyo, F.; Virgen, L.; Corona, R. I.; Arriola, E. Hydrodynamic model for the flow of granular solids in the s-valve. *Powder Technology*. **2012**. Vol. 230, Pages 77–85.
- Guatemala Morales G.M.; Arriola Guevara, E.; García Fajardo, J.A.; Orozco Avila, I.; Rodriguez Gonzalez, E.; Alba Rangel, A. Vertical, Multi-Stage, Pneumatic System for the Continuous Processing of Solids Using Air, Gases And/Or Vapours. Applicants: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. [MX/MX]; Av. Normalistas 800, Colinas de la Normal Guadalajara, Jalisco 44270 (MX). Universidad De Guadalajara [MX/MX]; Av. Juárez 976, Col. Centro, Guadalajara, Jalisco 44100 (MX). Pub. No.:WO/2015/088304. **2015**.
- Hoffmann, T.; Peglow, M.; Tsotsas, E. Investigation of Process Dynamics In Fluidized Bed Granulation. 17th International Drying Symposium (IDS 2010) Magdeburg, Germany, 3-6 October, 2010.
- Hoppu Pekka, Tommi KÄÄRIÄINEN, Marja-Leena KÄÄRIÄINEN, Aimo Turunen. A method for coating pharmaceutical substrates. Número de publicación: WO2014044907 A1 (2014). Solicitante: Pekka Hoppu, Kaeeriaeinen Tommi, Kaeeriaeinen Marja-Leena, Aimo Turunen.
- Jones, D. Air Suspension Coating for Multiparticulates Drug Development and Industrial Pharmacy. Published on line **2008**, 20(20), 3175-3206.
- Kunii, D. y O. Levenspiel. *Fluidización Engineering*; Butterworth-Heinemann: Boston, United States of America, 1997.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales
- Lefroy, G. A. y Davidson, J. F. The Mechanics Of The Spouted Beds. Trans. Inst. Chem. Eng. **1969**. 47, T120.
- Madonna, L. A.; Lama, R. F.; and Brisson, W. L. Solids-Air Jets. B. Chem. Eng. **1961**. 6, No 8, 524.
- Mann, U.; Crosby, E. J. Modeling Circulation Of Solids In Spouted Beds. Ind. Eng. Chem. Process Des. Develop. **1972**. 11, No 2, 314.
- Marreto, R. N.; Freire, J. T.; Freitas, L. A. P. Drying of Pharmaceuticals: The Applicability of Spouted Beds. Drying Technology. **2006**. 24: 327–338,
- Mathur, K.B. y N. Epstein. *Spouted Bed*; Academic Press, New York, 1974.
- Mathur, K. B y Ratcliffe, J. S Discussion. International Symposium on Spouted Beds. Can. J. Chem. Eng. **1974**. 52, 206.
- Nagaraju, V. D.; Murthya, C. T.; Ramalakshmia, K.; Srinivasa, P. N. Studies on Roasting of Coffee Beans in a Spouted Bed. Journal of Food Engineering. **1997**. 31, Issue 2, 263-270.
- Nagahashi, Y.; Grace, J. R.; Lee, D.; SungKyunKwan, H. Enhancement of Spouting and Solids Circulation of a Gas-Spouted Bed by Addition of Small Quantities of Liquid. 52nd Canadian Chemical Engineering Conferences, October, 2002.
- Olazar, M.; San Jose, M. J.; Zabala G.; Bilbao, J. A New Reactor in Jet Spouted Bed Regime for Catalitic Polimerizations, Chem Eng. Sci. **1994**. 49, 4579-4588.
- Olazar, M; San Jose, M. J.; Alvarez, S.; Morales, A.; Bilbao, J. Measurement of Particle Velocities in Conical Spouted Beds Using an Optical Fiber Probe, Ind. Eng. Chem. Res. **1998**. 37, 4520-4527.
- Olazar, M.; Aguado, R.; Vélez, D.; Arabiourrutia, M; Bilbao, J. Kinetics of Scrap Tire Pyrolysis in a Conical Spouted Bed Reactor. Ind. Eng. Chem. Res. **2005**. 44, 3918-3924.
- Parikh, D. M. Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology. Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Taylor & Francis Group, LLC. Executive Editor. James Swarbrick. PharmaceuTech, Inc. Pinehurst, North Carolina. United States of America, 2005.
- Peterson, W. S. Spouted Bed Drier. Can. J. Chem. Eng. **1962**. 40, 226.
- Ris, J. P. Fluid Bed Apparatus for Coating Solid Particles. Patente: número de publicación: US 8,863,686 B2 (2014). Solicitante: GEA Pharma Systems AG.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales  
San José, M. J.; Olazar, M.; Alvarez, S.; Morales A.; Bilbao, J. Local Porosity In Conical Spouted Beds Consisting Of Solids Of Varying Density, **Chemical Engineering Science**, **2005**. 60, 7, 2017-2025.
- Schmidt, M.; Bück, A.; Tsotsas, E. Experimental Investigation of Continuous Fluidized Bed Spray Granulation With Internal Classification. 19th International Drying Symposium (IDS 2014) Lyon, France, August 24-27, 2014.
- Santoyo, F.; Guatemala, Morales, G.M. Orozco, I.; Arriola Guevara, E. La válvula-S: modelado del flujo de sólidos granulares utilizando números adimensionales. The S-valve: modeling granular solids flow using dimensionless numbers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. **2010**. Vol. 9, No. 2. 179-188.
- Shimoni, I.; Labuza, T.P. Degassing Kinetics and Sorption Equilibria of Carbon Dioxide in Fresh Roasted Ground Coffee. *J. Food Engineering*. **2000**. Vol. 23, 419-436.
- Srivastava, S.; Mishra, G. Fluid Bed Technology: Overview and Parameters for Process Selection. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. **2010**; 2(4): 236-246.
- Shuhama, I. K.; Aguilar, M.L.; Oliveira, W.P.; Freitas, L.A.P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. *Journal of Food Engineering*. **2003**. Vol. 59, Issue 1, 93-97.
- Sievetz, M. Proceeding, international conference on coffee science: growth in use of automated fluid bed roasting coffee beans, *ASIC* **1991**. 313-317.
- Souza, C. R.; Oliveira, W. P. Spouted Bed Drying of Bauhinia Forficata Link Extract: The Effects of Feed Atomizer Position and Operating Conditions on Equipment Performance and Product Properties, *Brazilian J. Chem. Eng.* **2005**. 22, 239-247.
- Tapaneyasin, R.; Devahastin, S.; Tansakul, A. Drying Methods And Quality Of Shrimp Dried In A Jet-Spouted Bed Dryer, *Journal of Food Process Engineering*, **2005**. 28, 35-52.
- Van Weert G. y Van Hasselt J. B. *Countercurrent Flow of Dissimilar Solids in a Vertical Multistage, Spouting Bed Configuration*, paper presented at The Richard Mozley Memorial Symposium, Falmouth, Cornwall, U. K., **1997**. June 4-5.
- Velázquez Contreras C. Encapsulación de aceite esencial de naranja en un secador de lecho fuente fluidizado con sólidos inertes. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, 2008.

- Procesamiento de sólidos granulares en las industrias farmacéuticas y alimentaria: Fluidización y fuentado. Arriola Guevara y Guatemala Morales
- Vervaet, C.; Remon, J. P. Continuous granulation in the pharmaceutical industry. *Chemical Engineering Science*. **2005**. 60, 3949–3957.
- Virgen Navarro, L. Secado de Granos por Medio de un sistema de lechos fuente en multietapa. Tesis de Maestría. Universidad de Guadalajara. 2011.
- Virgen, L.; Herrera, E.J.; Corona, R.I.; Arriola, E.; Guatemala, G. Neuro-fuzzy model based on digital images for the monitoring of coffee bean color during roasting in a spouted bed. *Expert Systems With Applications*. **2016a**. Vol. 54, 15, 162–169.
- Virgen Navarro, L.; Herrera López, E.J.; Espinosa Andrews, H.; Guatemala Morales, G.M.; Corona González, R.I.; Arriola Guevara; E. Estimación del coeficiente de difusividad durante el tostado de café en un lecho fuente utilizando un modelo difuso. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. **2016b** Vol. 15, No. 2, 513-524.
- Wang, Z. G.; Bi, H. T.; Lim, C. J. Minimum Spouting Velocities in Conical Spouted Beds. 52nd Canadian Chemical Engineering Conferences, October, 2002.
- Yeretzian, C.; Jordan, A.; Badoud R.; Lindinger, W. From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *Eur Food Res Technol*. **2002**. Vol. 214, 92-95.
- Zielinska, M; Markowski, M. Drying Behavior of Carrots Dried in a Spout–Fluidized Bed Dryer. *Drying Technology*. **2007**. Vol. 25, Issue 1, 261-270.

# 19. OPORTUNIDADES PARA EL DESARROLLO DE LOS NANOALIMENTOS EN MÉXICO

**I. Higuera-Ciapara**

**E. Lugo-Cervantes**

**Unidad de Tecnología de Alimentos, CIATEJ**

**Martínez-Benavidez**

**Unidad de Servicios Analíticos y Metrológicos, CIATEJ**

[inohiguera@ciatej.mx](mailto:inohiguera@ciatej.mx)

## **El mercado de los nanoalimentos**

Nano-alimento es un término que se refiere al uso de técnicas, materiales o herramientas de la nanotecnología en cualquiera de las etapas de la cadena productiva (cultivo, producción, procesamiento, envasado, comercialización o consumo de alimentos). La aplicación de la nanotecnología en los alimentos tiene un gran impacto en su funcionalidad, vida de anaquel, trazabilidad, calidad e inocuidad debido a las características multifuncionales que pueden exhibir los nanomateriales cuando se incorporan a las matrices alimentarias (Chaudhry *et al.*, 2008, Sodano *et al.*, 2016). Esta nueva categoría de alimentos nació hace unos 20 años pero ha tenido un ritmo acelerado de crecimiento debido a que se han identificado numerosas aplicaciones en prácticamente todos los segmentos de la cadena agroalimentaria (Duncan, 2011), destacando las siguientes áreas:

- 1.- Agricultura: Nanoencapsulación de pesticidas, fertilizantes, herbicidas o de nuevos agentes de biocontrol.

- 2.- Suplementos nutrimentales: Encapsulación de compuestos bioactivos dirigidos a sitios específicos, ya sea para fines de terapia o de nutrición. Además, se puede mejorar la estabilidad y biodisponibilidad de los compuestos encapsulados.
- 3.- Envases mejorados, activos o “inteligentes”: Los nanomateriales embebidos en los polímeros utilizados para envases, las nanopelículas y otros nanodispositivos pueden prolongar la vida de anaquel vía la protección contra el oxígeno, la luz UV, entregar agentes antimicrobianos e indicar el fin de la vida útil de un producto, entre otras aplicaciones. Asimismo, los biosensores pueden utilizarse en la detección rápida y oportuna de microorganismos patógenos y contaminantes para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos.
- 4.- Procesamiento de los alimentos: Nanoencapsulamiento de sabores y aromas, uso de nanoemulsiones y formulación de nuevos agentes gelificantes y moduladores de la viscosidad, textura u otras propiedades organolépticas.

A nivel mundial, la tendencia de crecimiento en la disponibilidad y consumo de nanoalimentos se ha incrementado de manera notable. Esto ha ocurrido sobre todo en Estados Unidos de América, algunos países latinoamericanos y países asiáticos como Japón y China. Se estima que más de 400 compañías alrededor del mundo están desarrollando aplicaciones de nanotecnología en alimentos (Bumbudsanpharoke y Ko, 2015). De acuerdo a algunos reportes, el mercado de productos que utilizan nanoestructuras seguirá creciendo y se estima que la industria global de nanotecnología alcanzará los \$3 trillones de dólares en 2020 (Duncan, 2011). Tan sólo para el sector de envases de alimentos y bebidas se pronostica que el crecimiento será de \$15 billones de dólares (Trujillo *et al.* 2016). Paralelamente, la industria de la nanotecnología en todo el mundo requerirá de por lo menos 6 millones de trabajadores para el final de la década (Duncan, 2011, Trujillo *et al.*, 2016). Todos estos desarrollos se derivan del enorme potencial que ofrece la nanotecnología para diseñar *de novo*, mejorar o desarrollar ingredientes o productos con propiedades y funciones específicas al control o modificación de procesos esencialmente biológicos (nano-biotecnología).

En México, desde el 2009, se formó la Red de Nanociencias y Nanotecnología (NyN) integrada por instituciones académicas que impulsan las actividades de investigación y desarrollo

tecnológico en estas disciplinas. De acuerdo con datos de esta Red, las principales actividades de investigación se desarrollan en la Ciudad de México, Chihuahua y Baja California y dos instituciones (UNAM e IPN), así como en algunos centros de investigación del CONACYT, siendo CIMAV el principal (Delgado-Ramos, 2014, Zanella *et al.*, 2016). El área de mayor interés de investigación es en el diseño, fabricación y caracterización de materiales nanoestructurados para aplicaciones médicas y farmacéuticas, aunque hay una gran diversidad de temas y enfoques. Un número considerable de proyectos se han orientado a la síntesis y aplicaciones de nanoestructuras inorgánicas a base de nanopartículas de plata, dióxido de titanio, sílice mesoporoso, nanotubos de carbono y liposomas. Por otra parte, también se han desarrollado numerosos trabajos de síntesis de nanosistemas a base de moléculas orgánicas tales como quitosano, ciclodextrina, y otros biopolímeros. En el campo de los nanoalimentos, la mayor parte de los proyectos se relacionan con suplementos alimenticios, nutraceuticos y bebidas funcionales.

### **Procedimientos para la producción de nanoestructuras con aplicaciones en la cadena agroalimentaria**

Entre la gran diversidad de aplicaciones de la nanotecnología a los sistemas agroalimentarios se encuentran el desarrollo de nanocápsulas para la liberación controlada de nutrientes, bioactivos y/o aditivos (Ezhilarasi *et al.*, 2013, Miller y Senjen, 2008).

Las técnicas de encapsulación de activos más usuales para la producción de nanoestructuras, particularmente las nanocápsulas, utilizadas en la industria alimenticia son: a) nanoprecipitación; b) emulsificación espontánea y difusión; c) doble emulsión; d) emulsión con recubrimiento polimérico y e) sistemas capa por capa (Pradhan *et al.*, 2015). Además, otros autores (Weiss *et al.*, 2008) han señalado a la fabricación de nanopartículas sólido-lípido - nanoemulsiones cristalizadas- como una de las alternativas más adecuadas para la entrega de compuestos bioactivos de naturaleza lipofílica de gran importancia, como los carotenos, ácidos grasos omega-3 y otros. Una extensa revisión del uso de nanoemulsiones y nanodispersiones para la entrega de nutraceuticos en matrices alimentarias fue realizada por Huang *et al.*, (2010).

## **Aplicaciones de nanoestructuras en la agricultura**

Diversos reportes han documentado el beneficio de aplicar nanoestructuras a los diferentes insumos y etapas de la agricultura. Recientemente, Fraceto *et al.*, (2016) han revisado a profundidad las perspectivas de esta aplicación señalando cuatro grandes áreas: a) incremento en productividad; b) mejoramiento del suelo; c) estimulación del crecimiento de la planta; y d) monitoreo inteligente. Estos autores enfatizan los beneficios de la nanotecnología para aplicar nanosensores en la agricultura de precisión así como los potenciales beneficios a la conservación del medio ambiente gracias al uso más racional de nanopesticidas. Mukhopadhyay (2014) realizó una extensa revisión de la literatura concluyendo que las dos áreas de mayor potencial e investigación son las de post-cosecha y el desarrollo de nanopesticidas. También señaló los desarrollos tecnológicos en nanociencias más relevantes para la agricultura. Kole *et al.*, (2013) aplicaron fullerol, un derivado del fulereno, funcionalizado para impartir solubilidad, al melón agrio (*M. charantia*) cultivado en la India, con muy buenos resultados en cuanto a rendimiento de biomasa e incremento en concentración de agentes bioactivos. No obstante, los claros beneficios, todos los autores coinciden en señalar que el tema está lejos de ser una opción sistemáticamente viable en tanto no se conozcan los efectos de las nanoestructuras en los ecosistemas y la salud humana. En México no contamos con información sobre el uso de nanoestructuras para fines agronómicos, sin embargo, un buen número de proyectos de investigación indican que hay actividad tendiente hacia la innovación por parte de algunas empresas (Záyago *et al.*, 2015).

## **Procesamiento de alimentos**

Durante el procesamiento de alimentos las nanoestructuras pueden ayudar a impartir características deseables o a proteger moléculas específicas con fines de nutrición o conservación. También pueden utilizarse para modificar propiedades sensoriales a través de la prevención de procesos como la aglomeración (Institute of Medicine (US) Food Forum 2009). En Europa el uso de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> está autorizado para estos fines bajo la clasificación E551 y se ha usado en confitería y polvos para sopas instantáneas, sin embargo, tienen que ser declarados en la etiqueta, aunque no siempre es el caso (Morrison, 2016). Además, las nanoemulsiones han sido ampliamente utilizadas para proteger nutrientes como  $\beta$ -caroteno,

coenzima Q10, luteína y aceites esenciales y otros (Peters y Brain, 2009, Pradhan *et al.*, 2015, Wang *et al.*, 2016).

En las líneas de proceso se han venido instrumentando nanosensores a base de nanoestructuras inorgánicas (Pradhan *et al.*, 2015). Estos dispositivos han sido diseñados para detectar concentraciones muy bajas de moléculas indicadoras de deterioro como el NH<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>S compuestos indicadores de deterioro en productos de origen marino (Fuertes *et al.*, 2016).o el dióxido de azufre utilizado en el control de las levaduras silvestres durante la fermentación alcohólica

Otra aplicación de creciente interés es el uso de nanosensores para detectar las características de color y/o tamaño con la finalidad de seleccionar frutos que cumplan con determinadas parámetros de calidad (Sonkaria *et al.*, 2012) de inocuidad (Otlés y Yalcin, 2010) o de trazabilidad (Taoukis y Tsironi, 2016). Para estos fines se han utilizado una gran variedad de nanoestructuras que permiten el control de la humedad, la exposición a la luz, la permeabilidad al oxígeno y otras variables relacionadas al deterioro de los alimentos. Además, una amplia diversidad de nanodispositivos han sido desarrollados para la detección de microorganismos patógenos con tiras reactivas o sensores basados en componentes bio-ópticos (Chandra Ray *et al.*, 2013).

## **Envasado de alimentos**

El uso de nanoestructuras para mejorar el envasado de alimentos es el área de mayor interés en cuanto a aplicaciones de la nanotecnología en el sector agroindustrial. Esto debido a que no sólo se mejoran las propiedades del material de envase, sino también se aprovecha el hecho de que no se modifica la composición del alimento por inclusión de nanocompuestos en la matriz, sino que toda presencia estaría relacionada con la migración. En efecto, la incorporación de las nanoestructuras a los materiales de envase ha sido implementada con varios fines desde hace algunos años. Entre éstos destacan los siguientes: a) mejoramiento de las propiedades de barrera o de elasticidad de los materiales utilizados para la fabricación de los envases. Esto ha conllevado el desarrollo de bionanocompositos de acuerdo a los requerimientos deseados (Duncan, 2011, Pradhan *et al.*, 2015). b) aunque el concepto de “empaque inteligente” ya existía el advenimiento de la nanotecnología ha significado un desarrollo acelerado de estos materiales

que se distinguen por la interacción del material con el microambiente interno, o con el ambiente externo, o con el alimento en sí para lograr mejorar algún aspecto de interés. Así, la incorporación de nanopartículas de plata en la superficie del material o dentro de la matriz del material le imparte propiedades bactericidas, en particular contra las bacterias Gram negativas que son las de mayor peligro (Duncan, 2011, Chandra Ray *et al.*, 2013). c) Envases Inteligentes: este concepto implica una interacción química entre el envase y el alimento y/o los microorganismos en el alimento. Esta categoría también incluye el uso de nanobiosensores, etiquetas o nanoindicadores de temperatura o calor, así como sustancias nanoencapsuladas que pueden dar origen a alimentos “personalizados”. Los envases biodegradables pueden ser considerados en ésta categoría. Los materiales más utilizados son las nanoarcillas (bentonita) y las nanopartículas de plata.

### **Áreas de oportunidad para los nanoalimentos**

Las áreas de oportunidad que se presentan en la actualidad para los nanoalimentos son muy variadas y seguirán creciendo a medida que se desarrollen nuevos nanosistemas. Sin embargo, para lograr que este potencial se refleje en productos innovadores en beneficio de la población, es necesario despejar las dudas que existen acerca de la toxicidad de las nanoestructuras. En el caso del uso de envases, por ejemplo, existen pocos estudios sobre la migración de los nanocomponentes a la matriz alimentaria y los métodos analíticos utilizados para estudiar este fenómeno no han sido validados por las autoridades correspondientes. En algunos casos, como en el de las nanoarcillas (bentonita) utilizadas como agente de relleno de los materiales básicos para la fabricación de los envases, existe una larga tradición de uso sin que se hayan reportado efectos tóxicos en seres humanos. Lo mismo aplica a la nanoplata. Por ello se considera que cualquier consumo incidental derivado de la migración de estos compuestos no causaría daño alguno (Drew *et al.*, 2016). Sin embargo, es necesario validar esta “inocuidad” para garantizar al consumidor una oferta saludable, nutritiva e inocua.

Otro aspecto que merece la pena mencionar es el relativo a la regulación oficial (Croce, 2014). De acuerdo a Armenta *et al.*, (2015) quienes han realizado una comparación de las regulaciones oficiales de la nanotecnología en el sector agroalimentario, solo la Unión Europea y Suiza tienen regulaciones específicas para los nanoproductos y deben estar etiquetados los

productos que tengan nanoingredientes (Sodano *et al.*, 2016). En México no existen este tipo de regulaciones aunque si se requiere la descripción de que un alimento contiene un compuesto específico, de tal manera que se consulte a la autoridad competente. Por ello es de suma importancia establecer políticas publicas específicas que regulen y normen las actividades de investigación, desarrollo e innovación de productos nanotecnológicos con la finalidad de evaluar y evitar los posibles riesgos a la salud humana y medio ambiente, pues a la fecha los lineamientos generales para regular nanotecnologías en México están enfocados a homogenizar normas comerciales (Foladori y Záyago 2014).

Recientemente se ha conformado el Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica (SINANOTOX) con el fin de establecer una plataforma de referencia nacional para la evaluación de la inocuidad en la salud y en el ambiente de los materiales nanoestructurados.

### **Retos para la vinculación academia-empresa**

En Latinoamérica, México, después de Brasil, es el segundo país con mayores iniciativas y proyectos académicos y de investigación en nanotecnología, de infraestructura, número de publicaciones, convenios internacionales y recursos humanos trabajando en nanotecnología (Záyago y Foladori, 2010; Záyago *et al.*, 2014). De acuerdo con Záyago y Folardi (2014), en el período de 2000 y 2012, México publicó cerca de 4,500 artículos científicos sobre nanotecnología. Además, el gobierno mexicano ha apoyado financieramente la creación de laboratorios nacionales, una red nacional de investigadores en la materia y el establecimiento de algunos clústeres de investigación y desarrollo especializados en nanotecnologías. Por otra parte, 60 o más universidades y otros centros públicos de investigación tienen proyectos en nanotecnología, además existen colaboraciones y acuerdos de investigación internacionales sobre el tema (Záyago *et al.*, 2015). En la tabla 1 se presentan las principales instituciones con más laboratorios dedicados a la investigación y desarrollo de nanotecnología en México (Zayago y Foladori, 2010).

Tabla 1. Instituciones con más laboratorios dedicados a la investigación y desarrollo de nanotecnología en México

Institución	Número de laboratorios
Centro público de investigación-CONACYT (no se incluye CIMAV e IPICYT)	45
UNAM (Facultades e Institutos)	23
CIMAV	18
IMP	16
IPN-CINVESTAV	7
IPICYT	6
Universidad de Sonora	6
Universidad de Guadalajara	6
Universidad Autónoma Metropolitana	5
Universidad Autónoma de Chihuahua	3

Fuente: Zagayo-Lau y Foladori, 2010.

A pesar de estos avances, el número de solicitudes de patente registradas por mexicanos en el IMPI en el periodo 2005-2015 ha sido bastante limitado. Una búsqueda en el Sistema SIGA del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial con el término “nanotecnología” arroja 73 registros, de los cuales la gran mayoría se refiere a “marcas”. En cuanto a las solicitudes de patente solamente se identifican ocho en el sector alimentarios, 8 en el sector farmacéutico y el resto en dispositivos electrónicos y otros (IMPI, 2016).

Si bien, existen esfuerzos importantes en la investigación y desarrollo de la nanotecnología en México, estos están diversificados y en ocasiones aislados debido a la falta de objetivos claros y orientación de la nanotecnología de acuerdo al contexto de México. Actualmente, no existe una base de datos que permita conocer cuáles son las principales líneas de investigación, qué instituciones están asociadas, cuántos recursos se emplean, y otros datos que ayuden a la orientación y/o vinculación del área. Sin embargo, la mayor parte de las investigaciones se enfocan en el diseño, fabricación y caracterización de materiales nanoestructurados (Záyago y Foladori, 2010; Záyago *et al.*, 2014).

En el caso de empresas que trabajan con nanotecnología en México, hasta abril de 2013 se identificaron alrededor de 100 empresas que investigan y/o producen ingredientes o productos basados en nanotecnología. Estas empresas se concentran principalmente en Nuevo León y la Ciudad de México (Záyago *et al.*, 2013). En la tabla 2 se presenta la distribución de cada una de ellas por sector. Más recientemente, el INEGI realizó una proyección de datos derivada de una encuesta donde muestra que las empresas que hacen uso de nanotecnología pueden alcanzar las 188 (Záyago *et al.*, 2015).

Tabla 2. Número de empresas que utilizan nanotecnología en México por sector

Sector	Número	Sector	Número
Químico	17	Biología	3
Agua	8	Cosméticos	3
Componentes eléctricos	8	Farmacéuticos	2
Plástico y hule	8	Biomédicos	2
Construcción	7	Línea Blanca	2
Comercio	6	Maquinaria y equipo	2
Alimentos	5	Equipo odontológico	2
Nanomateriales	5	Minería	2
Equipo industrial	4	Papel	1
Electrónicos	4	Petroquímico	1
Acero y hierro	4	Servicios (limpieza)	1
Automotriz	3	Textil	1
Total de empresas: 101			

(Záyago *et al.*, 2013)

En México, no hay datos confiables sobre la disponibilidad de nanoalimentos o de las empresas basadas en nanotecnología que involucran alimentos, sin embargo, si se considera a los fabricantes y/o distribuidores de nutracéuticos y alimentos funcionales, el número de empresas crece considerablemente y es en este segmento donde seguramente habrá una mayor dinamismo.

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ, A.C.) ha trabajado arduamente en los últimos años en la investigación de la nanotecnología aplicada al sector agroalimentario y medicina. Actualmente, se desarrollan diferentes proyectos enfocados al diseño de suplementos alimenticios, nutracéuticos, nanoencapsulación de compuestos bioactivos y nanobiocontrol de cultivos. Por ejemplo, recientemente García-Márquez *et al.*, (2016) reportaron el diseño de nanoemulsiones de aceite de

pescado en agua empleando como agente emulsificador la goma de mezquite. Mediante la técnica de microfluidización lograron obtener gotas con un tamaño de 200 nm, lo que puede mejorar su absorción en el tracto digestivo. Por otra parte, se están desarrollando nanopartículas de quitosano-capsaicina para ser evaluadas contra líneas celulares de glioblastoma (Fronteras 2015). Además, muchos de los proyectos son resultado de la vinculación con algunas empresas.

Como se ha señalado antes, hay mucha actividad de investigación científica básica y aplicada que bien pudiera dar origen a nuevos productos o procesos más eficientes y competitivos. Para esto, el vínculo academia empresa deberá fortalecerse a través de la realización de un mayor número de proyectos colaborativos y un mayor énfasis en los estudios de mercado y de la transferencia tecnológica desde la concepción misma de los proyectos.

## Referencias

- Amenta V, Aschberger K, Arena M, Bouwneester H, Moniz FB, Brandhoff P, Gottardo S, Marvin HJP, Mech A, Pesudo LQ, Rauscher H, Schoojanz R, Vettori MU, Weigel S, Peters RJ. Regulatory aspects of nanotechnology in the agri/feed/food sector in EU and non-EU countries. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73:463-476.
- Bumbudsanpharoke N, Ko S. 2015. Nano-Food Packaging: An Overview of Market, Migration Research, and Safety Regulations. *Journal of Food Science* 80:R910-R923.
- Chandra Ray P, Khan SA, Fan Z, Senapati D. 2013. Gold nanotechnology for targeted detection and killing of multiple drug resistant bacteria from food samples. Pages 1-19. *Advances in Applications of Nanotechnology for agricultura*. ACS Symposium Series. Vol. 1143. DOI: 10.1021/bk-2013-1143.ch001.
- Chaudhry Q, Scotter M, Blackburn J, Ross B, Boxall A, Castle L, Aitken R, Watkins R. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives & Contaminants: Part A* 25:241-258.
- Croce, T.A. 2014. FDA's Regulation of nanotechnology in food ingredients. In "Chemistry of Food, Food Supplements and Food Contact Materials: From production top late" Chapter 4 pp. 41-50. ACS Symposium Series. Vol. 1159
- Delgado-Ramos GC. 2014. Nanotechnology in Mexico: Global trends and national implications for policy and regulatory issues. *Technology in Society* 37:4-15.

- Drew R, Hagen T, ToxConsult, Food Standards in Australia. 2016. Nanotechnologies in Food Packaging: an Exploratory Assessment of Safety and Regulation. [https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Nanotechinfood packaging.pdf](https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Nanotechinfood%20packaging.pdf).
- Duncan TV. 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science* 363:1-24.
- Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology* 6:628-647.
- Fraceto LF, Grillo R, de Medeiros GA, Scognamiglio V, Rea G, Bartolucci C. 2016. Nanotechnology in Agriculture: Which Innovation Potential Does It Have? *Frontiers in Environmental Science* 4:1-5.
- Foladori G and Záyago L E. 2014. "The regulation of nanotechnologies in Mexico". *Nanotechnol. Nanotechnology Law & Business*. 11(2), 164–171.
- Fronteras de la Ciencia. 2015. Proyecto "Interacciones moleculares en sistemas nanoencapsulados. Clave FON.INST./44/2016.
- Fuertes G, Soto I, Carrasco R, Vargas N, Sabattin J and Lagos C. 2016. Intelligent Packaging Systems: Sensors and Nanosensors to Monitor Food Quality and Safety. *Journal of Sensors*. doi:10.1155/2016/4046061
- García-Márquez E, Higuera-Ciapara I, Espinosa-Andrews H. 2016. Design of fish oil-in-water nanoemulsion by microfluidization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.
- Huang Q, Yu H, Ru Q. 2010. Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals Using Nanotechnology. *Journal of Food Science* 75:R50-R57.
- Institute of Medicine (US) Food Forum. 2009. Nanotechnology in Food Products: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US); Overview. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32725/>
- IMPI. 2016. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. SIGA. (<http://www.siga.impi.gob.mx/content/common/búsqueda/patentes>). Consultado el 21 de noviembre de 2016.
- Kole C, Kole P, Randunu KM, Choudhary P, Podila R, Ke PC, Rao AM, Marcus RK. 2013. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased

plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*). *BMC Biotechnology* 13:37.

Miller G, Senjen R. 2008. Del laboratorio a la cadena alimentaria: La nanotecnología en los alimentos y la agricultura. Pages 24-79. *Nanotecnologías en la Alimentación y Agricultura*. Montevideo: Universidad de la República, Comisión Sectorial de Extensión y Actividades en el Medio (CSEAM).

Morrison N. 2016. Undeclared nanoparticles in four French food triggers call for crackdown. (<http://www.mobile.foodnavigator.com/>). Consultado el 21 de noviembre de 2016.

Mukhopadhyay SS. 2014. Nanotechnology in Agriculture: Prospects and Constraints. *Nanotechnology, Science and Applications* 7:63-71.

Otles S, Yalcin B. 2010. Nano-biosensors as new tool for detection of food quality and safety. *LogForum* 6:67-700.

Peters, S.E. and Brain CH. 2009. Benefits of a soy-lecithin based nanotechnology for the animal and human food industry. In "Micro and nanoencapsulation of active food ingredients. Chapter 12 pp 183-197. ACS Symposium series. Vol. 1007. DOI: 10.1021/bk-2009-1007.Ch01.

Pradhan N, Singh S, Ojha N, Shrivastava A, Barla A, Rai V, Bose S. 2015. Facets of Nanotechnology as Seen in Food Processing, Packaging, and Preservation Industry. *BioMed Research International* 15. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/365672>.

Sodano V, Gorgitano MT, Quaglietta M, Verneau F. 2016. Regulating food nanotechnologies in the European Union: Open issues and political challenges. *Trends in Food Science & Technology* 54:216-226.

Sonkaria S, Ahn S-H, Khare V. 2012. Nanotechnology and its impact on food and nutrition: a review. *Recent Patents on Food, Nutrition and Agriculture* 4:8-18.

Taoukis P, Tsironi T. 2016. 5 - Smart Packaging for Monitoring and Managing Food and Beverage Shelf Life A2 - Subramaniam, Persis. Pages 141-168. *The Stability and Shelf Life of Food (Second Edition)*, Woodhead Publishing.

Trujillo LE, Ávalos R, Granda S, Guerra LS, País-Canfrau JM. 2016. Nanotechnology applications for food and bioprocessing industries. *Biology and Medicine* 8.

Wang T, Soyama S, Luo Y, 2016. Development of a novel functional drink from all natural ingredients using nanotechnology. *Food Science and Technology* 73: 458-466.

- Weiss J, Decker EA, McClements DJ, Kristbergsson K, Helgason T, Awad T. 2008. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. *Food Biophysics* 3:146-154.
- Zanella SR, Delgado RGC, Contreras LOe. 2016. Catálogo nacional de instituciones de investigación con actividades en nanociencias y nanotecnología. Parte 1. *Mundo Nano. revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* 9.
- Záyago L E y Foladori, G. 2010. “La nanotecnología en México: un desarrollo incierto”. *Economía Sociedad y Territorio*, X(32), 143–178.
- Záyago LE, Foladori G, Appelbaum RP, Arteaga FER. 2013. Empresas nanotecnológicas en México: hacia un primer inventario. *Estudios Sociales XXI*. Záyago L E, Frederick S, Foladori G. 2014. “Twelve years of nanoscience and nanotechnology publications in Mexico”. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(2193), 1–10.

