

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Posgrados**

**Evaluación de la microencapsulación de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa*) utilizando distintos agentes encapsulantes grasos.**

**Proyectos de investigación y desarrollo**

**Susana Andrea Betancourt Rodríguez**

**Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**José Francisco Álvarez Barreto, Ph.D.**

**Director del Trabajo de Titulación**

**Lucía de los Ángeles Ramírez Cárdenas Ph.D.**

**Directora del Trabajo de Titulación**

Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito  
para la obtención del título de Máster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Quito, 26 de julio de 2021

# UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

## COLEGIO DE POSGRADOS

### HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**Evaluación de la microencapsulación de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa*) utilizando distintos agentes encapsulantes grasos.**

**Susana Andrea Betancourt Rodríguez**

<b>Nombre del Director del Programa:</b>	Lucía Ramírez Cárdenas
<b>Título académico:</b>	Ph.D.
<b>Director del programa de:</b>	Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
<b>Nombre del Decano del Colegio Académico:</b>	Eduardo Alba Cabrera
<b>Título académico:</b>	Ph.D.
<b>Decano del Colegio:</b>	Ciencias e Ingenierías
<b>Nombre del Decano del Colegio de Posgrados:</b>	Hugo Burgos Yáñez
<b>Título académico:</b>	Ph.D.

Quito, 26 de julio de 2021

## © DERECHOS DE AUTOR

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

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

Nombre del estudiante: Susana Andrea Betancourt Rodríguez

Código del estudiante: 00211169

C.I.: 1714149588

Lugar y Fecha: Quito, 26 de julio de 2021

## ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

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

## UNPUBLISHED DOCUMENT

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

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Luis y Ruth, que, sin su guía y ayuda, no hubiera logrado superar mis obstáculos y concluir las metas de mi vida.

A mis hermanos, María José y David, por haber sido mis compañeros de vida.

A Sebastián, por compartir conmigo mis triunfos y derrotas.

A Lucrecia, por ayudarme a escribir con sus patitas y ronroneos.

## AGRADECIMIENTOS

Antes que, a nadie, quiero agradecer a Dios por haberme dado tantas oportunidades a lo largo de mi vida; a mis padres y familia por haberme apoyado en todos mis proyectos e ideales. A Sebastián Pinto por su ayuda, cariño y paciencia.

Agradezco a quienes me permitieron el desarrollo de este trabajo de titulación, especialmente a Diego Coronel y a Fausto Moncayo de la empresa ADITMAQ.

Quiero dar las gracias a todo el equipo de Laboratorio de Biomateriales de la USFQ por haberme ayudado a lo largo de este proceso, y por haberme permitido encontrar amigos en medio de una pandemia.

Agradezco a Lucía Ramírez y a José Álvarez por haberme instruido y aconsejado, no solo durante este Proyecto sino a lo largo de toda mi maestría.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN.....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>13</b>
<b>METODOLOGÍA Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>19</b>
<b>Materiales y reactivos .....</b>	<b>19</b>
<b>Diseño experimental.....</b>	<b>19</b>
Variables de entrada.....	20
Variables de respuesta.....	21
Ponderación de las variables de respuesta.....	21
<b>Método de elaboración.....</b>	<b>22</b>
Obtención de micropartículas.....	22
<b>Caracterización de micropartículas .....</b>	<b>23</b>
<b>Morfología.....</b>	<b>23</b>
<b>Diámetro y distribución del tamaño de partícula. ....</b>	<b>23</b>
<b>Porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE). ....</b>	<b>24</b>
<b>Liberación abrupta o liberación “burst”. ....</b>	<b>24</b>
<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>25</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>26</b>
<b>Morfología de las micropartículas .....</b>	<b>26</b>
<b>Diámetro de partícula .....</b>	<b>29</b>
<b>Distribución del tamaño de partícula .....</b>	<b>30</b>
<b>Eficiencia de encapsulación (%EE).....</b>	<b>32</b>
<b>Liberación abrupta en las primeras horas.....</b>	<b>34</b>

<b>Ponderación de variables de respuesta.....</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>37</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO A: Ficha técnica de la oleorresina de cúrcuma .....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO B: Certificado de análisis de la oleorresina de cúrcuma .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO C: Certificado de calidad de cera de abeja.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXO D: Preparación de micropartículas con distinta relación fase acuosa/fase orgánica .....</b>	<b>47</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición proximal de la cúrcuma.....	14
Tabla 2. Descripción de los tratamientos del ensayo .....	19
Tabla 3. Descripción de las variables de entrada .....	20
Tabla 4. Descripción de las variables de respuesta .....	21
Tabla 5. Diámetro de partícula en diferentes formulaciones de microencapsulación.....	29
Tabla 6. Análisis de dispersión de tamaño de partícula de los tratamientos.....	32
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de la Eficiencia de Microencapsulación de los tratamientos .....	32
Tabla 8. Eficiencia de microencapsulación de los tratamientos.....	33
Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) de la liberación de ráfaga de los tratamientos.....	34
Tabla 10. Calificación ponderada de variables de respuesta de los tratamientos. ....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la curcumina III, II y I .....	14
Figura 2. Proceso de obtención de micropartículas.....	23
Figura 3. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las distintas micropartículas liofilizadas a un aumento de 1000X. Barra de calibración: 10 $\mu\text{m}$ .....	27
Figura 4. Micrografías de micropartículas elaboradas por el método de emulsión - evaporación de solvente. Lente objetivo: 40X .....	27
Figura 5. Gráfica de intervalos de tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ ) .....	30
Figura 6. Histograma de distribución del tamaño de micropartículas elaboradas con distintos tratamientos con línea de distribución ajustada .....	31
Figura 7. Liberación abrupta en las primeras cinco horas.....	35

## RESUMEN

La curcumina, compuesto bioactivo fenólico, obtenida del rizoma de la cúrcuma (*Curcuma longa*), es un colorante natural que ha demostrado varios beneficios terapéuticos y funcionales. Su uso en la industria alimenticia y farmacológica se ve limitado por su inestabilidad frente a diversos factores ambientales y fisiológicos. Para mejorar su estabilidad y bioactividad, se han aplicado diferentes técnicas de microencapsulación con varios materiales de pared, siendo los agentes encapsulantes grasos los que mejor efecto han presentado, pero con limitantes tecnológicas y de disponibilidad. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar dos matrices grasas poco exploradas, la cera de abeja (CA) y la manteca cacao (MC), como agentes encapsulantes en microencapsulación por emulsión – evaporación de solvente. Para la elaboración de cápsulas se utilizó acetato de etilo como solvente orgánico y Tween 80 como surfactante. En pruebas preliminares se definieron dos niveles de la relación fase acuosa: fase orgánica (FAc:FO) (3:1, 7:1). Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial  $2^2$ , combinando los agentes encapsulantes con la relación FAc:FO, se realizaron 3 repeticiones y se generaron 12 unidades experimentales. Como variables de salida se consideró, eficiencia de encapsulación (%EE) y liberación abrupta. Se caracterizaron las micropartículas y se evaluó la morfología, diámetro y distribución de tamaño. El tratamiento con mayor efectividad correspondió a MC 3:1, con un %EE de 91,88% y una liberación abrupta de 4,05%. Las partículas fueron las que mayor uniformidad tuvieron, con un diámetro de 4,2  $\mu\text{m}$ , sin embargo, los dos materiales propuestos tienen potencial para microencapsular la curcumina con resultados prometedores, y por su fácil obtención y bajo costo pueden ser alternativas atractivas para sistemas de microencapsulación.

**Palabras clave:** curcumina, microencapsulación, manteca de cacao, cera de abeja, relación fase acuosa/fase orgánica.

## ABSTRACT

Curcumin a phenolic bioactive compound, obtained from the rhizome of turmeric (*Curcuma longa*) is a natural colorant that has shown several therapeutic and functional benefits. Its use in the food and pharmacological industry is limited by its instability against various environmental factors and physiological conditions. To improve its stability and bioactivity, different microencapsulation techniques have been applied with various wall materials, where fatty encapsulating agents have shown the best results, but most of them present technological and availability limitations. The present research aimed to evaluate two fat matrices not too experimented such as beeswax and cocoa butter as encapsulating agents in microencapsulation by emulsion - solvent evaporation. Ethyl acetate was used as an organic solvent and Tween 80 as a surfactant. In preliminary tests, were determined two levels for the aqueous phase: organic phase ratio (FAc: FO) (3:1, 7:1). It was applied a complete randomized design with a factorial arrangement  $2^2$ , combining the encapsulating agents with the FAc:FO ratio. It was made three repetitions generating 12 experimental units. As output variables, encapsulation efficiency (%EE) and burst release were evaluated. The microparticles were characterized evaluating: morphology, diameter and size distribution. The most effective treatment corresponded to MC 3:1, having a %EE of 91,88% and a burst release of 4,05%. These particles were the ones with the greatest uniformity, with a diameter of 4.2  $\mu\text{m}$ , however, the two proposed materials have the potential to microencapsulate curcumin with promising results, since they are easy to acquire and have low cost, resulting in attractive alternatives for microencapsulation systems.

**Key words: turmeric, curcumin, microencapsulation, cocoa butter, beeswax, aqueous phase / organic phase ratio**

## INTRODUCCIÓN

La cúrcuma, también conocida como turmerica o azafrán de las Indias, es una especie obtenida de los rizomas de *Curcuma longa*, con forma similar al jengibre, siendo parte de la familia *Zingiberaceae*. Ha sido cultivada por siglos en países asiáticos, y actualmente es encontrada en todas las regiones tropicales del mundo (Badui Dergal, 2006). Esta especia es consumida como medicina tradicional y considerada como remedio casero para varias enfermedades como la artritis, diarrea, fiebre, problemas hepáticos, entre otras (Asaithambi et al., 2020; González-Albadalejo et al., 2015).

La cúrcuma posee propiedades pigmentantes, con un color amarillo anaranjado vibrante, además imparte un olor intenso y astringente. Su sabor es amargo y picante, con notas de almizcle, naranja y jengibre (Badui Dergal, 2006). Es utilizada como condimento, preservante, colorante para alimentos y agente terapéutico (Degot et al., 2021).

Los curcuminoides, compuestos bioactivos fenólicos, constituyen entre 2,5 y 6% de la composición de la cúrcuma, y son los responsables del color amarillo brillante y de sus propiedades terapéuticas. Entre estos se encuentran: Curcumina I o curcumina; Curcumina II o demetoxicurcumina y la Curcumina III, bisdesemetoxicurcumina; se diferencian por el número de grupos metoxi en su estructura molecular, como se detalla en la Figura 1 (Cano-Higueta et al., 2015; Degot et al., 2021). Todos los tipos de curcuminoides forman un complejo conocido como azafrán indio o amarillo natural 3 (Wong et al., 2018). Al menos el 70% de estos compuestos corresponde a la Curcumina I, que posee la mayor variedad de las propiedades medicinales y farmacológicas (Asaithambi et al., 2020; Cano-Higueta et al., 2015; González-Albadalejo et al., 2015; Kharat et al., 2017).

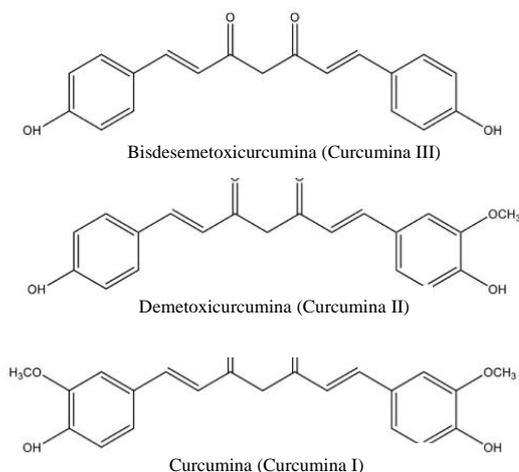


Figura 1. Estructura de la curcumina III, II y I

Fuente: (Degot et al., 2021)

La composición aproximada de la cúrcuma es variable y depende de la región de origen (Tabla 1) (González-Albadalejo et al., 2015; Macêdo et al., 2021).

Tabla 1. Composición proximal de la cúrcuma

Composición	Porcentaje (%)
Curcuminoides	2,50 – 6,00
Curcumina I	1,68 – 4,20
Fibra	3,50 – 22,00
Minerales	3,20 – 3,50
Proteínas	5,80 – 10,00
Grasas	3,50 - 4,70
Agua	12,00 – 13,00
Hidratos de carbono	52,00 – 67,00

Fuente: (González-Albadalejo et al., 2015; Kharat et al., 2017)

La curcumina I es utilizada como pigmento natural seguro y como condimento culinario (Degot et al., 2021). Ha sido empleada en varias aplicaciones farmacéuticas por sus propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, antidiabéticas, antioxidantes, antiveneno, hipocolesterolémicas, antitumorales; existen indicios de que incluso puede actuar contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Rathore et al., 2020). Otros autores relacionan su consumo con la reducción de la incidencia de Alzheimer (Macêdo et al., 2021) y con propiedades neuroprotectoras (González-Albadalejo et al., 2015; Monge Neto et al., 2017). Algunos ensayos clínicos han determinado que una dosis de 10 g/día no presenta toxicidad

(Ariyaratna & Karunaratne, 2016; de Carvalho et al., 2020; de Paiva et al., 2019). Por otro lado, estudios de sensibilidad en ratas hembras reportaron que la dosis letal 50 oral de la curcumina fue mayor a 5000 mg/kg/día (Krishnaraju et al., 2009).

El principal problema de la curcumina es su baja solubilidad en agua, inestabilidad química frente a agentes ambientales y fisiológicos, que limitan su extracción, almacenamiento y formulación, por lo que su uso en la industria alimentaria y farmacéutica es reducido (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Cano-Higueta et al., 2015; Degot et al., 2021).

Por su disposición molecular, es hidrófoba y tiene muy baja solubilidad en medios acuosos y una dispersabilidad insuficiente, lo que conduce a una ineficiente disponibilidad y dificultad de manejo en matrices alimentarias (Kharat et al., 2017; Nahum & Domb, 2021). La curcumina es prácticamente insoluble en soluciones ácidas, inestable en soluciones de pH básico y se degrada fácilmente produciendo ácido ferúlico, feruloilmetano y productos de condensación marrón, que limitan su uso (Cano-Higueta et al., 2015; Palash et al., 2015).

La curcumina, además, tiene baja estabilidad a la luz natural y a la radiación UV. Su naturaleza fotosensible dificulta la aplicación general y en determinados productos (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Degot et al., 2021; Hu et al., 2019). Esta molécula es estable a temperaturas bajas y moderadas, menores a 100°C, que facilita su manipulación a temperatura ambiente y suele descomponerse a altas temperaturas (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Degot et al., 2021; González-Albadalejo et al., 2015).

La biodisponibilidad de la curcumina es limitada por la inestabilidad química bajo condiciones fisiológicas normales, impidiendo que los compuestos bioactivos lleguen a ser absorbidos y por lo tanto, no tienen el efecto funcional esperado (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Kharat et al., 2017). La curcumina no se absorbe fácilmente en el sistema digestivo humano en condiciones neutras, ácidas o alcalinas (Hu et al., 2019). La biodisponibilidad en el cuerpo humano se ve reducida por la rápida eliminación sistémica, poca absorción y

metabolismo acelerado (Ariyaratna & Karunaratne, 2016). La absorción por las células epiteliales es ineficiente, debiendo ser ingerida con lípidos digeribles que formen micelas mixtas en el intestino delgado (Kharat et al., 2017).

Por otro lado, la microencapsulación es una técnica que permite encerrar varios ingredientes activos, como la curcumina, en pequeñas cápsulas que ayudan a mantener las características funcionales y sensoriales del material encapsulado (Sharipova et al., 2016). Con este método se asegura extender la vida útil del producto, proteger contra la evaporación y controlar la reacción o la migración en los sistemas alimentarios (Mansour et al., 2020). La tecnología de microencapsulación forma una pared alrededor del material del núcleo que lo protege contra la luz, la humedad, el pH y el calor (Deladino et al., 2008). La preparación de microcápsulas de características deseadas depende de varios factores, como el tamaño y la naturaleza del núcleo, las propiedades del material de la pared, las técnicas y los parámetros de encapsulación, rendimiento y eficiencia (Sharipova et al., 2016). En el campo del procesamiento de alimentos, se han utilizado distintas técnicas de microencapsulación para proteger distintos ingredientes alimentarios como saborizantes, aceites esenciales, lípidos, oleorresinas y colorantes contra el deterioro, pérdidas volátiles o la interacción con otros compuestos de la matriz o del ambiente (Cano-Higueta et al., 2015). La microencapsulación además de la protección durante la producción y el almacenamiento de alimentos, permite la fabricación de ingredientes alimentarios en polvo con nuevas propiedades (Cano-Higueta et al., 2015).

Sistemas de microencapsulación se han estudiado para mejorar la dispersabilidad en agua, la estabilidad química y la biodisponibilidad de la curcumina (Ariyaratna & Karunaratne, 2016). Uno de los enfoques más prometedores ha sido encapsular la curcumina en sistemas de administración como conjugados, complejos moleculares, micelas, liposomas, suspensiones, hidrogeles y emulsiones (Nahum & Domb, 2021). Algunos materiales utilizados

para la microencapsulación de curcumina incluyen sustancias biodegradables y biocompatibles como el ácido poli-láctico-co-glicólico, distintas proteínas y grasas, y diferentes compuestos como el óxido de zinc, dióxido de titanio y oro. Es de suma importancia que todas las matrices sean reconocidas como seguras y que no generen toxicidad ni reacciones secundarias (Ariyaratna & Karunaratne, 2016).

La microencapsulación de curcumina resuelve los problemas ya mencionados, además de retener sus propiedades funcionales, y mejorar su biodisponibilidad y absorción (Monge Neto et al., 2017). Esta técnica incrementa la estabilidad del compuesto, corrigiendo la solubilidad de la cúrcuma en medios acuosos, lo que facilita su uso como pigmento natural y como alimento funcional (Asaithambi et al., 2020). Se han utilizado varios materiales como agente encapsulante para la microencapsulación de curcumina, como almidones, proteínas, lípidos, entre otros (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Lucas et al., 2020; Soudaleff et al., 2013; Y. F. Wang et al., 2012; Zuanon et al., 2013), siendo las matrices grasas las que han presentado mayor biodisponibilidad y resistencia a condiciones fisiológicas (Dulbecco & Savarino, 2013; Hajj Ali et al., 2016; Nahum & Domb, 2021). Se ha determinado que sistemas de microencapsulación elaborados a partir de lípidos sólidos biodegradables, pueden prepararse mediante varios métodos y resultan efectivos (Yadav et al., 2009).

La utilización de fosfolípidos y colesterol como material de pared para liposomas han generado microcápsulas de baja estabilidad (Dulbecco & Savarino, 2013; Nahum & Domb, 2021). Otro agente encapsulante con buenos resultados es la cera carnauba como pared, pero su manejo implica altas temperaturas de procesamiento y su alto contenido de ácidos grasos saturados puede tener efectos adversos en la salud (Haghighat-Kharazi et al., 2018). La manteca de karité también ha sido empleada, pero al obtenerse principalmente de forma silvestre en África, es limitada su adquisición (Hajj Ali et al., 2016, 2018).

En esta investigación se buscaron agentes encapsulantes lipídicos de fácil obtención en el territorio ecuatoriano, bajo costo y manejo simple, que permitieron formar doble emulsión (Park et al., 2019), como la cera de abeja y la manteca de cacao, materias primas locales que han sido poco exploradas. Ensayos de microencapsulación han demostrado que la manteca de cacao presentó buenas cualidades como agente encapsulador, teniendo un alto porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE) (Álvarez, 2020; Ponce, 2020; Terán, 2019), al igual que la cera de abeja (Baixinho, 2018).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el potencial de la manteca de cacao y de la cera de abeja como agentes encapsulantes en sistemas de microencapsulación de una oleorresina rica en curcumina. Se determinó la formulación de microencapsulación con mejor eficiencia de microencapsulación y menor porcentaje de liberación abrupta. También se evaluó la morfología, diámetro y mayor uniformidad en la distribución del tamaño para establecer el tratamiento más prometedor.

## METODOLOGÍA Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### Materiales y reactivos

- Oleorresina de cúrcuma: Ecom Food Industries Corporation (Ontario - Canadá)  
Turmeric Oleoresin (Anexo A y B)
- Manteca de cacao (agente encapsulante): 100% manteca natural de cacao
- Cera de abeja premium (agente encapsulante): Apícola del Ecuador (Amaguaña – Ecuador)
- Tween 80 al 0,5%: Polisorbato 80 (Saint Louis – United States of America)
- Acetato de etilo (EtAc): Ethyl Acetate Optima™ for HPLC and GC, Fisher Chemical
- Etanol potable al 96%

### Diseño experimental

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial  $2^2$  que corresponde a la combinación de dos factores (agente encapsulante y relación fase acuosa/fase orgánica) con dos niveles cada uno. Se obtuvo 4 tratamientos (Tabla 2), y 12 unidades experimentales, ya que se realizaron tres repeticiones.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos del ensayo

Tratamientos	Agente encapsulante	Relación fase acuosa/fase orgánica
CA 3:1	Cera de abeja	3:1
CA 7:1	Cera de abeja	7:1
MC 3:1	Manteca de cacao	3:1
MC 7:1	Manteca de cacao	7:1

### **Variables de entrada.**

Se evaluaron dos tipos de matrices lipídicas de origen natural como agentes encapsulantes, la cera de abeja y la manteca de cacao (Tabla 3). La elección del material de la pared es un factor importante, ya que afecta la eficiencia de encapsulación y la estabilidad de las cápsulas (Mansour et al., 2020).

Otra variable de entrada fue la relación entre la fase acuosa y la fase orgánica (FAc:FO) (Tabla 3). Para este ensayo se realizaron pruebas preliminares evaluando las proporciones 3:1 y 7:1 respectivamente, pues fueron las combinaciones que mayor diferencia de tamaño presentaron. La fase orgánica de una emulsión está compuesta por el agente encapsulante, en este caso las distintas matrices lipídicas y el material a encapsular (curcumina). Usualmente, esta fase es disuelta en un solvente orgánico. La fase acuosa, comúnmente contiene un surfactante que permite dispersar la fase orgánica, formando así las micropartículas. La relación que existe entre ambas fases, tanto la acuosa como la lipídica, incide en el tamaño, estabilidad, eficiencia y rendimiento de las microcápsulas (Hajj Ali et al., 2016).

Tabla 3. Descripción de las variables de entrada

<b>Variable de entrada</b>	<b>Especificaciones</b>
Tipo de agente encapsulante	2 niveles: cera de abeja, manteca de cacao (Baixinho, 2018; Terán, 2019)
Relación fase acuosa / fase orgánica (FAc:FO)	2 niveles: 3:1 – 7:1 (Valores determinados en pruebas preliminares).

### **Variables de respuesta.**

Se establecieron dos variables de respuesta, detalladas en la Tabla 4.

Tabla 4. Descripción de las variables de respuesta

<b>Variable de respuesta</b>	<b>Especificación</b>
Eficiencia de encapsulación (%EE)	Mayor eficiencia (Brunetti & Felice, 2016; Yeo & Park, 2004).
Liberación abrupta o “burst release”	Menor liberación (Yeo & Park, 2004)

Todas las variables mencionadas son afectadas directamente por los materiales de encapsulación y las condiciones de experimentación. El comportamiento de la matriz con los solventes, el método utilizado, temperatura, pH y la distribución del tamaño de partícula alteran la eficiencia de microencapsulación (%EE) y la liberación abrupta. La relación entre las fases acuosa y orgánica puede prevenir pérdidas durante el proceso de microencapsulación (Brunetti & Felice, 2016).

### **Ponderación de las variables de respuesta.**

Se calificó las variables de respuesta en cada uno de los tratamientos. La variable de mayor ponderación fue la eficiencia de encapsulación (%EE) (2) debido a que permite estimar el rendimiento del proceso y su efectividad, se espera además el mayor porcentaje. Por otro lado, la liberación abrupta o “burst” (1) influye en la vida útil de la cápsula, ya que a medida que aumenta el porcentaje de liberación se reduce la duración de la micropartícula siendo lo ideal la menor liberación.

Por otro lado, es importante tomar en cuenta la caracterización de las micropartículas, distribución y tamaño, ya que en un sistema de microencapsulación, uno de los principales objetivos es obtener partículas finas y uniformes (Guo et al., 2020).

## **Método de elaboración**

### **Obtención de micropartículas.**

Las micropartículas se obtuvieron por el método de emulsión – evaporación solvente. La matriz lipídica, en este caso la manteca de cacao o la cera de abeja, se disolvieron en acetato de etilo (5% p/v). Como surfactante y para dar estabilidad a la emulsión se utilizó una solución acuosa de Tween 80 al 0,5% (Haghighat-Kharazi et al., 2018). Por la naturaleza fotosensible de la curcumina (Park et al., 2019), las soluciones fueron protegidas de la luz durante todo el proceso. Las condiciones de experimentación fueron determinadas en pruebas preliminares desarrolladas en el laboratorio de Biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito.

Para elaborar la fase orgánica, en un vaso de precipitación se mezcló 1 g de la matriz lipídica – agente encapsulante, 5% p/v (manteca de cacao o cera de abeja) con 0,1 g de la oleoresina de cúrcuma, 10% p/v, en 20 mL de acetato de etilo. Considerando los distintos puntos de fusión, se aplicó 40°C para MC y 65°C para CA (Anexo C). Con un agitador magnético octagonal, se agitó a 800 rpm en una plancha magnética hasta la completa disolución de la matriz lipídica y el vaso de precipitación fue sellado con Parafilm.

Se colocó en un vaso de precipitación de 250 mL la cantidad determinada de la fase acuosa (Anexo D), se agitó con un homogeneizador de alta velocidad (High Speed Homogenizer – Adjustable XFK Modelo FSH-2A 0719018) hasta alcanzar 1200 rpm y se agregó la fase orgánica agitándose por 50 segundos. Finalmente se adicionó 50 mL de agua destilada a 4°C y se homogenizó por 10 segundos.

El solvente fue evaporado después de agitación por 24 horas a 800 rpm a temperatura ambiente. Finalmente se liofilizaron las soluciones con micropartículas por 72 horas (liofilizador BIOBASE, modelo BK-FD 10P). En la Figura 2 se presenta el proceso de obtención de micropartículas.

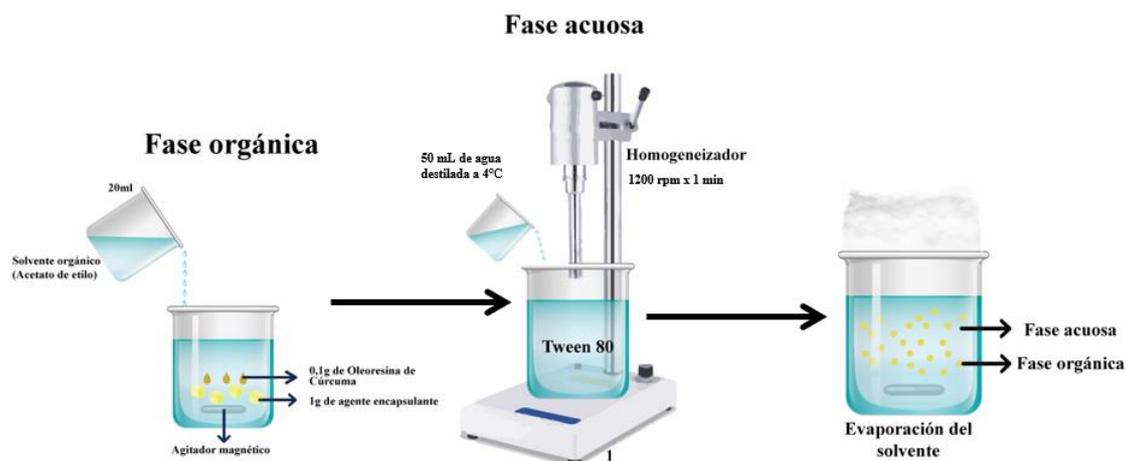


Figura 2. Proceso de obtención de micropartículas

Adaptado a partir de (Y. Wang et al., 2016)

## Caracterización de micropartículas

### Morfología.

Todas las muestras liofilizadas fueron analizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM), JSM -IT300 Scanning Electron Microscope (Tokyo – Japón). Las muestras se colocaron en topes metálicos con cinta de carbono. Las imágenes se obtuvieron a 5 kV y 50 Pa, a diferentes aumentos: 200X, 500X, 1000X y 2000X.

### Diámetro y distribución del tamaño de partícula.

Según Lucas et al. (2020), el factor que más influye en el tamaño de partícula es el tipo de homogeneizador y la concentración de surfactante. Se analizó el tamaño y la dispersión del diámetro de las micropartículas obtenidas con el microscopio LEICA DM 500, y se utilizó el software incorporado con el equipo (LAS EZ). Se tomaron fotos con aumento 40X. Los datos fueron procesados en el programa IMAGE J, tomando las mediciones de al menos, 100

micropartículas como referencia por tratamiento, generando el promedio del diámetro y diagrama de distribución.

### **Porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE).**

La eficiencia de encapsulación corresponde a la concentración del material incorporado detectado sobre la concentración inicial utilizada (Brunetti & Felice, 2016). La cuantificación del %EE se realizó midiendo la concentración de curcumina por espectroscopia UV – VIS (Hanon Instruments). Se utilizó una curva de calibración con soluciones estándar de concentraciones conocidas de curcumina en etanol potable. La absorción máxima de la curcumina es dependiente del solvente; para la curcumina obtenida en etanol se tuvo un pico de absorción máximo a una longitud de onda de 427 nm (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Priyadarsini, 2014; Soudaleff et al., 2013). Etanol potable al 96% fue el blanco utilizado.

Se filtraron 5 mL de la solución de micropartículas en un filtro para jeringas PTFE 0,45 µm. Se diluyeron 500 µL del filtrado en 4500 µL de etanol potable y se homogenizó por 15 segundos en un vórtex. Se leyó la densidad óptica en el equipo UV-VIS, a una longitud de onda de 427 nm. Con la ecuación obtenida en la curva de calibración, fue calculada la concentración en gramos de curcumina sin encapsular. Se utilizaron partículas sin oleoresina como blanco.

Para determinar el porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE) se aplicó la ecuación 1:

$$\%EE = \frac{\text{Curcumina total (g)} - \text{curcumina sin encapsular (g)}}{\text{Curcumina total (g)}} \times 100 \quad (1)$$

### **Liberación abrupta o liberación “burst”.**

La liberación abrupta o “burst release”, dada durante las primeras horas, es un parámetro que indica que tan rápido se desintegra la matriz. Uno de los objetivos en el desarrollo de

sistemas de microencapsulación es reducir la explosión inicial y lograr una tasa de liberación constante a partir de este punto (Yeo & Park, 2004). Para el estudio de la liberación *in vitro* durante las primeras horas, cuando las micropartículas estuvieron secas, se suspendieron en buffer fosfato salino (PBS), a una concentración de 2 mg/mL

Las suspensiones se incubaron a 37°C, durante 5 horas, en un agitador orbital a 80 rpm. Una vez cumplido el tiempo de incubación, se filtró cada una de las muestras, utilizando un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0,45 µm. Se colocaron 500 µL del filtrado en 4500 µL de etanol potable y se homogenizó en vórtex por 15 segundos. Se leyó la densidad óptica en el UV-VIS, utilizando como blanco el alcohol potable al 96%, a una longitud de onda de 427 nm, y se determinó la concentración a través de la curva de calibración, como se explicó anteriormente.

Para calcular la concentración en peso de curcumina después de la digestión con PBS por 5 horas, se aplicó la Ecuación 2:

$$\text{Concentración de curcumina (\%p/p)} = \frac{\text{masa de curcumina liberada (g)}}{\text{masa de micropartículas inicial (g)}} \times 100 \quad (2)$$

### **Análisis estadístico**

Todos los datos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y con comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza del 95 % ( $p \leq 0,05$ ). Se utilizaron dos softwares, Minitab® 20.2 (64-bit), 2021 y Design Expert Versión 13.0, 2021.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron micropartículas utilizando dos matrices grasas, manteca de cacao (MC) y cera de abeja (CA), utilizando dos niveles de relación entre la FAc:FO. Hay diferentes parámetros que generalmente se evalúan en la literatura para determinar la efectividad del proceso de microencapsulación. En este estudio se definieron en pruebas preliminares los siguientes: caracterización física, diámetro de partícula, distribución de tamaño, eficiencia de microencapsulación y liberación abrupta.

### Morfología de las micropartículas

El tamaño y morfología de las micropartículas es influenciado por el proceso de elaboración, temperatura y relación entre el agente y la matriz (Guo et al., 2020). En la Figura 3, se aprecian micrografías de barrido con un aumento de 1000X. En el caso de la cera de abeja, se observan estructuras achatadas de gran tamaño, similares a una hojuela con bordes irregulares. Existe mayor cantidad de material en relación con la manteca de cacao, lo que podría corresponder a grumos de matriz lipídica solidificada de forma prematura o aglomeraciones de micropartículas (FAc:FO 3:1). En las estructuras de mayor tamaño se pueden ver pequeñas masas esferoides con bordes definidos, adheridas, (FAc:FO 7:1) que corresponden a las micropartículas. En cuanto a la manteca de cacao, es posible visualizar varias esferas aglomeradas de forma lisa, simétrica y uniforme, mucho más definidas que las micropartículas con cera de abeja.

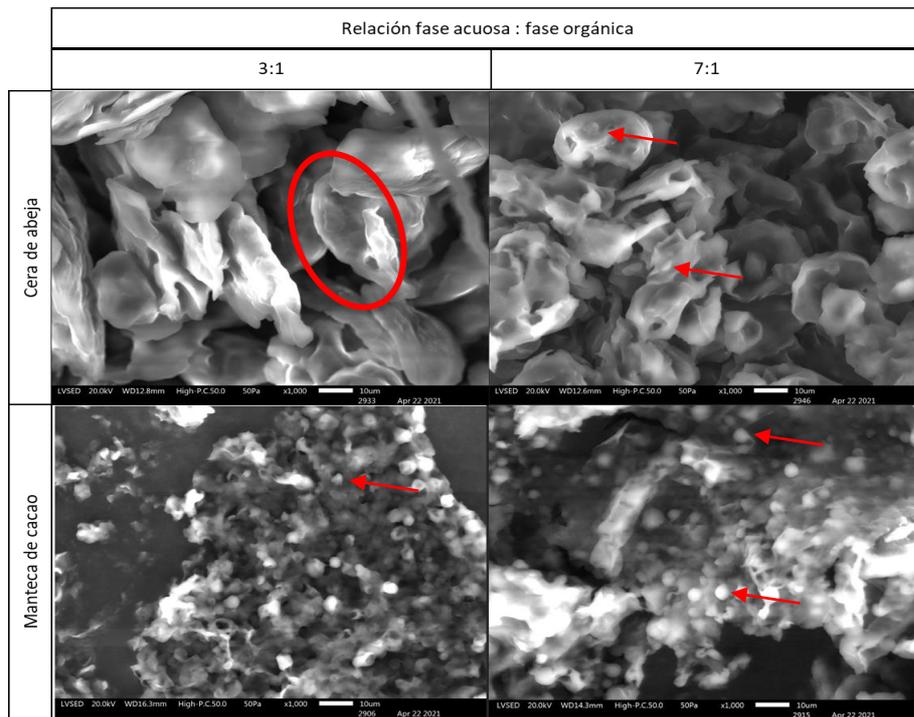


Figura 3. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las distintas micropartículas liofilizadas a un aumento de 1000X.  
Barra de calibración: 10  $\mu\text{m}$

Se analizaron todas las muestras en un microscopio óptico (Figura 4), observándose micropartículas suspendidas en la fase acuosa.

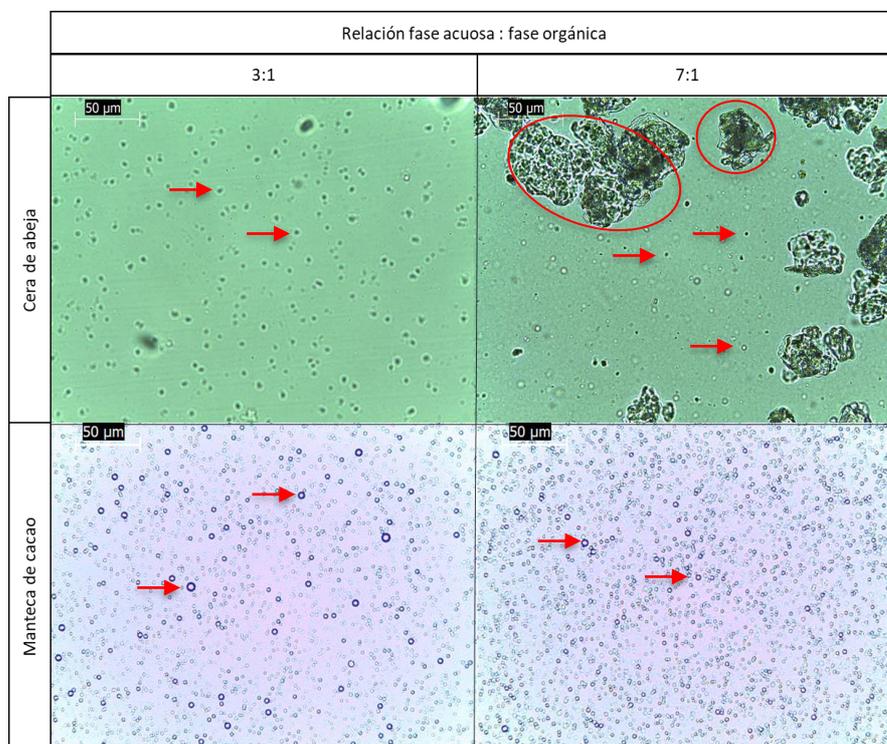


Figura 4. Micrografías de micropartículas elaboradas por el método de emulsión - evaporación de solvente. Lente objetivo: 40X

Es posible apreciar que las partículas elaboradas con cera de abeja como agente encapsulante formaron aglomeraciones además de grumos de la cera de abeja, dejando en evidencia que existió parte del material lipídico sin encapsular, como se infirió del análisis SEM. Estudios de microencapsulación realizados con distintos tipos de ceras sugieren homogenizar las fases a temperaturas superiores a la temperatura de fusión de la matriz lipídica, por lo que aplicar mayor temperatura en las fases podría reducir la presencia de grumos (Nahum & Domb, 2021), y emplear al menos 90°C evitaría aglomeraciones y pérdidas prematuras de cera (Haghighat-Kharazi et al., 2018). Investigaciones recientes han demostrado que es posible microencapsular curcumina con agentes grasos como cera carnauba y manteca de karité (Hajj Ali et al., 2018) y obtener esferas redondas, uniformes y con una dispersión homogénea al aplicar temperaturas superiores a 70°C y velocidad de agitación mayor a 15.000 rpm (Nahum & Domb, 2021). Este proceso se denomina homogeneización en caliente, y, al estar por encima del punto de fusión de la cera, podría evitar la formación de masas irregulares producto de una posible solidificación súbita, sin llegar a formar micropartículas. Las partículas que se aprecian en el centro de las fotos, señaladas con flechas, muestran formas irregulares, ligeramente ovaladas (Figura 4).

Las partículas elaboradas con MC tuvieron una forma circular uniforme, sin aglomeraciones ni grumos. Otros estudios realizados en microencapsulación con manteca de cacao como agente encapsulante han tenido similares resultados, esferas con bordes lisos y uniformes (Álvarez, 2020; Ponce, 2020). En la Figura 4 también es posible apreciar la cantidad de micropartículas presentes en el campo óptico, donde son mucho más abundantes aquellas que fueron elaboradas con manteca de cacao como agente encapsulante, en especial aquellas realizadas con relación fase acuosa/fase orgánica 7:1, en comparación con las obtenidas con cera de abeja.

Bajo las condiciones utilizadas en el presente estudio, y del análisis de imágenes micrográficas, se puede deducir que la formación de micropartículas fue principalmente favorecida con la manteca de cacao.

### **Diámetro de partícula**

Se midieron al menos 100 micropartículas por cada tratamiento. En la Tabla 5 se incluye la cantidad total de micropartículas evaluadas (N), el promedio del diámetro y desviación estándar.

Tabla 5. Diámetro de partícula en diferentes formulaciones de microencapsulación

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Diámetro de partícula (µm)*</b>
MC 3:1	445	4,2 ± 0,82
MC 7:1	589	3,9 ± 0,69
CA 7:1	105	3,4 ± 1,18
CA 3:1	105	3,2 ± 1,10

\*Promedio ± desviación estándar

Las partículas de mayor tamaño correspondieron a las de manteca de cacao con una relación 3:1 (FAc:FO) (Tablas 5 y 6), corroborando el hecho de que, a mayor relación entre la fase acuosa y la orgánica, menor tamaño de partícula (Becker Peres et al., 2016; Hajj Ali et al., 2018). Hajj Ali et al. (2016) sugieren que un incremento en la fase lipídica resulta en micropartículas de mayor tamaño.

Las diferencias entre matrices lipídicas puede darse por su diferente punto de fusión, donde la manteca de cacao se funde a 33°C aproximadamente (Hajj Ali et al., 2018) mientras que la cera de abeja requiere mayor estabilización y una mayor temperatura de manejo de al menos 65°C (Nahum & Domb, 2021).

Es evidente que el comportamiento de las matrices lipídicas es distinto. En la Figura 5, se puede observar que las micropartículas con menor tamaño correspondieron a las elaboradas

con cera de abeja como agente encapsulante y las micropartículas de manteca de cacao fueron las de mayor diámetro (Tabla 5).

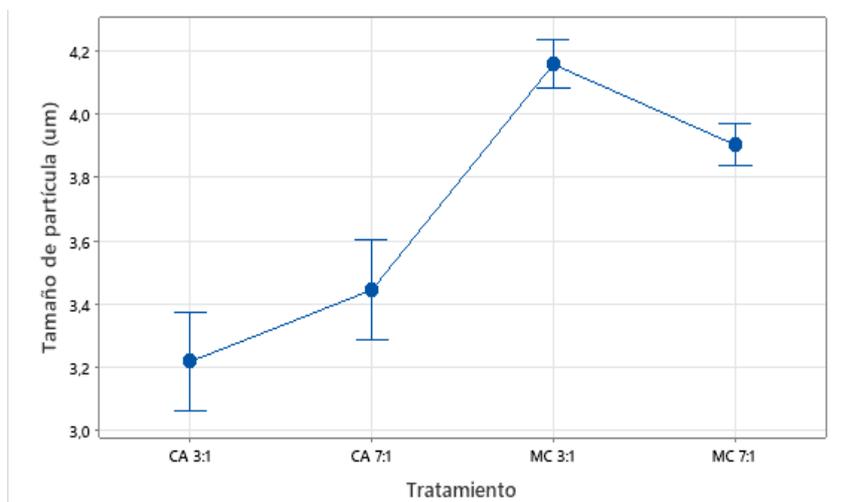


Figura 5. Gráfica de intervalos de tamaño de partícula (µm)

Promedio  $\pm$  desviación estándar

Con base en el diámetro de partícula calculado a partir de la microscopía electrónica, se puede justificar lo que se observa en la Figura 3, donde las cápsulas elaboradas con cera de abeja tendieron a aglomerarse, formando las hojuelas de mayor tamaño dado que las micropartículas unitarias de este material son de menor tamaño comparadas a las de manteca de cacao. Haghghat-Kharazi et al. (2018) microencapsularon  $\alpha$ -amilasa en cera de abeja y observaron que partículas de forma irregular tendían a aglomerarse.

### Distribución del tamaño de partícula

La Figura 6 muestra la distribución del tamaño de partícula de cada uno de los tratamientos evaluados. Los picos de cada uno de los gráficos, o conglomerados más altos de las barras representan los valores más comunes o la moda. Tal como se puede ver en la Tabla 5, la mayoría de las microcápsulas estuvo entre 3 y 4 µm. En los cuatro tratamientos, el

histograma tiene datos asimétricos hacia la izquierda, por lo que la mayoría de las micropartículas suelen ser más pequeñas y solo algunas son de un diámetro mayor a 5  $\mu\text{m}$ .

Las micropartículas que presentaron una menor distribución de tamaño, mayor uniformidad, fueron las elaboradas a partir de manteca de cacao con una relación fase acuosa/orgánica de 3:1 pues la mayoría de los datos aparece bajo la línea de distribución ajustada mostrando una tendencia de distribución normal.

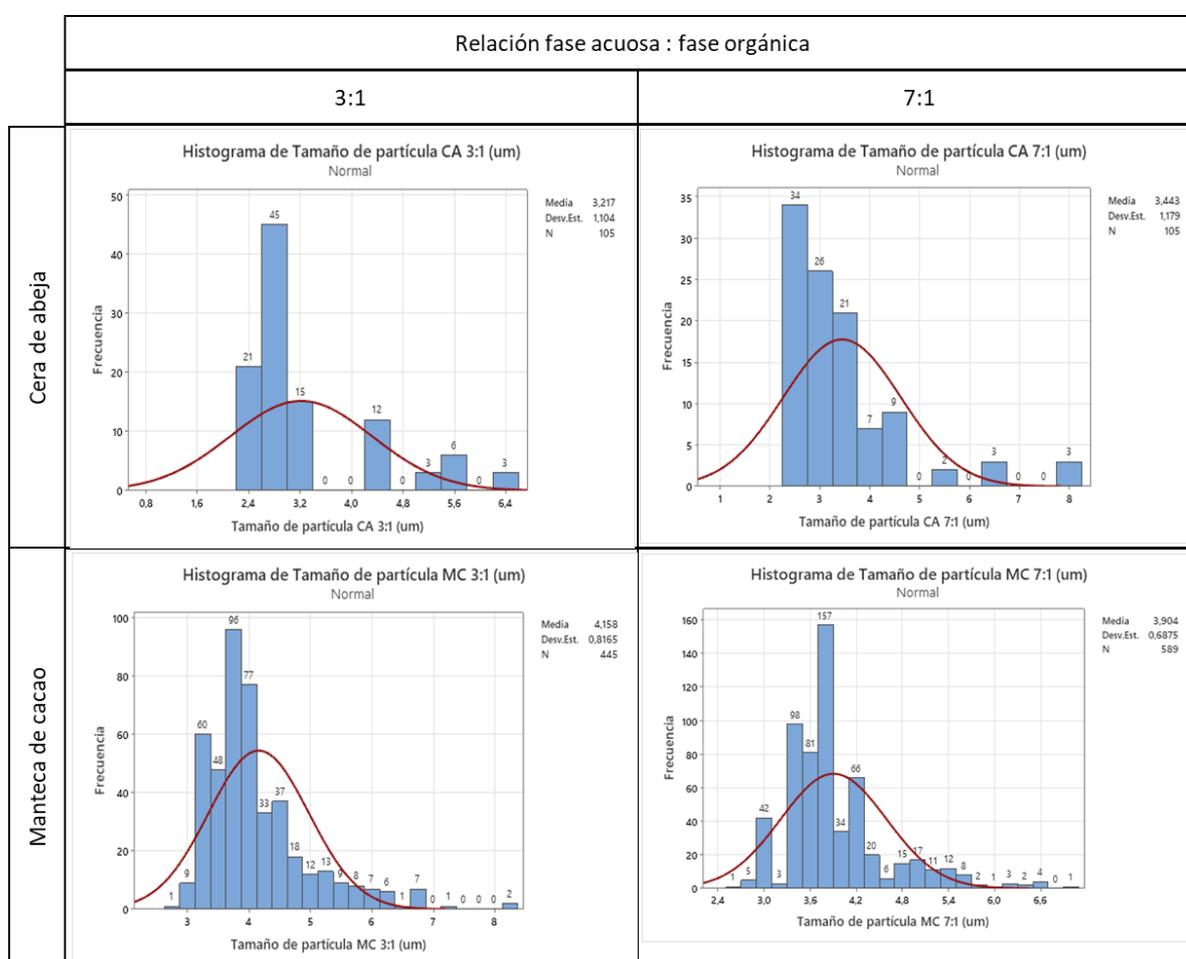


Figura 6. Histograma de distribución del tamaño de micropartículas elaboradas con distintos tratamientos con línea de distribución ajustada

En la Tabla 6 se confirma que los datos tuvieron una asimetría hacia la izquierda, con el mayor número de datos (mayor frecuencia) inclinados hacia el menor tamaño de diámetro.

Tabla 6. Análisis de dispersión de tamaño de partícula de los tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Tamaño de mayor frecuencia (µm)</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje de partículas (%)</b>
CA 3:1	2,2 – 3,4	81	77,14
CA 7:1	2,3 – 3,8	47	44,76
MC 3:1	3,1 – 4,1	281	63,15
MC 7:1	3,3 – 3,4	436	74,02

En las imágenes de la Figura 4, se aprecia que las micropartículas MC 3:1 fueron también más uniformes que las demás.

### **Eficiencia de encapsulación (%EE)**

Como se observa en la Tabla 7, hubo diferencia significativa entre los tratamientos, además de que tanto los factores de forma independiente como su interacción influyeron significativamente en la eficiencia de microencapsulación ( $p \leq 0,05$ ).

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de la Eficiencia de Microencapsulación de los tratamientos

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Valor p</b>
Tratamientos	3	253,87	84,62	0,000*
Agente encapsulante (A)	1	27,94	27,94	0,003*
Relación fase acuosa/orgánica (B)	1	209,81	209,81	0,000*
Interacción A x B	1	16,12	16,11	0,012*
Error	8	12,15	1,52	
Total	11	266,02		

\*Significativo ( $p \leq 0,05$ )

En todos los tratamientos la eficiencia de microencapsulación fue alta, por encima del 80% (Tabla 8); similar al de otros ensayos donde se microencapsuló curcumina y la %EE fue de más del 75% (Ariyaratna & Karunaratne, 2016; Cano-Higuita et al., 2015; Lucas et al., 2020).

Tabla 8. Eficiencia de microencapsulación de los tratamientos

<b>Tratamientos</b>	<b>Eficiencia de Microencapsulación (%)*</b>
MC 3:1	91,88 ± 0,57a
CA 3:1	91,14 ± 0,40a
MC 7:1	85,83 ± 0,19b
CA 7:1	80,46 ± 2,36c

\*Medias ±desviación estándar

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey

Entre los tratamientos en los que el agente encapsulante fue la manteca de cacao o la cera de abeja, con la relación de 3:1 entre la fase acuosa y la fase orgánica, no hubo diferencia significativa ( $p>0,05$ ), y tuvieron la mayor eficiencia de microencapsulación, diferente significativamente a los otros tratamientos ( $p\leq 0,05$ ) con menor porcentaje de eficiencia de microencapsulación y que fueron estadísticamente diferentes entre sí ( $p\leq 0,05$ ) (Tabla 8).

Al cambiar la relación fase acuosa/ fase orgánica (FAc:FO) fue afectada la eficiencia de encapsulación (%EE). Mientras menor fue la fase acuosa, mayor fue la eficiencia de encapsulación. La eficiencia de encapsulación aumenta a medida que el volumen de la fase continua disminuye, probablemente porque incrementa la concentración del disolvente orgánico, lo que conduce a una rápida solidificación de las micropartículas, mejorando la dispersión y formación de las mismas (Yeo & Park, 2004). La temperatura de manejo durante la homogeneización de la muestra pudo afectar el proceso, la cera de abeja tiende a volverse sólida a mayores temperaturas lo que reduce su capacidad encapsulante y genera su precipitación prematura, tal como se aprecia en las aglomeraciones detalladas en las Figuras 3 y 4 (Nahum & Domb, 2021). Sin embargo, se debe considerar que la combinación con la fase acuosa/ fase orgánica (3:1) puede ayudar en la eficiencia de encapsulación (%EE).

### Liberación abrupta en las primeras horas

Se midió la liberación de curcumina después de 5 horas de digestión simulada en buffer fosfato salino (PBS). En la Tabla 9 se observa que existió diferencia significativa entre los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) y los factores de forma independiente, así como su interacción influyeron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) en la liberación explosiva durante las primeras horas.

Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) de la liberación de ráfaga de los tratamientos

Fuentes de variación	Grados de libertad (dF)	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor p
Tratamientos	3	0,000294	0,000098	0,013*
Agente encapsulante (A)	1	0,000069	0,000069	0,057
Relación fase acuosa/orgánica (B)	1	0,000126	0,000126	0,017*
Interacción AxB	1	0,000100	0,000100	0,028*
Error	8	0,000112	0,000014	
Total	11	0,000406		

\*Significativo ( $p \leq 0,05$ )

En la Figura 7, se compara la concentración de curcumina libre (sin encapsular), al tiempo 0 y luego de transcurridas 5 horas de digestión, observándose diferencias significativas entre los tratamientos en la liberación a lo largo del tiempo ( $p \leq 0,05$ ). La liberación abrupta o “burst release” es un fenómeno donde hay una descarga explosiva del núcleo, que conduce a una administración inicial mayor y se reduce la vida útil de la microcápsula (Cam et al., 2020).

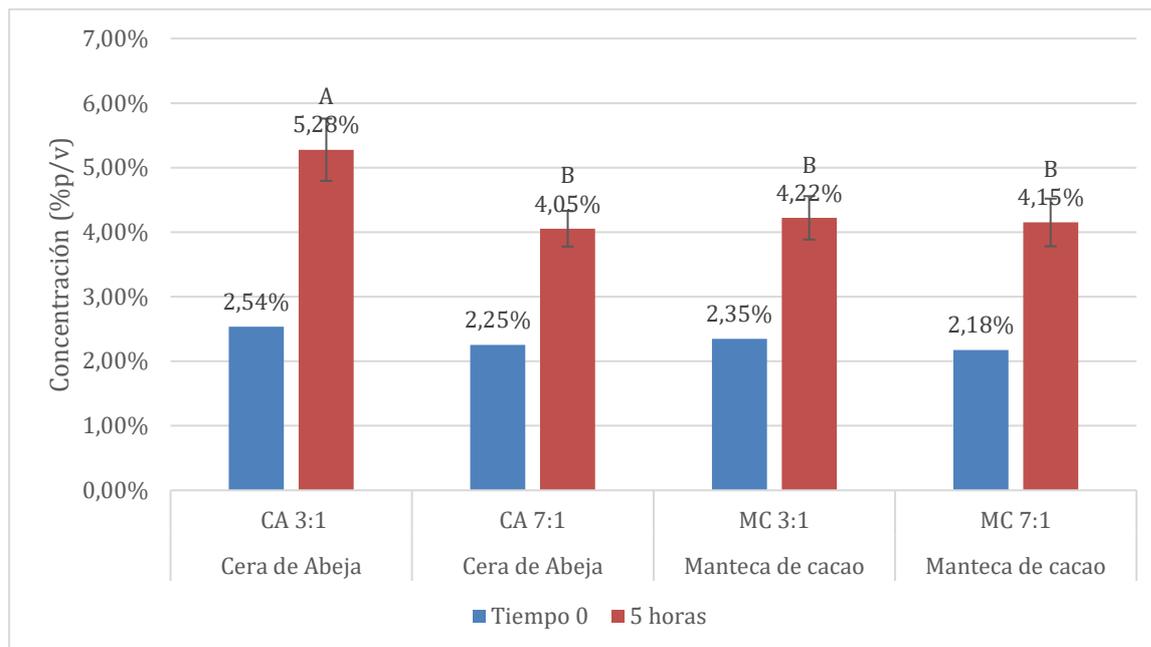


Figura 7. Liberación abrupta en las primeras cinco horas.

Medias  $\pm$  desviación estándar

Medias seguidas por una misma letra no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la Prueba de Tukey.

El tratamiento que presentó mayor liberación abrupta fue la cera de abeja, FAC:FO 3:1, que además tuvo un menor diámetro de partícula y menor uniformidad de tamaño. Según la microscopía electrónica de barrido (SEM), este tratamiento mostró mayor aglomeración. Se ha determinado que la liberación abrupta se da por falta de una distribución homogénea del material a encapsular posiblemente generado por una solidificación prematura de la cera de abeja. Otro factor que afecta directamente la liberación “burst” es la morfología de la micropartícula, donde paredes lisas y uniformes reducen la liberación rápida (Yeo & Park, 2004), por lo que la estructura achatada, tipo hojuela y de bordes irregulares de las micropartículas (Figura 4) obtenidas en el tratamiento CA 3:1 pudo favorecer la liberación abrupta. Este tratamiento presentó uno de los valores más altos de %EE; sin embargo, el aumento de la eficiencia de encapsulación no conduce necesariamente a la reducción de la liberación abrupta, pero sí permitiría controlar el perfil de liberación (Yeo & Park, 2004).

### Ponderación de variables de respuesta

El mejor tratamiento fue el MC 3:1 (Tabla 10), que tuvo 91.88% de eficiencia de encapsulación. El tratamiento CA 3:1 con un %EE superior al 90%, fue estadísticamente igual a MC 3:1; sin embargo, las microcápsulas elaboradas con manteca de cacao tuvieron un porcentaje de liberación abrupta significativamente más bajo, por lo que MC 3:1 sería el tratamiento más estable, con una mayor duración.

Por otro lado, las micropartículas con mayor diámetro, forma definida, redondas y lisas, con mejor distribución de tamaño correspondieron también a las de MC 3:1, consecuentemente este sería el tratamiento más prometedor.

Tabla 10. Calificación ponderada de variables de respuesta de los tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>% de eficiencia de encapsulación (/2)</b>	<b>Liberación abrupta (/1)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>CA 3:1</b>	2	0	2
<b>CA 7:1</b>	0	1	1
<b>MC 3:1</b>	2	1	3
<b>MC 7:1</b>	0	1	1

## CONCLUSIONES

La investigación realizada evaluó el efecto de distintos materiales lipídicos poco explorados como agentes encapsulantes para microencapsular curcumina y así mejorar su estabilidad y biodisponibilidad. Los dos tipos de matrices, cera de abeja (CA) y manteca de cacao (MC) demostraron potencialidad para la microencapsulación de curcumina, y, por lo tanto, pueden ser prometedoras en la industria alimenticia y farmacéutica como recubrimiento para distintos compuestos bioactivos, similares a los extraídos a partir de la cúrcuma.

El tratamiento más efectivo resultó entre la manteca de cacao con la relación fase acuosa/fase orgánica de 3 a 1, presentando mayor tamaño de partícula, mejor dispersión de tamaño y 91,88 % de eficiencia de encapsulación; también tuvo uno de los menores porcentajes de liberación abrupta. A pesar de que los tratamientos que tuvieron como agente encapsulante la cera de abeja demostraron tener una precipitación prematura de la fase orgánica durante la emulsión dado por la presencia de aglomeraciones y grumos, nuevos análisis con homogeneización en caliente pudieran ser necesarios. De la misma manera, se observó que la relación fase orgánica/ fase acuosa tiene un efecto importante en el proceso de microencapsulación, y, por lo tanto, una exploración más extensa de esta variable podría resultar beneficiosa para determinar un mayor rango de potenciales aplicaciones.

Las materias primas grasas utilizadas durante el ensayo son de fácil disponibilidad, bajo costo y no representan en un riesgo potencial a la salud, por lo tanto, la aplicación de manteca de cacao y cera de abeja como matriz es favorable para una producción en masa de formulaciones de microencapsulación de curcumina.

## REFERENCIAS

- Álvarez, K. M. (2020). Evaluación del uso de saponinas de quinua como agente emulsificante en la producción de micropartículas de manteca de cacao para la liberación controlada de fármacos. *USFQ*.
- Ariyaratna, I. R., & Karunaratne, D. N. (2016). Microencapsulation stabilizes curcumin for efficient delivery in food applications. *Food Packaging and Shelf Life*, *10*, 79–86.  
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.10.005>
- Asaithambi, K., Muthukumar, J., Chandrasekaran, R., Ekambaram, N., & Roopan, M. (2020). Synthesis and characterization of turmeric oil loaded non-ionic surfactant vesicles (niosomes) and its enhanced larvicidal activity against mosquito vectors. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *29*(August), 101737.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101737>
- Badui Dergal, S. (2006). Salvador Badui Dergal. In *Química de los alimentos*.
- Baixinho, P. C. (2018). *Development of curcumin lipid formulations for food applications: transport, permeability and safety evaluation on a mucus-secreting intestinal epithelial cell model Dissertation. September.*
- Becker Peres, L., Becker Peres, L., de Araújo, P. H. H., & Sayer, C. (2016). Solid lipid nanoparticles for encapsulation of hydrophilic drugs by an organic solvent free double emulsion technique. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *140*, 317–323.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.12.033>
- Brunetti, A., & Felice, R. Di. (2016). Encyclopedia of Membranes. In *Encyclopedia of Membranes*. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-44324-8>
- Cam, M. E., Yildiz, S., Alenezi, H., Cesur, S., Ozcan, G. S., Erdemir, G., Edirisinghe, U., Akakin, D., Kuruca, D. S., Kabasakal, L., Gunduz, O., & Edirisinghe, M. (2020).

- Evaluation of burst release and sustained release of pioglitazone-loaded fibrous mats on diabetic wound healing: An in vitro and in vivo comparison study. *Journal of the Royal Society Interface*, 17(162). <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0712>
- Cano-Higuita, D. M., Vélez, H. A. V., & Telis, V. R. N. (2015). Microencapsulation of Turmeric Oleoresin in Binary and Ternary Blends of Gum Arabic, Maltodextrin and Modified Starch. *Ciência e Agrotecnologia*, 39(2), 173–182. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542015000200009>
- de Carvalho, F. A. L., Munekata, P. E. S., Lopes de Oliveira, A., Pateiro, M., Domínguez, R., Trindade, M. A., & Lorenzo, J. M. (2020). Turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb sausage with fat replacement by tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil. *Food Research International*, 136(June), 109487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109487>
- de Paiva, A., Gonçalves, D., Ferreira, P., Baldwin, E., & Cesar, T. (2019). Postprandial effect of fresh and processed orange juice on the glucose metabolism, antioxidant activity and prospective food intake. *Journal of Functional Foods*, 52(May 2018), 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.11.013>
- Degot, P., Huber, V., Hofmann, E., Hahn, M., Touraud, D., & Kunz, W. (2021). Solubilization and extraction of curcumin from *Curcuma Longa* using green, sustainable, and food-approved surfactant-free microemulsions. *Food Chemistry*, 336(May 2020), 127660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127660>
- Deladino, L., Anbinder, P. S., & Martino, M. N. (2008). *Encapsulation of natural antioxidants extracted from Ilex paraguariensis*. 71, 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.030>
- Dulbecco, P., & Savarino, V. (2013). Therapeutic potential of curcumin in digestive diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 19(48), 9256–9270.

<https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i48.9256>

- González-Albadalejo, J., Sanz, D., Claramunt, R. M., Lavandera, J. L., Alkorta, I., & Elguero, J. (2015). Curcumin and curcuminoids: Chemistry, structural studies and biological properties | Curcuminay curcuminoides: Química, estudios estructurales y propiedades biológicas. *Anales de La Real Academia Nacional de Farmacia*, 81(4).
- Guo, J., Li, P., Kong, L., & Xu, B. (2020). Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. *Lwt*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109892>
- Haghighat-Kharazi, S., Milani, J. M., Kasaai, M. R., & Khajeh, K. (2018). Microencapsulation of  $\alpha$ -amylase in beeswax and its application in gluten-free bread as an anti-staling agent. *Lwt*, 92, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.049>
- Hajj Ali, H., Michaux, F., Bouelet Ntsama, I. S., Durand, P., Jasniewski, J., & Linder, M. (2016). Shea butter solid nanoparticles for curcumin encapsulation: Influence of nanoparticles size on drug loading. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(8), 1168–1178. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500348>
- Hajj Ali, H., Michaux, F., Khanji, A. N., Jasniewski, J., & Linder, M. (2018). Chitosan - Shea butter solid nanoparticles assemblies for the preparation of a novel nanoparticles in microparticles system containing curcumin. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 553, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.05.075>
- Hu, Z., Feng, T., Zeng, X., Janaswamy, S., Wang, H., & Campanella, O. (2019). Structural characterization and digestibility of curcumin loaded octenyl succinic nanoparticles. *Nanomaterials*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/nano9081073>
- Kharat, M., Du, Z., Zhang, G., & McClements, D. J. (2017). Physical and Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Solutions and Emulsions: Impact of pH, Temperature, and Molecular Environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(8), 1525–1532. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04815>

- Krishnaraju, A. V., Sundararaju, D., Sengupta, K., Venkateswarlu, S., & Trimurtulu, G. (2009). Safety and toxicological evaluation of demethylatedcurcuminoids; A novel standardized curcumin product Safety evaluation of a novel curcumin product. *Toxicology Mechanisms and Methods*, *19*(6–7), 447–460.  
<https://doi.org/10.1080/15376510903200766>
- Lucas, J., Ralaivao, M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2020). A new approach for the microencapsulation of curcumin by a spray drying method, in order to value food products. *Powder Technology*, *362*, 428–435.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.11.095>
- Macêdo, I. Y. L. de, Machado, F. B., Ramos, G. S., Costa, A. G. do C., Batista, R. D., Filho, A. R. G., Asquieri, E. R., Souza, A. R. de, Oliveira, A. E. de, & Gil, E. de S. (2021). Starch adulteration in turmeric samples through multivariate analysis with infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *340*(August 2020), 127899.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127899>
- Mansour, M., Salah, M., & Xu, X. (2020). Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. *Ultrasonics Sonochemistry*, *63*(October 2019), 104927. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104927>
- Monge Neto, A. Á., De Cássia Bergamasco, R., De Moraes, F. F., Neto, A. M., & Peralta, R. M. (2017). Development of a technique for psyllium husk mucilage purification with simultaneous microencapsulation of curcumin. *PLoS ONE*, *12*(8), 1–13.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182948>
- Nahum, V., & Domb, A. J. (2021). Recent developments in solid lipid microparticles for food ingredients delivery. *Foods*, *10*(2), 1–25. <https://doi.org/10.3390/foods10020400>
- Palash, O. F., Butea, P., Lam, M., Kumar, A., Dwivedi, K. N., & Ram, B. (2015). *Pharmacy*

*Review & Research - DEGRADATION STUDIES OF CURCUMIN*. 5(3), 286–292.

- Park, H. R., Rho, S. J., & Kim, Y. R. (2019). Solubility, stability, and bioaccessibility improvement of curcumin encapsulated using 4- $\alpha$ -glucanotransferase-modified rice starch with reversible pH-induced aggregation property. *Food Hydrocolloids*, 95(November 2018), 19–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.012>
- Ponce, M. M. (2020). Desarrollo de micropartículas de manteca de cacao para la encapsulación y liberación controlada de fármacos. *USFQ*.
- Priyadarsini, K. I. (2014). The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19(12), 20091–20112. <https://doi.org/10.3390/molecules191220091>
- Rathore, S., Mukim, M., Sharma, P., Devi, S., Chandra Nagar, J., & Khalid, M. (2020). Curcumin: A Review for Health Benefits. *International Journal of Research and Review*, 7(1), 1.
- Sharipova, A. A., Aidarova, S. B., Grigoriev, D., Mutaliev, B., Madibekova, G., Tleuova, A., & Miller, R. (2016). Polymer-surfactant complexes for microencapsulation of vitamin E and its release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 137, 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.03.063>
- Sousdaleff, M., Baesso, M. L., Neto, A. M., Nogueira, A. C., Marcolino, V. A., & Matioli, G. (2013). Microencapsulation by freeze-drying of potassium norbixinate and curcumin with maltodextrin: Stability, solubility, and food application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(4), 955–965. <https://doi.org/10.1021/jf304047g>
- Terán, A. E. (2019). Development of microparticles based on cocoa butter and polyvinyl alcohol for ibuprofen controlled delivery. *Development of Microparticles Based on Cocoa Butter and Polyvinyl Alcohol for Ibuprofen Controlled Delivery., I*.
- Wang, Y. F., Shao, J. J., Zhou, C. H., Zhang, D. L., Bie, X. M., Lv, F. X., Zhang, C., & Lu, Z. X. (2012). Food preservation effects of curcumin microcapsules. *Food Control*, 27(1),

113–117. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.008>

Wang, Y., Li, P., Tran, T. T., Zhang, J., & Kong, L. (2016). *Manufacturing Techniques and Surface Engineering of Polymer Based Nanoparticles for Targeted Drug Delivery to Cancer Manufacturing Techniques and Surface Engineering of Polymer Based Nanoparticles for Targeted Drug Delivery to Cancer. February.*

<https://doi.org/10.3390/nano6020026>

Wong, J. J. L., Yu, H., Lim, L. M., & Hadinoto, K. (2018). A trade-off between solubility enhancement and physical stability upon simultaneous amorphization and nanonization of curcumin in comparison to amorphization alone. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *114*(October 2017), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.01.010>

Yadav, V. R., Suresh, S., Devi, K., & Yadav, S. (2009). Novel formulation of solid lipid microparticles of curcumin for anti-angiogenic and anti-inflammatory activity for optimization of therapy of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *61*(3), 311–321. <https://doi.org/10.1211/jpp/61.03.0005>

Yeo, Y., & Park, K. (2004). Control of Ee% and Burst. *Archives of Pharmacal Research*, *27*(1), 1–12.

Zuanon, L. A. C., Malacrida, C. R., & Telis, V. R. N. (2013). Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic. *Journal of Food Process Engineering*, *36*(3), 364–373. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12003>

## ANEXOS

## ANEXO A: Ficha técnica de la oleorresina de cúrcuma

**Ecom Food Industries Corporation****PRODUCT SPECIFICATION SHEET**

Product	OLEORESIN TURMERIC
Code	NR 3709
Classification	Spice Extract
Date Issued	June 2015

**PRODUCT DESCRIPTION**

OLEORESIN TURMERIC is a red-brown, viscous liquid containing extractives of *Curcuma longa* L, propylene glycol, and benzyl alcohol.

<b>PHYSICAL &amp; CHEMICAL PROPERTIES</b>	<b>LIMITS</b>
RESIDUAL SOLVENT	<25 ppm
CURCUMIN CONTENT	6.18 - 6.83%
COLOR VALUE	6180 - 6830
INSOLUBLE MATTER	Nil
SOLUBILITY	Oil & Water Dispersible
FLASH POINT	>72°C

**STORAGE CONDITIONS AND SHELF LIFE**

Store in original tightly closed container in a cool, dark and dry place.  
Shelf life 12 months minimum under above conditions.

THE INFORMATION CONTAINED HEREIN IS TRUE AND ACCURATE TO THE BEST OF OUR KNOWLEDGE. RECOMMENDATIONS ARE MADE WITHOUT GUARANTEE AND WE MUST NECESSARILY DISCLAIM ALL LIABILITY WITH RESPECT TO THE USE OF MATERIALS SUPPLIED BY ECOM MANUFACTURING CORPORATION, SINCE THE CONDITIONS OF USE ARE BEYOND OUR CONTROL.

80 Telson Road, Markham, Ontario Canada L3R 1E5  
Phone: 905 477 2441 Fax: 905 477 2551 [www.ecomcanada.com](http://www.ecomcanada.com)

## ANEXO B: Certificado de análisis de la oleoresina de cúrcuma

## Ecom Food Industries Corporation

## Certificate of Analysis

**Product** TURMERIC OLEORESIN NR3709 NR3709  
**Customer** ADITMAQ ADITIVOS Y MAQUINARIAS  
**Customer Order Nbr** ECOM-P-06-20  
**Lot** EB015703

	<u>Analysis</u>	<u>Specification</u>
<b>Residual Solvent</b>	<25ppm	<25ppm
<b>Solvent</b>	Ethyl acetate/hex/ac	Ethyl acetate/hex/ac
<b>Volatile oil</b>	0.00%	
<b>Solubility</b>	Water and oil dispersible	Water and oil dispersible
<b>Method</b>	ASTA-UV	ASTA-UV
<b>Colour Value</b>	6273	6180-6830
<b>Curcumin</b>	6.27%	6.18-6.83%

**Date of issue** 14-Jul-20

Mfg: Jun/20  
Expiry: Jun/21

80 Telson Rd. Markham, Ont. Canada. L3R 1E5  
 Phone 905-477-2441 Fax:905-477-2551 E mail lab@ecomcanada.com  
 Website www.ecomcanada.com



**ANEXO D: Preparación de micropartículas con distinta relación fase acuosa/fase orgánica**

<b>Relación</b>	<b>Fase acuosa (Tween 80)</b>	<b>Fase orgánica</b>
3:1	60 mL	Totalidad – 20 mL de solvente + 1 g de matriz lipídica + 0,1 g de oleorresina
7:1	140 mL	Totalidad – 20 mL de solvente + 1 g de matriz lipídica + 0,1 g de oleorresina