



Sistemas nanoestructurados basados en lípidos para la encapsulación de compuestos bioactivos

Apellidos, nombre	Pérez Esteve, Édgar (edpees@upv.es) Gómez Llorente, Héctor (hecgollo@upv.es)
Departamento	Departamento de Tecnología de Alimentos
Centro	Universitat Politècnica de València



1 Resumen de las ideas clave

Cada vez, términos como “nanoliposoma” o “nanoemulsión” son más frecuentes a la hora de hablar de principios activos para uso en medicina, cosmética, alimentación... Pese a su frecuencia en el lenguaje, pocos conocen qué significan exactamente, o si realmente están haciendo un buen uso del prefijo “nano” y, sobre todo, la razón de incluir estos sistemas en los productos que nos ponemos en la cara o en la comida.

Con el objetivo de profundizar en estos conceptos, el presente artículo docente presentará en primer lugar qué son los sistemas de encapsulación y liberación controlada, qué ventajas tiene que éstos tengan un tamaño nanométrico, y finalmente cómo podemos formular sistemas nanoestructurados de encapsulación y liberación controlada basados en lípidos como son las micro y nanoemulsiones, liposomas y nanoliposomas, micelas y nanopartículas sólidas lipídicas.

2 Objetivos

Una vez que leas con detenimiento este documento, serás capaz de:

- Identificar los diferentes tipos de sistemas nanoestructurados basados en lípidos para la encapsulación de biomoléculas.
- Describir las principales características de cada uno de ellos: tamaño, estabilidad, modo de preparación...
- Seleccionar el tipo de sistema que más convenga para una determinada aplicación.

3 Introducción

La nanotecnología se define como la creación, utilización y manipulación de materiales, dispositivos o sistemas en la escala nanométrica (menor de 100 nm). En los últimos años, la nanotecnología ha encontrado innumerables aplicaciones en diferentes industrias alimentarias.

Una de las principales aplicaciones de la nanotecnología en la industria de alimentos es la preparación de **sistemas de encapsulación y liberación controlada**. Estos sistemas se definen como formulaciones diseñadas para encapsular y posteriormente liberar una o más moléculas bioactivas tras alcanzar un área concreta del organismo.

La utilización de sistemas de encapsulación nanoestructurados aporta multitud de ventajas: pueden proteger un componente bioactivo de condiciones ambientales desfavorables como la oxidación, el pH o la degradación de enzimas. Además, la encapsulación de biomoléculas en sistemas nanoestructurados proporciona más área de superficie y tienen el potencial de mejorar la solubilidad, la biodisponibilidad, la liberación controlada y la focalización de los ingredientes alimentarios encapsulados, en comparación con los transportadores de tamaño micrométrico, como son por ejemplo las macroemulsiones.



En la industria de alimentos, por ejemplo, es ventajoso administrar compuestos bioactivos en un medio acuoso (alimento o bebida) porque esto aumenta su palatabilidad, deseabilidad y bioactividad. Sin embargo, la adición directa de compuestos funcionales lipofílicos a alimentos y bebidas en ocasiones presenta incompatibilidades. Estas incompatibilidades pueden solventarse mediante la encapsulación.

En aplicaciones donde es necesario administrar un componente bioactivo por vía oral, hay una serie de premisas que deben tenerse en cuenta a la hora de desarrollar un sistema de encapsulación y liberación controlada:

- Deben fabricarse completamente a partir de ingredientes de grado alimenticio utilizando procesos de fabricación económicos.
- Deben estar diseñados para soportar las duras condiciones ambientales que experimentan los alimentos durante su fabricación, almacenamiento, transporte y utilización, como el procesamiento térmico, la congelación, la deshidratación y las tensiones mecánicas.
- No deberían afectar negativamente los atributos de calidad deseables de los alimentos en los que se incorporan, como la apariencia, la textura, el sabor y la sensación en la boca.
- Deben estar diseñados para mantener o mejorar la biodisponibilidad del nutraceutico.

Uno de los ingredientes adecuados para la fabricación de sistemas comestibles para la administración oral de moléculas bioactivas (sobre todo hidrofóbicas) que cumplen con la mayoría de los requerimientos definidos anteriormente son los lípidos).

4 Desarrollo

Como se ha introducido en las secciones anteriores, la encapsulación de compuestos bioactivos en estructuras basadas en lípidos es una estrategia utilizada por la industria alimentaria, farmacéutica y médica para mejorar la biodisponibilidad de la molécula encapsulada, mejorar la compatibilidad con la matriz alimentaria donde se desee introducir...

Unos de los primeros sistemas basados en lípidos para la encapsulación de moléculas bioactivas fueron las emulsiones de grasa y agua. Aunque estos sistemas, y sus evoluciones a emulsiones dobles o emulsiones multicapa todavía se emplean, el surgimiento de la nanotecnología ha permitido el nacimiento de una nueva generación de sistemas de encapsulación. Estos sistemas de encapsulación nanoestructurados basados en lípidos comprenden las microemulsiones, nanoemulsiones, micelas, liposomas y nanoliposomas y nanopartículas sólidas lipídicas.

Llegados a este momento te hacemos una pregunta: *¿qué es más pequeña, una nanoemulsión o una microemulsión?* A veces las apariencias engañan. Sigue leyendo y lo comprenderás.

4.1 Microemulsiones

Las microemulsiones (ME) son sistemas en el que una fase (por ejemplo, fase dispersa) se solubiliza en otra a través de la formación de un tercer componente (emulsionante) micelar. Por lo tanto, el tamaño de las microemulsiones está restringido al tamaño micelar del tercer componente (emulsionante) que puede estar en el rango desde unos pocos a cientos de nanómetros.

Debido al tamaño tan pequeño de las gotas que forman la ME, a diferencia de lo que ocurre con las macroemulsiones, éstas son transparentes.

Otra de sus propiedades debida a este tamaño de gota muy fino, generalmente entre 10 y 100 nm, es que son termodinámicamente estables en un amplio rango de temperatura. Por lo tanto, en contraste con otros sistemas de emulsión, donde las gotas de la fase dispersa pueden unirse lentamente causando separación de fases, en las formulaciones de ME esto no ocurre.

Al igual que en cualquier tipo de emulsión, éstas pueden ser de agua en grasa (W/O) o de grasa en agua (O/W). De todas ellas, sólo las de grasa en agua tienen la habilidad de encapsular y proteger compuestos bioactivos liposolubles (mayoría de los casos donde interesa una encapsulación).

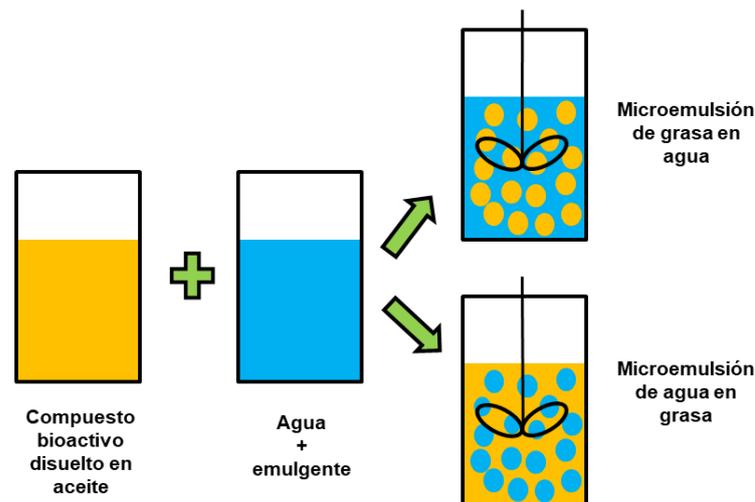


Figura 1. Tipos de microemulsiones. Fuente: elaboración propia.

Teóricamente, la disposición de las moléculas emulsionantes (posiblemente ayudadas por el cosurfactante) ocurre espontáneamente. Sin embargo, en algunos casos se proporciona energía al sistema para acelerar la reorganización de las moléculas de surfactante, o para superar una pequeña barrera de energía cinética. Atendiendo a la manera de suministrar esta energía se pueden distinguir varios métodos para producir microemulsiones:

4.1.1 Método de emulsión de baja energía

La preparación de ME bajo este método puede llevarse a cabo mediante tres rutas diferentes:

- Dilución de una mezcla de aceite y surfactante con agua.
- Dilución de una mezcla de agua-tensioactivo con aceite.
- Mezclado de todos los componentes de la composición final (agua, surfactante, aceite).

Para que la formación sea afirmativa, es necesario que los diferentes ingredientes se encuentren en unos ratios determinados. En este contexto, surgen diagramas que determinan el ratio entre la proporción oleosa y el tensioactivo acuoso y viceversa para formar la microemulsión (Figura 2).

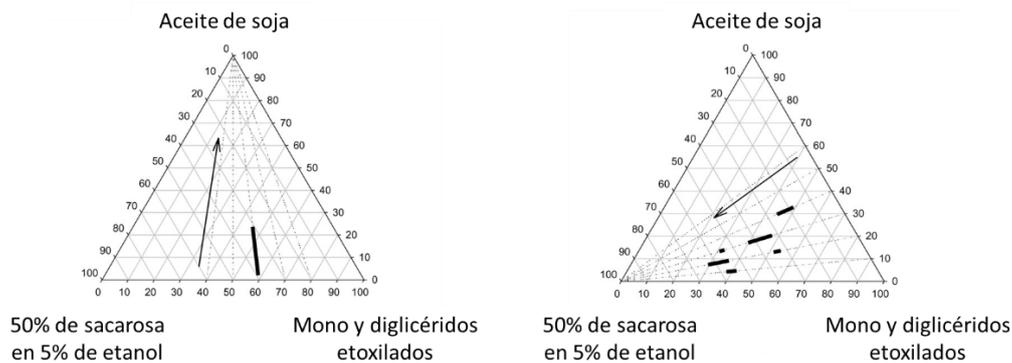


Figura 2. Diagramas de fase pseudoternaria de aceite de soja, mono y diglicéridos etoxilados y sistemas acuosos de sacarosa / etanol a 20 ° C. A: dilución de soluciones acuosas / tensioactivas con aceite. B: dilución de la solución de aceite / tensioactivo con solución acuosa. Las flechas muestran la dirección de dilución. Las áreas de una fase están indicadas por una línea negra gruesa. Adaptación de Flanagan y Singh (2006).

Además de incluir los diferentes ingredientes en la proporción adecuada, para que formen microemulsiones es muy importante el orden de adición de estos. Por ejemplo, en un sistema tensioactivo agua / decano, las microemulsiones solo podían formarse al diluir una mezcla de tensioactivo oleoso con agua.

4.1.2 Método de temperatura de inversión de fase (PIT)

El método de temperatura de inversión de fase (PIT) para la formación de microemulsiones es particularmente útil cuando se usan tensioactivos no iónicos etoxilados, los cuales se disuelven sin disociarse. Cuando se calienta una emulsión o/w que contiene tensioactivo no iónico etoxilado, la emulsión se invierte a una emulsión w/o a una temperatura crítica llamada temperatura de inversión de fase (PIT). En la PIT, el tamaño de la gota y la tensión



interfacial alcanzan un mínimo, y al enfriarse mientras se agita, se forma una microemulsión estable de o/w.

4.1.3 Homogeneización a alta presión.

Aunque se puede formar microemulsiones mediante el empleo de altas presiones, el proceso es normalmente ineficiente debido a la disipación de calor que se genera. Además, el proceso de homogeneización es limitado debido a la formación altamente viscosa entre agua/aceite/tensioactivo que ocurre antes de la formación de la microemulsión.

4.2 Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones son dispersiones coloidales de entre 20-500 nm en las que una fase se dispersa en otra a través del aporte de energía (técnicas intensivas en energía) o cambios químicos/ termodinámicos (conocidos como técnicas de baja energía).

Las nanoemulsiones de grado alimentario se utilizan cada vez más para mejorar la digestibilidad, la encapsulación eficiente, aumentar la biodisponibilidad y la liberación controlada. Estas ventajas de las nanoemulsiones respecto a las emulsiones convencionales puede ser utilizada en múltiples industrias para mejorar el resultado otorgado por las emulsiones convencionales. De esta manera, desde el punto de vista de la aplicación, las nanoemulsiones son atractivas para aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica y en aplicaciones de liberación controlada de fármacos. En la industria alimentaria, estas nanopartículas son usadas en el diseño de alimentos funcionales con ingredientes que de otra manera serían difíciles de incorporar por su baja solubilidad en agua (b-caroteno), degradación durante la digestión (curcumina), volatilidad (aromas y aceites esenciales), etc.

La **estabilidad cinética** de las nanoemulsiones puede mejorarse incorporando estabilizadores como emulsionantes, retardadores de maduración, agentes de ponderación o modificadores de textura. Los emulsionantes como los tensioactivos de molécula pequeña (Tweens o Spans), los polisacáridos anfifílicos (goma arábiga o almidón modificado), los fosfolípidos (lecitina de soja, huevo o lácteos) y las proteínas anfifílicas (caseinato o aislado de proteína de suero) se pueden usar en la industria alimentaria para formular nanoemulsiones.

También se puede **modificar la textura** de las nanoemulsiones, añadiendo al medio sustancias que aumentan la viscosidad, como proteínas (aislado de proteína de suero, gelatina o aislado de proteína de soja), azúcares (jarabe de maíz o sacarosa con alto contenido de fructosa), polisacáridos (carragenano, xantano, pectina, alginato) y polioles (sorbitol o glicerol) que también se pueden utilizar como estabilizadores. Los materiales lipofílicos densos como el aceite vegetal bromado, el isobutirato de acetato de sacarosa, las gomas de éster pueden usarse como un agente de ponderación para equilibrar las densidades de las nanoemulsiones líquidas.

Desde el punto de vista de su fabricación, las nanoemulsiones pueden fabricarse de dos maneras en función de la energía aplicada:

4.2.1 Métodos de baja energía

Las emulsiones comienzan siendo una macroemulsión (W/O) que se transforma en una nanoemulsión O/W después de cambiar la composición, en el caso de que la macroemulsión se diluya en agua, o la temperatura, variando la tensión interfacial de la interfaz.

4.2.2 Métodos de alta energía.

La macroemulsión (O/W) transforma su tamaño a la nano escala a través de un homogeneizador de alta presión. Este equipo aplica a las gotas una elongación y esfuerzo cortante que se repite varias veces, hasta que el tamaño de gota es constante. Además del homogeneizador, la aplicación de ultrasonidos crea turbulencias, debido a la cavitación, que hace romper en mayor medida las gotas que componen la nanoemulsión.

Llegados este punto, ¿sabrías decir en qué se diferencian las emulsiones convencionales, las microemulsiones y las nanoemulsiones? Si no sabes contestar, no te preocupes, la Tabla 1 resume las principales diferencias.

	Macroemulsiones	Microemulsiones	Nanoemulsiones
Tamaño	1-100 mm	10-100 nm	20-500 nm
Forma	Esférica	Esférica o lamelar	Esférica
Estabilidad termodinámica	Inestable	Estable	Inestable
Estabilidad cinética	Débilmente estable	Estable	Estable
Método de preparación	Métodos de alta y baja energía	Métodos de baja energía	Métodos de alta y baja energía
Polidispersidad típica	Alta (<40%)	Baja (<10%)	Baja (<10-20%)

Tabla 1. Comparación de diferentes tipos de emulsiones. Fuente: Gupta y colaboradores (2016)

Como se muestra en la tabla, la medida del tamaño no revela si un sistema es una micro o nanoemulsión, la formulación de un sistema lo define. Puede existir una microemulsión con un tamaño de 150 nm (por ejemplo, utilizando 50% en peso de Tween 20 como emulsionante) y también una nanoemulsión con el mismo rango de tamaño (por ejemplo, utilizando 5% en peso de Tween 20 como emulsionante).

4.3 Micelas

Una micela se define como una colección de moléculas de tensioactivo anfifílico que se agregan espontáneamente en agua en una vesícula esférica (generalmente). El centro de la micela es hidrofóbico y, por lo tanto, puede secuestrar fármacos hidrofóbicos hasta que sean liberados por algún mecanismo de administración de fármacos. Las micelas convencionales se forman a partir de pequeñas moléculas que tienen un grupo de "cabeza" hidrofílica o polar o cargada y una cola hidrofóbica, a menudo compuesta por la porción de hidrocarburo de ácidos grasos largos. El tamaño molecular y otras características geométricas de los tensioactivos determinan el tamaño de la micela.

Una micela polimérica contiene tres regiones distintas, ilustradas en la Fig. 5, en las que se puede incorporar un fármaco: la corona, el núcleo de la micela o la interfaz núcleo-corona. Si bien se supone con frecuencia que el núcleo micelar es la única región en la que se produce la encapsulación del fármaco, la interfaz núcleo-corona también puede desempeñar un papel en la solubilización de ciertas moléculas.

En cuanto a cómo formar las micelas, se desarrollan dos métodos que son el de diálisis y el de emulsión. Ambos métodos comienzan con el cargado de la biomolécula en un disolvente junto con un copolímero. Posteriormente, en el primer método, se realiza la diálisis con agua empleando membranas porosas, creando las micelas cargas a medida que el disolvente reemplaza al agua. En el segundo, se introduce la biomolécula a encapsular en una emulsión (O/W) mediante la adición de una disolución de la biomolécula en cloroformo. El copolímero estabiliza la emulsión o/w, que es agitada hasta que el cloroformo se evapora y se forman las micelas cargadas.

4.4 Liposomas y nanoliposomas

Los liposomas son vesículas esféricas que tiene al menos una bicapa lipídica compuesta de fosfolípidos, especialmente fosfatidilcolina, pero también puede incluir otros lípidos, como fosfatidiletanolamina de huevo, siempre que sean compatibles con la estructura de la bicapa lipídica.

El término **nanoliposoma** se ha introducido recientemente para referirse exclusivamente a vesículas lipídicas de bicapa a nanoescala, ya que el liposoma es una terminología general que cubre muchas clases de vesículas cuyos diámetros varían de decenas de nanómetros a varios micrómetros. Al igual que en los apartados anteriores, el término nano otorga numerosas propiedades como una gran superficie por unidad de volumen, aumento de la solubilidad, mejora de la biodisponibilidad, mejorar la encapsulación y permitir una focalización de precisión del material encapsulado. Su uso es variado en diferentes campos como el médico, cosmético y agroalimentario. El uso de nanoliposomas en la industria alimentaria permite encapsulación y la liberación controlada de ingredientes, antimicrobianos, vitaminas, enzimas, etc. La Figura 4 muestra un ejemplo de complemento alimenticio que utiliza la tecnología de encapsulación en nanoliposomas para mejorar la estabilidad de la vitamina.



Figura 4. Complemento alimenticio de vitamina C que utiliza la tecnología de encapsulación en liposomas. Fuente: www.ivforlife.com

Los liposomas o nanoliposomas se forman cuando los fosfolípidos se autoensamblan en una bicapa lipídica debido a las interacciones hidrófobas, Van-der Waals e interacciones hidrofílicas/hidrofóbicas con la cadena de ácidos grasos. Pueden ser simples o multilaminares, con respecto a la cantidad de bicapas que contienen, y pueden acomodar compuestos hidrofílicos, lipofílicos y anfifílicos en sus compartimentos acuosos y/o lipídicos.

Respecto a su formación, los liposomas se crean cuando los fosfolípidos, como la lecitina, se colocan en agua y, en consecuencia, gracias a la aplicación de energía, forman estructuras en forma de bicapa, orientándose con su parte hidrofóbica enfrentada (hacia adentro) y la parte hidrofílica, hacia afuera.

4.5 Nanopartículas sólidas lipídicas

Las nanopartículas sólidas lipídicas (NSL) son emulsiones O/W, en donde las partículas son esféricas y el núcleo lipídico interno, estabilizado por surfactantes, se ha solidificado total o parcialmente, permitiendo encapsular compuestos bioactivos.

Algunas de sus ventajas frente a otros sistemas de encapsulación y liberación controlada mencionados son:

- Son fácil de escalar.
- Mejor control sobre la cinética de liberación de compuestos encapsulados.
- Muy alta estabilidad a largo plazo.
- Versatilidad de aplicación.
- Pueden ser sometida a procedimientos comerciales de esterilización.

Las NSL se preparan como nanoemulsiones "calientes" a una temperatura superior al punto de fusión del lípido particular, disminuyendo rápidamente, induciendo la cristalización de los lípidos dentro de las gotas que forman la emulsión. La estabilidad de las gotas producidas y la organización espacial de los cristales de lípidos dentro de las gotas generalmente se controlan mediante una cuidadosa selección del número y tipo de lípidos presentes, la

naturaleza del (de los) tensioactivo(s) utilizado para estabilizar las gotas, el tamaño inicial de la gota y concentración, y las condiciones de enfriamiento. Además, es posible controlar la ubicación relativa de las diferentes fases dentro de las gotas; por ejemplo, el núcleo podría ser sólido y la cubierta líquida, o viceversa.

5 Cierre

A lo largo de este objeto de aprendizaje se han presentado diferentes sistemas de encapsulación y liberación controlada micro y nanoestructurados: microemulsiones, nanoemulsiones, micelas, liposomas (y nanoliposomas) y nanopartículas sólidas lipídicas. Cada uno de estos sistemas tienen una serie de propiedades y usos. La elección de unos u otros para la encapsulación de compuestos bioactivos y administración oral en alimentación o aplicaciones médicas, dependerá del tipo de compuesto a encapsular y de la compatibilidad que se desee con el medio donde se desee incluir.



Figura 5. Representación gráfica de los diferentes sistemas de encapsulación y liberación controlada micro y nanoestructurados basados en lípidos. Fuente: elaboración propia.

6 Bibliografía

- 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.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft matter*, 12(11), 2826-2841.
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), R109-R124.
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.
- McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*, 8(6), 1719-1729.
- McClements, D. J. (2014). *Nanoparticle-and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds*. CRC press.
- Salem, M. A., & Ezzat, S. M. (2018). Nanoemulsions in food industry. In *Some new aspects of colloidal systems in foods*. IntechOpen.
- Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., & Awad, T. (2008). Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), 146-154.