

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
**UNIDAD IZTAPALAPA**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA



ENCAPSULACIÓN Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE CURCUMINA  
EN LIPOSOMAS Y QUITOSOMAS

**T E S I S**

para obtener el grado de Especialización en Biotecnología

**P R E S E N T A**

Ing. Carolina Estudillo Márquez

**Asesor**

Dra. Angélica Román Guerrero

**Lector**

Dr. Francisco Cruz Sosa

Iztapalapa, Ciudad de México

21 de abril, 2023.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Angélica Román Guerrero por su apoyo, la oportunidad y asesoría constante para la realización de este trabajo de investigación.

Al Posgrado en Biotecnología de la División de Ciencias Básicas y de la Salud (CBS) por la oportunidad brindada para lograr un escalón más en mi formación profesional.

A la Dra. Patricia Castillo del Laboratorio de Microscopía Electrónica, Edificio I Laboratorio Central de la UAM-Unidad Iztapalapa, por su apoyo en la obtención de imágenes SEM para futuros trabajos derivados de la presente investigación.

## ÍNDICE GENERAL

<b>Resumen</b>	1
<b>Abstract</b>	2
<b>1. Introducción</b>	3
<b>2. Antecedentes</b>	6
<b>3. Justificación</b>	13
<b>4. Objetivos</b>	14
4.1. Objetivo general	14
4.2. Objetivos particulares	14
<b>5. Hipótesis</b>	14
<b>6. Materiales y métodos</b>	15
6.1. Estrategia experimental	15
6.2. Materiales	15
6.3. Elaboración de liposomas y quitosomas conteniendo curcumina	16
6.4. Microscopia óptica	16
6.5. Potencial $\zeta$ y diámetro hidrodinámico	17
6.6. Eficiencia de encapsulación (EE)	17
6.7. Liberación controlada en medio acuoso	18
6.8. Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas	18
6.9. Análisis estadístico	19
<b>7. Resultados y discusión</b>	20
7.1. Caracterización liposomas y quitosomas con lecitina de soya	20
7.1.1. Microscopia óptica	20

7.1.2. Parámetros fisicoquímicos de liposomas	20
7.1.3. Parámetros fisicoquímicos de quitosomas	23
7.1.4. Liberación controlada en medio acuoso	25
7.1.5. Liberación controlada en condiciones gastrointestinales simuladas	27
7.2. Caracterización de liposomas y quitosomas con fosfatidilcolina-colesterol	28
7.2.1. Parámetros fisicoquímicos de liposomas	28
7.2.2. Parámetros fisicoquímicos de quitosomas	30
7.2.3. Liberación controlada en medio acuoso	32
7.2.4. Liberación controlada en condiciones gastrointestinales simuladas	33
<b>8. Conclusiones</b>	36
<b>9. Referencias</b>	37
<b>Anexos</b>	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de un liposoma.	7
<b>Figura 2.</b> Estructura de un quitosoma.	10
<b>Figura 3.</b> Estructura química de la curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona), Equilibrio tautomérico en la curcumina (equilibrio ceto–enólico).	11
<b>Figura 4.</b> Micrograffías ópticas de liposomas (A) y quitosomas (B).	20
<b>Figura 5.</b> Liberación controlada en medio acuoso de curcumina encapsulada en liposomas (A) y quitosomas (B), diseñados con lecitina de soya.	26
<b>Figura 6.</b> Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas de curcumina encapsulada en liposomas y quitosomas diseñados con lecitina de soya.	27
<b>Figura 7.</b> Liberación controlada en medio acuoso de curcumina encapsulada en liposomas (A) y quitosomas (B), diseñados con fosfatidilcolina.	32
<b>Figura 8.</b> Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas de curcumina encapsulada en liposomas y quitosomas diseñados con fosfatidilcolina.	34

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Parámetros fisicoquímicos de liposomas diseñados con lecitina de soya, con distintas concentraciones de curcumina.	21
<b>Cuadro 2.</b> Parámetros fisicoquímicos de quitosomas diseñados con lecitina de soya, con distintas concentraciones de curcumina.	24
<b>Cuadro 3.</b> Parámetros fisicoquímicos de liposomas diseñados con fosfatidilcolina, con distintas concentraciones de curcumina.	29
<b>Cuadro 4.</b> Parámetros fisicoquímicos de quitosomas diseñados con fosfatidilcolina, con distintas concentraciones de curcumina.	31

## **Resumen**

Liposomas basados en lecitina de soya-colesterol y fosfatidilcolina-colesterol, respectivamente, así como la utilización de quitosano como material de recubrimiento para la formación de quitosomas, fueron formulados como mecanismo de encapsulación. Se encapsuló curcumina a distintas concentraciones (1, 5, 10 y 15%, p/p). Se analizaron algunas de sus propiedades fisicoquímicas: pH, potencial  $\zeta$ , diámetro hidrodinámico e índice de polidispersidad, así como la eficiencia de encapsulación y microscopía óptica. Se evaluó también la tasa de liberación de curcumina en condiciones simuladas gastrointestinales y medios acuosos. Tanto liposomas como quitosomas, en las distintas formulaciones, mostraron diferencias en sus características fisicoquímicas. Se obtuvo mayor estabilidad, así como una mejor eficiencia en el control de liberación de curcumina en liposomas por efecto de la presencia de quitosano en su composición (quitosomas). El uso de los materiales fosfatidilcolina-colesterol en la formación de liposomas, así como quitosano como material de recubrimiento puede ser una alternativa viable para formar estructuras más estables y mejorar su biodisponibilidad.

## **Abstract**

Liposomes based on soy lecithin-cholesterol and phosphatidylcholine-cholesterol, respectively, as well as the use of chitosan as a coating material for chitosomes formation, was formulated as an encapsulation mechanism. Curcumin was encapsulated at different concentrations (1, 5, 10 and 15%, w/w). Some of their physicochemical properties were analyzed: pH, potential  $\zeta$ , hydrodynamic diameter and polydispersity index, as well as encapsulation efficiency and optical microscopy. The release rate of curcumin was also evaluated under simulated gastrointestinal conditions and aqueous media. Both, liposomes and chitosomes, in the different formulations, showed differences in their physicochemical characteristics. Greater stability was obtained, as well as a better efficiency in the control of curcumin release in liposomes due to the effect of the presence of chitosan in their composition (chitosomes). The use of phosphatidylcholine-cholesterol materials in the formation of liposomes as well as chitosan as a coating material may be a viable alternative to form more stable structures and improve their bioavailability.

## 1. Introducción

La alimentación es uno de los elementos importante para gozar de una buena salud además del ejercicio físico y mental ya que el consumo inadecuado de productos alimenticios (cantidad y/o calidad), así como deficiencias en el proceso metabólico, conducen a una mala nutrición. Debido a ello, en los últimos años, se ha destacado el valor que posee el consumo de alimentos funcionales en la salud; algunos estudios epidemiológicos han señalado la buena relación entre una dieta saludable y la baja incidencia de enfermedades en las personas. Un incremento en la generación de estos productos por parte del sector agroindustrial, sugiere que los consumidores adquieren alimentos con valor agregado al aporte nutrimental, principalmente, a los beneficios que estos brindan al mejorar el estado de salud y la calidad de vida, así como reducir el riesgo de posibles enfermedades, entre las que se encuentra el síndrome metabólico al que pertenecen factores de riesgo como la diabetes, cardiopatías, derrame cerebral y otros problemas de salud (Herrera et al., 2014).

Los compuestos bioactivos generalmente requieren protección para mantener su funcionalidad ante los efectos ocasionados por las condiciones ambientales o de procesamiento, asociadas a cambios en temperatura, luz, pH y oxígeno. Debido a su naturaleza química, este tipo de compuestos puede reducir su funcionalidad y biodisponibilidad durante su paso por el tracto gastrointestinal, por lo que el uso de sistemas de encapsulación resultan en una alternativa factible que permite incorporar dichos compuestos en sistemas coloidales, brindar estabilidad prolongada y liberación controlada, con la finalidad de desarrollar productos nutraceuticos (Chuyen et al., 2019). En este sentido, dentro de los sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos se encuentran

los liposomas, los cuales pueden definirse como estructuras esféricas compuestas por moléculas de fosfolípidos, los cuales tienen la capacidad de formar estructuras de tipo bicapa que mejora sus propiedades como encapsulantes y acarreadores de compuestos bioactivos (McClements, 2015). Debido a la naturaleza anfifílica de los liposomas, éstos permiten encapsular simultáneamente compuestos con distinta polaridad, crear una barrera física que limite el contacto de los bioactivos con agentes externos (Esposito et al., 2021).

En este sentido, los liposomas son estructuras versátiles que pueden ser utilizadas como vehículos de acarreo y de protección de compuestos bioactivos susceptibles de degradación, debido a su característica anfifílica y a su compatibilidad con diversas matrices alimentarias o formulaciones farmacéuticas (Subramani & Ganapathyswamy, 2020; Navarro et al., 2018). De acuerdo con Laridi et al. (2003), la encapsulación de nisina en liposomas permitió mejorar su biodisponibilidad y su estabilidad ante factores como pH o temperatura. Por otra parte, Kamezaki et al. (2016) reportaron que la actividad biológica de astaxantina con alfa-tocoferol encapsulada en estructuras liposomales se mantuvo durante el almacenamiento y fue posible obtener sistemas de liberación controlada. Cabe mencionar que los liposomas también son considerados termodinámicamente inestables, por lo que su estructura puede verse alterada durante el procesamiento de las matrices alimentarias en las que son incorporados (Gibis et al., 2016), presentando transiciones de fase durante la aplicación de procesos térmicos, las cuales ocasionan cambios significativos sobre las propiedades funcionales de dichos sistemas (Esposito et al., 2021; Taylor et al., 2005).

Para superar estos inconvenientes, algunos autores han sugerido el uso de biopolímeros macromoleculares como material de revestimiento de los liposomas para modificar la superficie y proveer mayor estabilidad a la estructuración de dichos sistemas. De acuerdo

con Madkour et al. (2019), estos biopolímeros proporcionan estabilidad por medio de mecanismos de impedimento estéricos, al formar barreras que previenen la interacción de los agentes externos con las estructuras liposomales, y por medio de una estabilización electrostática en medios acuosos, las cuales evitan la agregación de dichas estructuras (Esposito et al., 2021). Algunos de los biopolímeros utilizados para recubrir a los liposomas incluyen al almidón (Nahar et al., 2014), alginato de sodio (Zamani-Ghaleshahi & Rajabzadeh, 2020), el aislado de proteína de suero de leche (Frenzel et al., 2015) y gelatina (Nunes et al., 2016). Recientemente se ha propuesto el uso del polisacárido quitosano, donde dicho sistema compuesto se ha definido como “quitosoma”. Los quitosomas son sistemas híbridos compuestos por liposomas recubiertos por una capa de quitosano, proporcionando excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad y bio-adhesividad a los sistemas de encapsulación (Arkoun et al., 2018).

El objetivo del presente estudio fue 1) establecer las condiciones de formación de sistemas de liposomas y quitosomas y 2) evaluar sus propiedades funcionales como sistemas de encapsulación y protección de un polifenol, la curcumina, que es antioxidante natural y es el ingrediente activo que le da a la cúrcuma el color amarillo brillante característico.

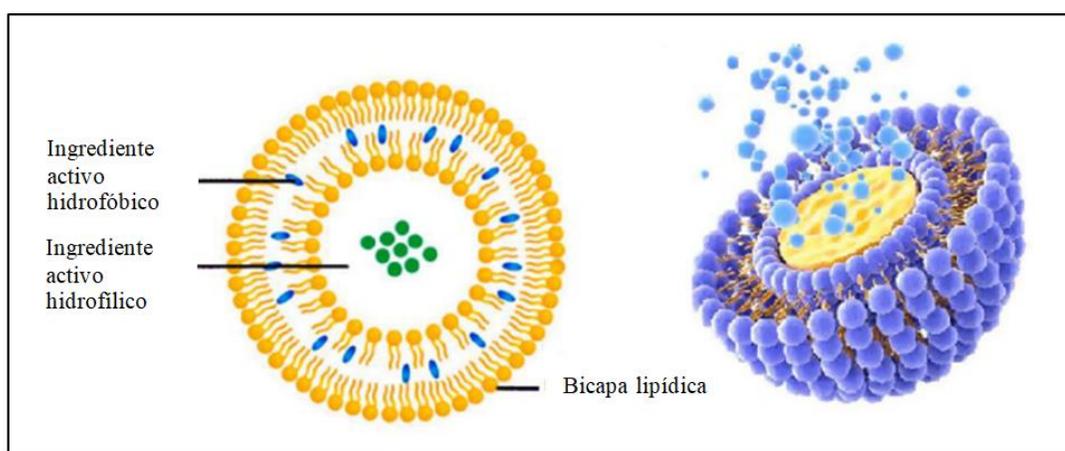
## 2. Antecedentes

La microencapsulación es el proceso por el que distintos compuestos químicos, principalmente biológicamente activas, son incorporadas dentro de una matriz con la finalidad de limitar su pérdida, o bien, para resguardarlos contra factores ambientales, como la luz o la presencia de oxígeno (Lupo et al., 2012). Dentro de la biotecnología se encuentra el estudio de estructuras a base de matrices biopoliméricas, emulsiones, partículas lipídicas sólidas o liposomas utilizados como sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos (Singh, 2016). Los compuestos encapsulados presentan la ventaja de liberarse paulatinamente del material encapsulante que lo tiene atrapado (Castañeta et al., 2011; Letchford & Burt, 2007; Ourique et al., 2008).

En este sentido, los liposomas son sistemas de encapsulación y liberación de compuestos bioactivos con prometedoras aplicaciones en el procesamiento de alimentos y en la formulación de productos cosméticos y/o farmacéuticos. Los constituyentes típicos de los liposomas son completamente naturales lo que implica una amplia aplicación en sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos debido a su nula toxicidad. La lecitina de soja y la lecitina de yema de huevo son algunos de los materiales tradicionales utilizados, debido a su contenido de fosfolípidos, para la formación de liposomas, debido a sus múltiples actividades fisiológicas y por lo que pueden proporcionar beneficios adicionales a dichos liposomas (Gao et al., 2021).

Los liposomas son estructuras esféricas que se forman cuando compuestos anfifílicos (fosfolípidos) se dispersan en un medio acuoso y se orientan para dar lugar a estructuras con tamaños que oscilan entre algunos nanómetros hasta varias micras (Figura 1). Algunos

de las estructuras lipídicas mayormente utilizadas son fosfolípidos con grupos funcionales como las colinas, fosfogliceroles, serinas o etanolaminas (entre 12, 14 y 16 carbonos principalmente) (Vallejo et al., 2017). La estructura final de los liposomas estará en función de la longitud, el grado de saturación y la naturaleza química de las cadenas hidrocarbonadas presentes en dichos fosfolípidos, así como de la carga iónica y el pH de la fase acuosa (Sharma et al., 2010).



**Figura 1.** Estructura de un liposoma. **Fuente:** Maleki et al. (2022).

De acuerdo con algunos trabajos, los liposomas han mostrado brindar buena biodisponibilidad de sustancias activas o nutrientes con baja solubilidad o penetración en las membranas celulares (Frezard et al., 2005), ofreciendo ventajas en el transporte, siendo de vital importancia, cuando las sustancias a encapsular son reactivos o inestables, o con la posibilidad de sufrir procesos indeseables (Chen et al., 2015).

Los liposomas muestran una mejora en la estabilidad fisicoquímica de los compuestos encapsulados, favoreciendo su capacidad de dispersión en agua. Chen et al. (2015) indicaron que la encapsulación de curcumina por medio de liposomas favorecía su solubilidad en agua, evitando la formación de sedimentos; asimismo mencionan que el uso

de liposomas no tienen una influencia indispensable en la efectividad biológica del compuesto; esto se puede ver en estudios realizados donde se analiza la capacidad antioxidante de algunas sustancias (Kamezaki et al., 2016).

Se sugiere que la encapsulación de compuestos bioactivos en sistemas liposomales se realice mediante métodos apropiados para proteger las propiedades de dichos compuestos, es por ello, que debe tomarse en cuenta que los liposomas pueden promover un control en la liberación de su contenido; esto genera la modificación de las cinéticas del compuesto original durante el transporte (da Silva et al., 2010).

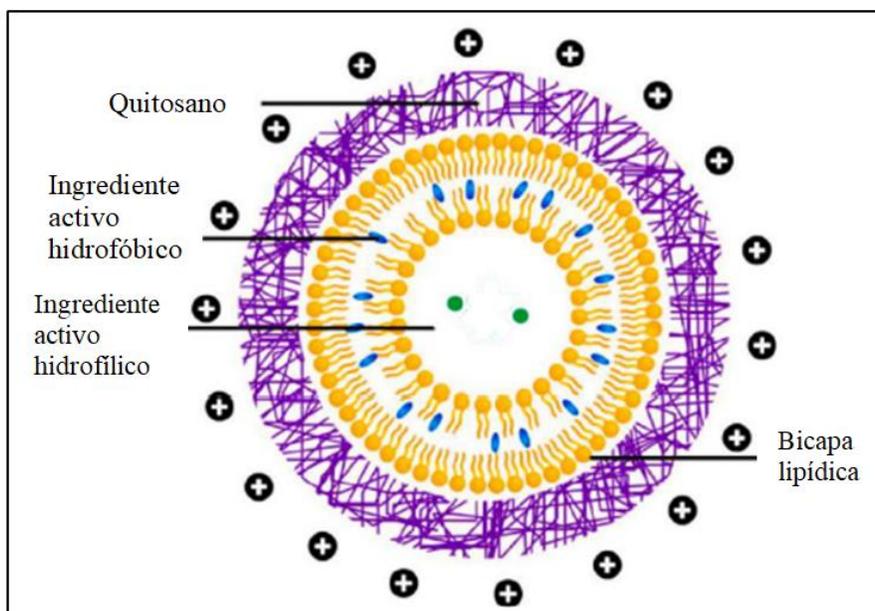
La biodisponibilidad se define como la velocidad y medida en que se absorbe un compuesto activo favoreciendo la presencia en el sitio de acción (FDA, 2000). Este tipo de sistemas de encapsulación (liposomas) ha permitido la encapsulación de compuestos hidrofóbicos e hidrofílicos, con la finalidad de proveer la liberación controlada de vitaminas, enzimas o vacunas en el cuerpo; donde la liberación del principio activo se realiza principalmente por mecanismos de difusión a través de la estructura, por rompimiento de la vesícula, por concentraciones críticas de iones de calcio o por variaciones del pH (Parra, 2010). La utilización de liposomas para la administración de compuestos bioactivos logra reducir la dosis y la frecuencia en su administración de acuerdo con estudios realizados en el campo farmacéutico.

No obstante, los liposomas pueden presentar ciertos procesos de desestabilización asociados a las condiciones del medio en el que se encuentren, componentes medioambientales como el pH, temperatura de almacenamiento, la exposición a la luz o radiación así como la oxidación de los componentes lipídicos utilizados, afectan la

estabilidad misma del liposoma y la cantidad del compuesto encapsulado (da Silva et al., 2010). Por lo tanto, estos sistemas de encapsulación basados en lípidos no son adecuados para el ácido gástrico, las sales biliares y la lipasa pancreática debido a que presentan inestabilidad en estas condiciones (Forutan et al., 2022).

Debido a ello, diversos estudios han mostrado que la adición de un biopolímero (polisacárido o proteína) como medio de recubrimiento, puede ser una alternativa viable que pueda permitir mejorar la estabilidad de los liposomas. El quitosano es un polisacárido de alto peso molecular el cual se localiza en el exoesqueleto de crustáceos y en la pared celular de ciertos hongos (García-Ceja & López-Malo, 2012). Es un biopolímero catiónico que presenta actividades funcionales de bioadhesividad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad (Salva et al., 2015). Las ventajas que proporciona como recubrimiento son una mayor bioestabilidad durante la digestión, el aumento en la capacidad de retrasar la liberación de compuestos activos en condiciones gastrointestinales simuladas, mayor eficiencia de encapsulación y mejora en las propiedades físicas (Pasarin et al., 2023).

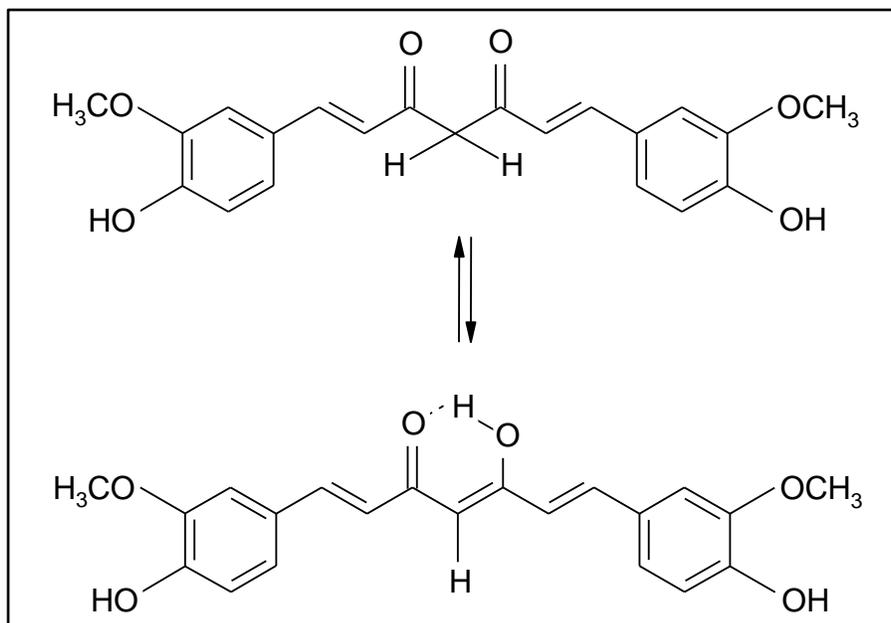
El quitosano ha sido utilizado ampliamente en áreas que van desde la farmacéutica, biomédica, de alimentos, así como materiales, y ha demostrado excelentes propiedades funcionales como material de recubrimiento, y agente antimicrobiano (García-Ceja et al., 2012; Santos, 2014). De acuerdo con Alshamsan et al. (2019), la formación de liposomas recubiertos con quitosano, o quitosomas, se realiza mediante la formación de interacciones electrostáticas entre cargas positivas del quitosano y cargas negativas de los liposomas vía adsorción superficial (Figura 2), lo que conduce a incrementar la biodisponibilidad de las moléculas bioactivas (Alshraim, et al. 2019).



**Figura 2.** Estructura de un quitosoma. **Fuente:** Maleki et al. (2022).

La utilización del quitosano como material de recubrimiento de liposomas también tiene algunas limitaciones como el aumento de tamaño en las vesículas, se presenta una mayor viscosidad en la solución liposomal, requiere un pH ácido para solubilizar el quitosano y es difícil eliminar el exceso de quitosano de la superficie del liposoma (Pasarin et al., 2023).

La curcumina (Figura 3), se obtiene a partir de la *Curcuma longa* L., compuesto fenólico (diferuloilmetano) que brinda un color amarillo característico. Este compuesto presenta una potencial actividad biológica, entre las que destacan sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antisépticas (Mesa et al., 2000). La curcumina tiene la capacidad de solubilizarse en aceite así como en soluciones acuosas con pH básico; no obstante, presenta una gran incapacidad de disolución en agua. Por otro lado, pueden tener una buena estabilidad a temperaturas altas y en soluciones ácidas, pero resulta ser inestable a pH alcalino y por la exposición a la luz (Stankovic, 2004).



**Figura 3.** Estructura química de la curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona), Equilibrio tautomérico en la curcumina (equilibrio ceto-enólico).

A nivel farmacológico, la curcumina al presentar propiedades anticancerígenas puede actuar en procesos asociados a mutagénesis, expresión de oncogenes, regulación del ciclo celular, apoptosis, carcinogénesis y metástasis. En este sentido, se ha señalado que este compuesto es un compuesto activo eficaz para la prevención y curación de enfermedades como el cáncer de piel, inhibiendo el efecto de la oxidación del ADN de la epidermis. También, la curcumina presenta la capacidad para desactivar especies reactivas de oxígeno (ROS) por sus propiedades antioxidantes, disminuyendo la formación de compuestos inflamatorios. En términos de estabilidad, la curcumina, incubada en condiciones de pH básico (tampón fosfato 0.1 M; pH 7.1; 37 °C), a los 30 min de exposición se descompone alrededor de un 90%, por lo que es inestable en condiciones fisiológicas *in vitro*. Por otro lado, su descomposición que da origen a dos o más sustancias de estructura química más simple depende del pH y se hace más rápida en condiciones básicas o neutras. Sin embargo, presenta una mayor estabilidad en cultivos celulares, en donde en aproximadamente 60 min

la curcumina se descompone menos del 20%. Dicha degradación, aparentemente, sigue una cinética de primer orden (Mesa et al., 2000).

La curcumina es fotosensible, siendo esta característica la causa de su degradación molecular y química (Kumavat et al., 2013). Los productos obtenidos de la degradación contribuyen a los efectos farmacológicos de la curcumina (Shen & Ji, 2012). Para superar estos inconvenientes, se han utilizado técnicas como la encapsulación, principalmente utilizando material de índole lipídico. Por lo que la formación de liposomas o emulsiones (micro y nano) son algunos de los medios que se han utilizado para encapsular la curcumina y así mejorar su biodisponibilidad (Borrin et al., 2016).

Por lo tanto, la formulación de estructuras lipídicas reforzadas con un biopolímero como el quitosano (quitosomas), permitirá salvaguardar, en gran medida, la integridad del compuesto de interés como es la curcumina, brindando estabilidad y la conservación de sus propiedades, favoreciendo su biodisponibilidad.

### **3. Justificación**

El desarrollo de mecanismos de transporte de los distintos componentes bioactivos constituye una oportunidad para la conservación de sus propiedades, obteniendo posibles efectos saludables para quien lo consume. En la actualidad, los consumidores conscientes de su salud tienen un mayor interés en consumir productos con características funcionales que permitan prevenir o incluso mejorar su condición de salud.

El uso de compuestos bioactivos como la curcumina puede presentar efectos benéficos para la prevención de algunas enfermedades. No obstante, pueden presentar susceptibilidad ante la influencia de agentes ambientales externos como la luz o la temperatura, además de presentar condiciones fisicoquímicas desfavorables a causa del procesamiento y consumo, minimizando sus efectos.

Debido a ello, el uso de liposomas y quitosomas, como sistema de encapsulación, podría tener buena eficiencia para la protección y biodisponibilidad de distintos compuestos bioactivos ya sean hidrosolubles, liposolubles o con característica anfifílica, aumentando su estabilidad bajo condiciones adversas. Por lo tanto, con la presente investigación se pretende contribuir al desarrollo y estudio de sistemas lipídicos de encapsulación con fines alimenticios y/o farmacéuticos.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo general**

- ✓ Establecer las condiciones de formación de liposomas y quitosomas como sistemas de encapsulación y liberación controlada de curcumina.

### **4.2. Objetivos particulares**

- ✓ Establecer las condiciones de formación de los liposomas y quitosomas conteniendo curcumina como molécula modelo.
- ✓ Realizar la caracterización fisicoquímica de los liposomas y quitosomas conteniendo curcumina.
- ✓ Evaluar la estabilidad de los liposomas y quitosomas conteniendo curcumina durante la liberación controlada en condiciones gastrointestinales simuladas.

## **5. Hipótesis**

La encapsulación de curcumina en liposomas y quitosomas mejorará su estabilidad durante el almacenamiento y permitirá obtener sistemas de liberación controlada.

## **6. Materiales y Métodos**

### **6.1. Estrategia experimental**



### **6.2. Materiales**

Los materiales utilizados fueron lecitina de soya granulada elaborado por Impulsora Golden S. A. de C. V. Curcumina en polvo, fosfatidilcolina y colesterol obtenida en Merck México S. A. de C. V. Adicionalmente se usaron cloroformo, metanol, agua desionizada, solución amortiguadora de fosfatos, hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl) proporcionados por la empresa Tecsiquim S. A. de C. V. NaCl grado analítico, KCl, mucinas, pepsina,  $K_2HPO_4$ , sales biliares y pancreatina, fueron obtenidas en Sigma-Aldrich Química.

### **6.3. Elaboración de liposomas y quitosomas conteniendo curcumina**

Los sistemas de encapsulación fueron formulados con dos tipos de material encapsulante: lecitina de soya y fosfatidilcolina purificada. Los liposomas (LP) se realizaron de acuerdo con la metodología propuesta por Hasan et al. (2016), con algunas modificaciones. Curcumina a distintas concentraciones (1, 5, 10 y 15%, p/p) se adicionó a una mezcla de lecitina de soya-colesterol o fosfatidilcolina-colesterol (2:1, p/p), respectivamente, disuelta en una mezcla de cloroformo y metanol (2:1, v/v); posterior a ello, la parte del sobrenadante (disolventes) se eliminó mediante evaporación. El precipitado obtenido fue hidratado con agua desionizada y se realizó un proceso de ultrasonicación, a 35 kHz con 60% de amplitud, a temperatura ambiente durante 5 min, para homogenizar el tamaño de partícula. Finalmente, los liposomas fueron sometidos a ultrafiltración con tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$ . Para la preparación de quitosomas (QT) el procedimiento fue similar a lo antes mencionado, únicamente se formuló una solución de quitosano (1%, p/v en ácido acético) y se mezcló con los liposomas, de manera controlada para evitar la formación de sedimentos (Sarabandi et al., 2019). Las estructuras formuladas se almacenaron a 4 °C durante 24 h.

### **6.4. Potencial $\zeta$ y diámetro hidrodinámico**

La carga superficial (potencial  $\zeta$ ), la determinación del diámetro hidrodinámico (Dh) y el índice de polidispersidad (PdI) de todos los sistemas de encapsulación (liposomas y quitosomas) se determinó en un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido), y en caso de ser necesario se realizaron diluciones para garantizar la efectividad de las mediciones (Mahdi et al., 2021; Tan et al., 2016).

## 6.5. Microscopia óptica

Micrografías ópticas fueron obtenidas con un microscopio óptico Olympus BX45 (Olympus Corporation, Japan) acoplado con una cámara digital Moticam 2300, 3.0M Pixel (Motic Incorporation Ltd., China) y analizador de imágenes. Las muestras fueron colocadas en un portaobjetos de microscopio, se cubrieron con cubreobjetos de vidrio y se observaron a una magnificación de 100x (Tan et al., 2016).

## 6.6. Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación (EE) de los sistemas se determinó mediante análisis espectrofotométrico de acuerdo con la metodología descrita por Mahdi et al. (2021). Se realizó un proceso de centrifugación a 5 000 rpm durante 10 min a los tratamientos. Posteriormente, se realizó una extracción de 1 mL de la muestra con 5 mL de etanol, para extraer la curcumina total, agitando durante 15 min. Como resultado, la membrana de los liposomas o quitosomas se disolvió y el compuesto bioactivo encapsulado fue liberado. Finalmente, se realizaron lecturas de absorbancia (420 nm) antes y después y se determinó la EE usando la siguiente ecuación:

$$EE (\%): \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100$$

Donde:

$C_i$ : Es la concentración inicial de curcumina añadida al liposoma o quitosoma

$C_f$ : Es la concentración calculada de curcumina en el sobrenadante.

### **6.7. Liberación controlada en medio acuoso**

Para el estudio de la liberación de curcumina en liposomas y quitosomas en medio controlado, se utilizó etanol al 10% (v/v) y agua purificada para imitar un alimento acuoso en condiciones simuladas, de acuerdo a lo descrito por Talón et al. (2019), con algunas modificaciones. Se colocaron 10 mL de muestra en una membrana de diálisis y se colocaron dentro de la solución de etanol. Para la evaluación del comportamiento de liberación en diferentes intervalos de tiempo, aproximadamente 3 mL de la solución se extrajo cada vez y se midió la absorbancia a 420 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (CECIL 3000, CECIL Instruments Limited, England).

### **6.8. Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas**

Se estableció tres fases de fluidos gastrointestinales simulados, con algunas modificaciones, para revelar sus efectos en las características de liberación de curcumina en liposomas y quitosomas. La primera etapa consistió en la fase bucal (pH=6.8), etapa dos consta de la fase gástrica (líquido gástrico simulado, pH=1.5) y la última etapa que corresponde a la fase del intestino delgado (líquido intestinal simulado, pH=7.0). La digestión bucal simulada se preparó disolviendo NaCl (1.59 g), KCl (0.200 g) y mucina (0.6 g) en 1 L de agua destilada. Las muestras fueron colocadas en el medio durante 10 min. La digestión gástrica simulada se preparó disolviendo NaCl (2 g), HCl concentrado (7 mL) y pepsina (3.2 mg/mL) en 1 L de agua destilada. Las muestras se colocaron en el medio durante 2 h. La digestión del intestino delgado simulada se llevó a cabo durante 2 h. El fluido gastrointestinal se preparó disolviendo K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (8.5 g), NaCl (9 g), sales biliares (5 g) y pancreatina (3.2 mg/mL) en 1 L de agua destilada. Muestras de liposomas y

quitosomas en sus distintas concentraciones, respectivamente, fueron colocadas en una bolsa de diálisis (corte de 12 kDa). La cantidad liberada de curcumina se midió mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 760 nm usando la curva de calibración determinada por la concentración conocida de curcumina (Katouzian & Taheri, 2021; Tai et al., 2020).

### **6.9. Análisis estadístico**

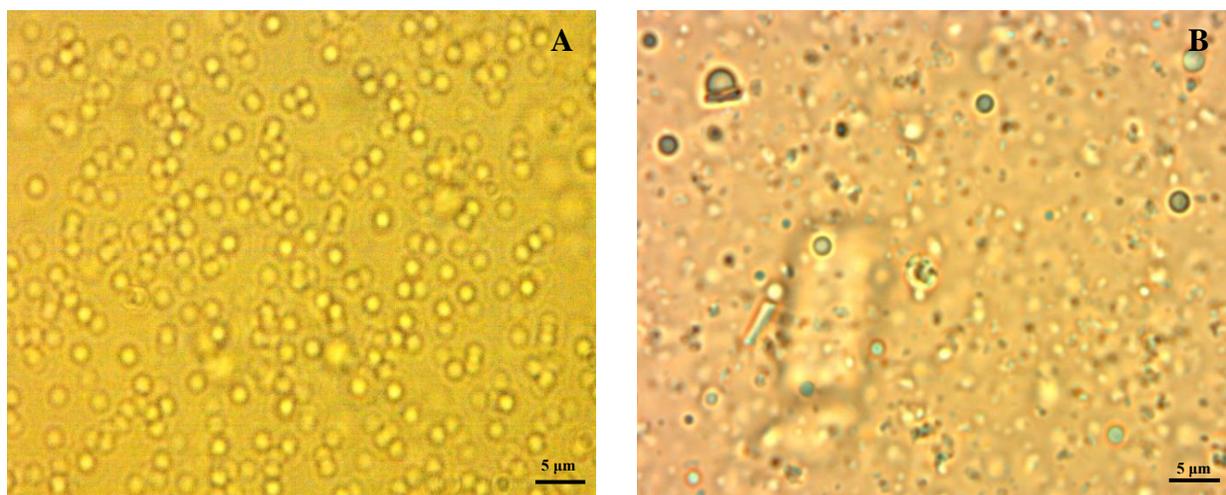
Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se ejecutó un análisis de varianza de una vía y se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey, en los casos pertinentes, a un nivel de significancia de  $p \leq 0.05$  en el software Minitab 18.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## 7. Resultados y discusión

### 7.1. Caracterización liposomas y quitosomas con lecitina de soya-colesterol

#### 7.1.1. Microscopia óptica

La Figura 4 muestra las micrografías ópticas de liposomas formulados con lecitina de soya-colesterol. Se pudo observar estructuras bien formadas, más homogéneas y de tamaños similares debido a una correcta disolución e interacción de los componentes utilizados. En liposomas se obtuvieron tamaños regulares de  $\sim 1 \mu\text{m}$  (Figura 4A). En la Figura 4B se observan tamaños más heterogéneos llegando hasta los 2-2.5  $\mu\text{m}$ , así como un grosor aparentemente mayor; asimismo, se notan algunas estructuras dispersas, esto posiblemente, debido a la adición de quitosano el cual alteró la forma y la composición del medio.



**Figura 4.** Micrografías ópticas de liposomas (A) y quitosomas (B).

#### 7.1.2. Parámetros fisicoquímicos de liposomas

Los parámetros fisicoquímicos de liposomas formulados con lecitina de soya-colesterol variando la concentración de curcumina, se muestra en el Cuadro 1. El pH de los sistemas osciló en un rango de 6.55-6.98, mostrando un comportamiento preferencial hacia la

neutralidad.  $LP_{\text{curc-1\%}}$ ,  $LP_{\text{curc-5\%}}$  y  $LP_{\text{control}}$  presentaron los valores mayores y sin diferencia significativa entre ellos ( $p>0.05$ ), seguidos de  $LP_{\text{curc-10\%}}$  y  $LP_{\text{curc-15\%}}$ , con valores de pH idénticos ( $p>0.05$ ). A medida que la concentración de curcumina aumentó en el sistema, el pH disminuyó, dando una tendencia ligeramente ácida.

**Cuadro 1.** Parámetros fisicoquímicos de liposomas diseñados con lecitina de soya, con distintas concentraciones de curcumina.

	<b>pH</b>	<b>Potencial <math>\zeta</math> (mV)</b>	<b>Dh (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>EE (%)</b>
<b><math>LP_{\text{control}}</math></b>	6.80±0.07a	-28.80±3.66b	181.43±5.78a	0.274±0.04a	-----
<b><math>LP_{\text{curc-1\%}}</math></b>	6.98±0.09a	-12.74±3.19c	134.37±1.50c	0.254±0.01c	64.45±2.87a
<b><math>LP_{\text{curc-5\%}}</math></b>	6.84±1.07a	-46.40±5.06a	143.57±5.76b	0.247±0.00d	61.22±0.16a
<b><math>LP_{\text{curc-10\%}}</math></b>	6.55±0.13b	-37.73±5.00a	180.70±9.49a	0.261±0.01b	46.50±0.23b
<b><math>LP_{\text{curc-15\%}}</math></b>	6.55±0.27b	-16.37±2.03c	145.40±1.30b	0.221±0.01e	43.85±1.39c

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p\leq 0.05$ )

Las mediciones de potencial  $\zeta$  se usan comúnmente para investigar ciertas propiedades físicas de las dispersiones coloidales. La carga eléctrica superficial, es un parámetro particularmente importante que afecta el comportamiento de los liposomas. La magnitud de este parámetro da indicios sobre la estabilidad de los sistemas coloidales: conforme el potencial aumenta, tanto positivo como negativo, la repulsión entre las partículas es mayor, lo que conduce a ser más estable dichas dispersiones (Hasan et al., 2016). Todos los tratamientos mostraron valores negativos en la evaluación de la carga superficial (Cuadro 1). Se observó que  $LP_{\text{curc-5\%}}$  y  $LP_{\text{curc-10\%}}$  exhibieron el mayor índice negativo de potencial  $\zeta$  (-37.73 a -46.40 mV) y similares entre sí ( $p>0.05$ ), lo que probablemente, podría dar indicios de sistemas con una mayor estabilidad. Asimismo,  $LP_{\text{curc-1\%}}$  y  $LP_{\text{curc-15\%}}$  mostraron condiciones similares ( $p>0.05$ ) y menores en comparación a los demás sistemas. En general, las muestras mostraron variaciones considerables en los valores de potencial,

observándose que las variaciones en la concentración de curcumina presente afecta la estabilidad de las mismas.

Por su parte, el diámetro de las partículas y la distribución del tamaño son dos factores importantes que determinan las características de estos sistemas. Los valores en estos parámetros demuestran la estabilidad de los sistemas, así como la eficiencia de encapsulación (Gharehbeglou et al., 2019). Las mediciones del diámetro hidrodinámico de liposomas fueron obtenidas posteriores a su formulación (Cuadro 1).  $LP_{control}$  ( $181.43 \pm 5.78$  nm) y  $LP_{curc-10\%}$  ( $180.70 \pm 9.49$  nm) son los que presentaron un mayor tamaño ( $p > 0.05$ ), seguidos de  $LP_{cur-15\%}$  y  $LP_{curc-5\%}$ , respectivamente.  $LP_{curc-1\%}$  fue el tratamiento que exhibió un menor tamaño en comparación a los demás tratamientos. Un incremento en la concentración de curcumina incrementó el Dh de los tratamientos.

Vahedikia et al. (2019) mencionan que el PDI indica la homogeneidad de una dispersión, fluctuando entre los valores de 0-1; un valor de PDI superior a 0.5 sugiere una distribución no uniforme de las partículas. Los liposomas con curcumina formados mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellos; el PDI se mantuvo en el rango de 0.221-0.274, los cuales se pueden catalogar como un PDI bajo (Cuadro 1); valores similares de PDI (0.200-0.294) fueron obtenidos en liposomas estabilizados con una mezcla de goma xantana y goma guar como medio de encapsulación de curcumina y vitamina D<sub>3</sub> (Chaves et al., 2018). Estos resultados aportan información referente a que la formación de liposomas en sus distintas concentraciones de curcumina está uniformemente distribuida. Además, se observó que un incremento en la concentración de curcumina en los liposomas, disminuyó el índice de polidispersidad y por lo tanto ofrecen una mayor homogeneidad del sistema.

Se observó en eficiencia de encapsulación de los liposomas (Cuadro 1) que el mayor rendimiento se obtuvo con  $LP_{\text{curc-1\%}}$ , con un porcentaje de encapsulación de  $64.45 \pm 2.87\%$ , seguido de  $LP_{\text{curc-5\%}}$  con un porcentaje de  $61.22 \pm 0.16\%$  sin diferencias significativa entre ellos ( $p > 0.05$ ). Por su parte, los liposomas formados con 10 y 15% de concentración de curcumina presentaron eficiencias de encapsulación menores (43.8-46.5%) y similares ( $p > 0.05$ ). También, al igual que parámetros anteriores, se vio que conforme aumentó la cantidad de curcumina disponible en los sistemas, la eficiencia de encapsulación disminuyó. Huang et al. (2019) reportaron que la eficiencia en sistemas liposomales conteniendo 0.4% de curcumina (p/p) fue de  $68.16 \pm 2.16\%$ . Por su parte, Lui et al. (2015) reportaron que la eficiencia de encapsulación de liposomas conteniendo curcumina (1%, p/p) fue de  $41.42 \pm 3.03\%$ . Estos resultados obtenidos por otros autores son similares a los encontrados.

### 7.1.3. Parámetros fisicoquímicos de quitosomas

El Cuadro 2 muestra los parámetros fisicoquímicos de quitosomas formulados con lecitina de soya-colesterol variando la concentración de curcumina. Valores de pH más ácidos fueron obtenidos en quitosomas, comparado con los sistemas de liposomas sin recubrimiento. Este comportamiento puede ser ocasionado por la adición de la dispersión de quitosano, ya que para su solubilización se utilizó ácido acético. Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en los valores de pH, siendo  $QT_{\text{curc-15\%}}$  el que presentó un valor mayor. A menores concentraciones de curcumina se obtuvieron pH más ácidos.

Se observó que la cantidad de quitosano utilizado para el recubrimiento de los sistemas, aparentemente no fue lo suficientemente adecuado, ya que el potencial  $\zeta$ , en la mayoría de los tratamientos presentó valores negativos. Debido a que el biopolímero utilizado para el

recubrimiento (quitosano) posee carga positiva, si éste hubiese cubierto en su totalidad a las estructuras, los valores obtenidos serían positivos. Estos resultados posiblemente pueden asociarse a la composición de los sistemas, es decir, el uso de lecitina de soya como material de formación no favoreció para obtener una buena interacción con el quitosano. Además, el contenido de curcumina también pudo tener cierta influencia en los resultados obtenidos. No obstante, se notó una disminución en los valores de potencial  $\zeta$ , en comparación a los liposomas (Cuadro 1). Quitosomas con curcumina al 5, 10 y 15% de concentración mostraron valores negativos de carga superficial similares ( $p > 0.05$ ).  $QT_{\text{curc-1\%}}$  fue el tratamiento que únicamente mostró un valor positivo ( $9.21 \pm 0.27$  mV) en su carga superficial.

**Cuadro 2.** Parámetros fisicoquímicos de quitosomas diseñados con lecitina de soya, con distintas concentraciones de curcumina.

	<b>pH</b>	<b>Potencial <math>\zeta</math> (mV)</b>	<b>Dh (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>EE (%)</b>
<b>QT<sub>control</sub></b>	4.08±0.01d	-12.70±1.04a	1442.50±48.79b	0.257±0.04e	-----
<b>QT<sub>curc-1%</sub></b>	4.09±0.02d	9.21±0.27c	3210.00±104.65a	0.545±0.03c	25.30±2.89b
<b>QT<sub>curc-5%</sub></b>	4.32±0.01c	-9.26±0.46b	417.5±17.54e	0.572±0.04a	11.21±1.41c
<b>QT<sub>curc-10%</sub></b>	4.48±0.04b	-9.91±1.03b	893.85±24.65c	0.491±0.07d	9.67±2.34c
<b>QT<sub>curc-15%</sub></b>	4.60±0.01a	-9.63±0.59b	806.90±27.15d	0.558±0.01b	29.92±0.52a

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

El Dh de quitosomas presentó valores mayores en comparación a los liposomas debido a que la adición de quitosano favoreció la aglomeración de las partículas presentes en el sistema, y por lo tanto, promovió la formación de estructuras más grandes.  $QT_{\text{curc-1\%}}$  presentó un diámetro mayor ( $3210.00 \pm 104.65$  nm) con respecto a los demás sistemas, seguido de  $QT_{\text{control}}$ . La colisión de las gotas de liposomas pudo ser ocasionado debido a su movimiento aleatorio en una solución, lo que conduce a un aumento considerable en el tamaño de las partículas, y con la adición de quitosano, este comportamiento se intensifica,

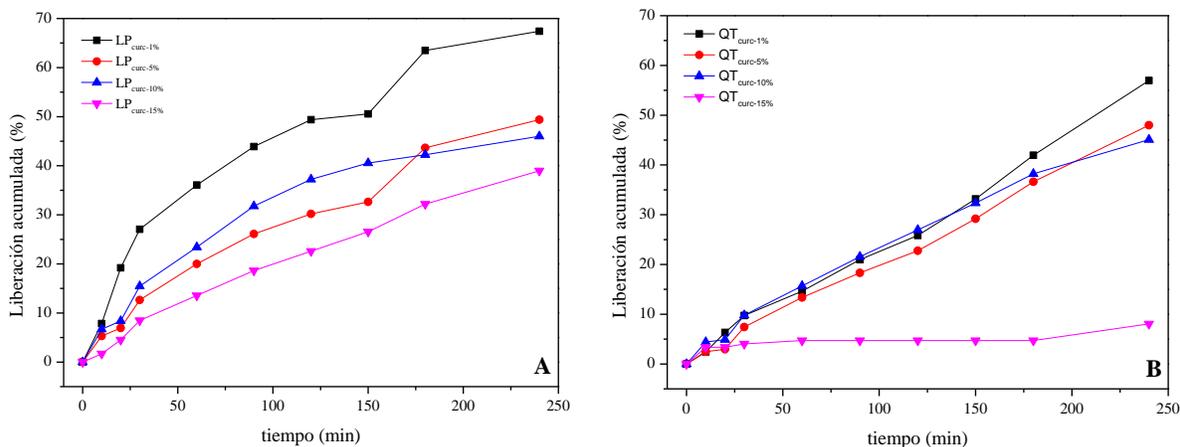
explicando en cierta medida los resultados obtenidos (Dag et al., 2019). Por su parte, el PDI reflejó que no se obtuvieron sistemas tan homogéneos como se esperaban;  $QT_{control}$  fue quien mostró un índice de polidispersidad aceptable y posiblemente más homogéneo ( $0.257 \pm 0.04$ ). Los demás tratamientos estuvieron en el rango de 0.491-0.572. Es posible que el contenido de curcumina desfavoreciera aún más la interacción y homogenización de los liposomas con el recubrimiento de quitosano.

Los porcentajes de encapsulación en quitosomas (Cuadro 2) no fue lo esperado. Para este caso,  $QT_{curc-1\%}$  y  $QT_{curc-15\%}$  no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) y con los porcentajes mayores (25.30-29.92%). Sin embargo, los valores obtenidos son muchos menores en comparación a los resultados con la encapsulación de liposomas; esto refuerza la hipótesis de que el recubrimiento con quitosano no favoreció el rendimiento de encapsulación de curcumina, sino por el contrario, posiblemente desestabilizó a los sistemas de tal modo que imposibilitó el entrapamiento del compuesto bioactivo.

#### **7.1.4. Liberación controlada en medio acuoso simulado**

La liberación de curcumina en un medio acuoso simulado fue registrada durante 240 minutos a temperatura ambiente (22 °C); la tasa de liberación acumulada en liposomas y quitosomas se muestra en la Figura 5. En el intervalo de tiempo estudiado, se observó un porcentaje mayor de liberación de curcumina en liposomas en las distintas concentraciones formuladas, en comparación a las concentraciones de curcumina encapsulada con quitosomas. Para la liberación sostenida de curcumina encapsulados con liposomas (Figura 5A) se observó que  $LP_{curc-1\%}$  presentó un mayor porcentaje de liberación (67.42%), seguido

de LP<sub>curc-5%</sub> y LP<sub>curc-10%</sub>, con comportamientos similares (46-49%). Por su parte, LP<sub>curc-15%</sub> fue quien presentó la mínima tasa de liberación (39-40%).



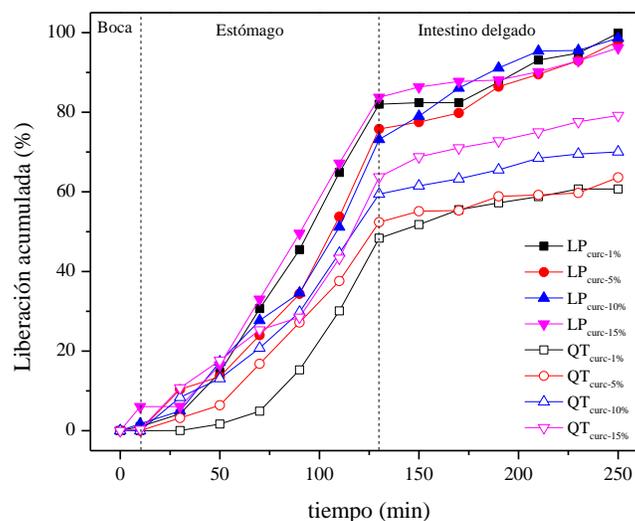
**Figura 5.** Liberación controlada en medio acuoso de curcumina encapsulada en liposomas (A) y quitosomas (B), diseñados con lecitina de soya.

En lo que respecta a los sistemas de encapsulación utilizando quitosomas (Figura 5B), exhibieron una menor tasa de liberación con respecto a sus homólogos en concentración, pero formulados con liposomas. Se observó que QT<sub>curc-15%</sub> tuvo una liberación controlada acumulada mínima (8.06%). Así mismo, los tratamientos de quitosomas con 5 y 10% de curcumina mostraron que a los 240 min de análisis comenzaron a igualar el porcentaje de liberación de curcumina con los sistemas liposómicos. QT<sub>curc-1%</sub> por su parte, llegó a un máximo de liberación del 57%, aún menor con respecto a LP<sub>curc-1%</sub>. De acuerdo con Liu et al. (2015), la liberación de curcumina puede estar influenciada tanto por la capacidad de difusión de los sistemas de encapsulación como de la disolución de las estructuras utilizadas para la formación de dichos sistemas. Aún con el efecto ocasionado en los sistemas para la obtención de bajas EE es posible que la adición de quitosano, contrariamente, favoreciera a la retención de curcumina en el sistema. Una mayor

concentración de curcumina en el sistema favoreció a disminuir el porcentaje de liberación de ambos sistemas (liposomas y quitosomas).

### 7.1.5. Liberación controlada en condiciones gastrointestinales simuladas

Como se observa en la Figura 6, los liposomas en sus distintas concentraciones mostraron una liberación del 1-6% durante la etapa bucal, mientras que los quitosomas no liberaron más que un 0.34%, muy inferior a la tendencia de liposomas sin recubrimiento de quitosano. En la etapa de simulación de fluidos estomacales, todos los liposomas presentaron una tasa de liberación exponencial (73.17-83.74%); por su parte, los tratamientos de quitosomas exhibieron un menor porcentaje de liberación (48.37-63.7 %). Finalmente, las muestras de liposomas liberan casi en su totalidad el contenido de curcumina en la etapa de intestino delgado y durante el tiempo de liberación estudiado (>96%). Por su parte, las estructuras de quitosomas alcanzaron a liberar un máximo de 60-80%. Las tasas de liberación de los liposomas fueron mayores que las de los recubiertos con quitosano (quitosomas).



**Figura 6.** Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas de curcumina encapsulada en liposomas y quitosomas diseñados con lecitina de soja.

De acuerdo con Tai et al. (2020) la fase bucal simulada no es el sitio principal de liberación de los sistemas debido a la corta duración de esta digestión así como de la ausencia de cualquier actividad enzimática específica. Asimismo, mencionan que la mayor parte de curcumina liberada en esta fase puede atribuirse a fracciones más pequeñas en la estructura de los liposomas los cuales se adsorben en la superficie y se alteran mecánicamente. La velocidad de liberación de los liposomas recubiertos con quitosano depende en gran medida de la concentración de quitosano. La concentración de quitosano utilizado (1%) favoreció, posiblemente, a obtener una estabilidad mejorada y una fluidez de membrana reducida de los quitosomas. Las membranas liposomales recubiertas con quitosano protegieron a la curcumina de fugas y degradación por los fluidos simulados, y posiblemente de la actividad digestiva.

## **7.2. Caracterización liposomas y quitosomas con fosfatidilcolina-colesterol**

### **7.2.1. Parámetros fisicoquímicos de liposomas**

Se caracterizaron sistemas de encapsulación de liposomas realizados a base de fosfatidilcolina y colesterol; los resultados se presentan en el Cuadro 3. Se observó una disminución del pH, posiblemente por un incremento en la concentración de curcumina ( $p \leq 0.05$ );  $LP_{\text{control}}$  fue quien presentó un valor de pH mayor ( $6.33 \pm 0.04$ ), mientras que  $LP_{\text{curc-10\%}}$  y  $LP_{\text{curc-15\%}}$  presentaron valores similares ( $p > 0.05$ ).

Valores negativos en todos los sistemas fueron observados en los valores de potencial  $\zeta$  (-33.93 a -21.57 mV).  $LP_{\text{control}}$  y  $LP_{\text{curc-1\%}}$  fueron los tratamientos que presentaron valores similares más negativos, seguidos de  $LP_{\text{curc-5\%}}$  y  $LP_{\text{curc-10\%}}$ , igualmente similares ( $p > 0.05$ ). Por su parte,  $LP_{\text{curc-15\%}}$  fue quien exhibió un potencial  $\zeta$  menos negativo ( $-21.57 \pm 0.68$  mV) en comparación a los demás tratamientos. Este comportamiento, posiblemente, fueron

ocasionados por el incremento en la concentración de curcumina en liposomas, el cual contribuye a la carga superficial de la capa liposómica (Manconi et al., 2017). De acuerdo con Pinheiro et al. (2016), el potencial  $\zeta$  es una medida del potencial eléctrico en la superficie interfacial de las partículas suspendidas en una solución; dichas partículas están cargadas en mayor o menor medida (tanto positivos como negativos), lo cual las hace repelerse unas con otras evitando así cualquier aglomeración, la cual se dará más fácilmente entre menos carga exista, por lo tanto, los resultados obtenidos reflejan una buena estabilidad de los sistemas formados.

**Cuadro 3.** Parámetros fisicoquímicos de liposomas diseñados con fosfatidilcolina, con distintas concentraciones de curcumina.

	<b>pH</b>	<b>Potencial <math>\zeta</math> (mV)</b>	<b>Dh (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>EE (%)</b>
<b>LP<sub>control</sub></b>	6.33±0.04a	-33.93±1.08a	571.03±25.32a	0.55±0.039b	-----
<b>LP<sub>curc-1%</sub></b>	5.90±0.04b	-34.17±2.05a	409.93±25.71b	0.68±0.088a	42.77±0.43a
<b>LP<sub>curc-5%</sub></b>	5.23±0.02d	-25.53±2.28b	420.27±16.78b	0.69±0.006a	08.48±0.30c
<b>LP<sub>curc-10%</sub></b>	5.54±0.08c	-23.43±1.07b	320.80±37.25c	0.46±0.054c	21.52±0.20b
<b>LP<sub>curc-15%</sub></b>	5.59±0.04c	-21.57±0.68c	366.40±30.03c	0.44±0.018c	07.03±0.12d

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

Un comportamiento similar fue observado en el diámetro hidrodinámico de las partículas de liposomas (Cuadro 3), por efecto de la concentración de curcumina presente en los sistemas formulados. LP<sub>control</sub> presentó un Dh promedio de 571.03±25.32 nm, seguido de LP<sub>curc-1%</sub> y LP<sub>curc-5%</sub> ( $p > 0.05$ ). Así mismo, LP<sub>curc-10%</sub> y LP<sub>curc-15%</sub> mostraron diámetros menores de 320.80-366.40 nm ( $p > 0.05$ ). Tamaños similares fueron observados por Lopez-Polo et al. (2020) al evaluar las propiedades fisicoquímicas de liposomas liofilizados y preparados con lecitina de soya purificada; además atribuyen este incremento al tamaño a la agregación de las vesículas, probablemente debido a una alta concentración de las mismas (efecto de liofilización), al daño de la membrana y al hinchamiento de la bicapa tras el proceso de rehidratación. Esta misma tendencia se obtuvo en los valores de

PdI, los cuales también disminuyeron a medida que la cantidad de curcumina presente aumentó. El rango de PdI osciló entre 0.44-0.69. Kim et al. (2012) informaron que valores de PdI de 0.1-0.4, puede correlacionarse con una mayor estabilidad durante el almacenamiento de un sistema emulsionado; esto debido a que entre más homogeneidad en tamaño haya entre las partículas presentes, existirá una menor probabilidad que se presente inestabilidad (aglomeración o coalescencia) en el sistema. Acorde a lo mencionado por estos autores, los liposomas formados con fosfatidilcolina-colesterol presentan una estabilidad regular, siendo  $LP_{\text{curc-10\%}}$  y  $LP_{\text{curc-15\%}}$ , los que sean más estables.

La eficiencia de encapsulación de curcumina con liposomas fosfatidilcolina-colesterol presentó fluctuaciones en los porcentajes obtenidos y con diferencias entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).  $LP_{\text{curc-1\%}}$  fue quien exhibió una mayor eficiencia de encapsulación ( $42.77 \pm 0.43\%$ ), seguido de  $LP_{\text{curc-10\%}}$ . El incremento de curcumina en el sistema no fue un factor esencial para el incremento en los porcentajes de encapsulación.

### **7.2.2. Parámetros fisicoquímicos de quitosomas**

Las características fisicoquímicas de quitosomas diseñados con fosfatidilcolina-colesterol son reportados en el Cuadro 4. Se obtuvieron valores de pH predominantemente ácidos;  $QT_{\text{control}}$  y  $QT_{\text{curc-1\%}}$  presentaron valores mayores y similares ( $p > 0.05$ ). La concentración de curcumina no afectó las variaciones de pH en los distintos sistemas, contrario a lo observado en liposomas.

Los distintos tratamientos de quitosomas mostraron valores positivos en el potencial  $\zeta$  (16.27-57.20 mV). La presencia de quitosano en los sistemas favoreció a obtener estos resultados, reforzando el concepto de que el uso de este biopolímero fue una técnica eficaz

para el recubrimiento de liposomas, así como la de mejorar su estabilidad. QT<sub>curc-15%</sub> fue quien presentó un valor de potencial  $\zeta$  mayor ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 4.** Parámetros fisicoquímicos de quitosomas diseñados con fosfatidilcolina, con distintas concentraciones de curcumina.

	<b>pH</b>	<b>Potencial <math>\zeta</math> (mV)</b>	<b>Dh (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>EE (%)</b>
<b>QT<sub>control</sub></b>	4.05±0.01a	16.27±1.94d	4253.00±173.95a	0.58±0.006a	-----
<b>QT<sub>curc-1%</sub></b>	4.03±0.01a	53.83±3.42b	1306.33±27.61c	0.53±0.045a	52.87±0.23a
<b>QT<sub>curc-5%</sub></b>	3.99±0.03b	52.13±1.12b	3194.00±98.99b	0.43±0.040c	30.58±1.15c
<b>QT<sub>curc-10%</sub></b>	3.99±0.01b	49.63±0.80c	4445.50±309.01a	0.48±0.014b	42.86±1.72b
<b>QT<sub>curc-15%</sub></b>	3.98±0.01b	57.20±2.86a	3126.00±159.81b	0.40±0.012c	11.39±0.77d

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

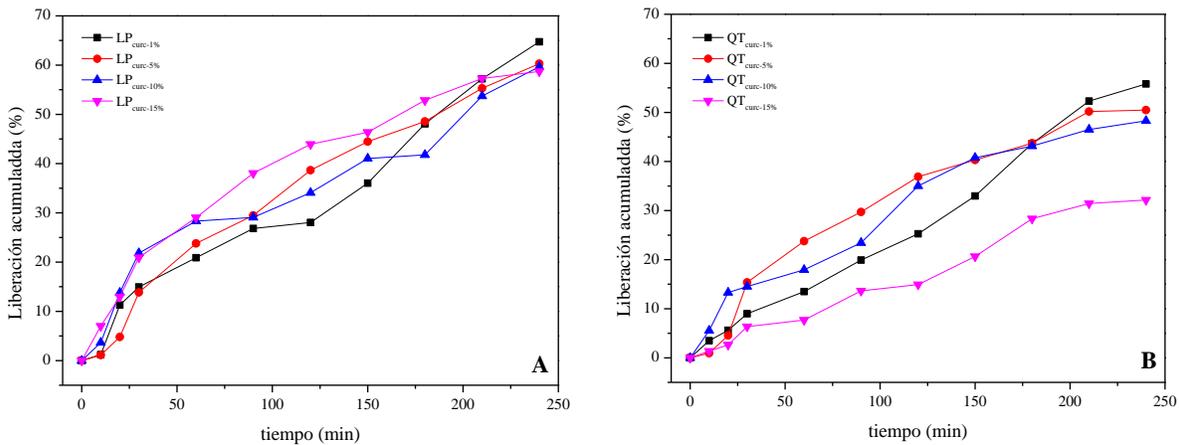
El Dh de los sistemas presentó mayor tamaño con respecto a los liposomas, probablemente debido a aglomeraciones entre los componentes de los sistemas por la presencia de quitosano. El mayor Dh se observó en QT<sub>curc-10%</sub> seguido de QT<sub>control</sub> ( $p > 0.05$ ). Quitosomas con curcumina al 5 y 15% (QT<sub>curc-5%</sub> y QT<sub>curc-15%</sub>, respectivamente) de concentración mostraron diámetros similares ( $p > 0.5$ ). Por su parte, QT<sub>curc-1%</sub> fue quien exhibió un tamaño menor (1306.33±27.61 nm). Este comportamiento observado, podría indicar que existe una mayor interacción del quitosano a medida que se incrementa la presencia de curcumina en el sistema, viéndose reflejada además en un incremento en la eficiencia de encapsulación con respecto a los liposomas sin quitosano. Los valores de PdI, por su parte, variaron en el rango 0.4-0.58, siendo menores a los obtenidos en liposomas, además que a mayor concentración de curcumina se obtuvieron valores de PdI menores, demostrando, en parte, que la presencia de quitosano brindó una mayor estabilidad a la estructura de los sistemas.

Los distintos tratamientos de quitosomas exhibieron mejores rendimientos de encapsulación con relación a los obtenidos en liposomas y con diferencias entre los mismos

tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).  $QT_{\text{curc-1\%}}$  alcanzó un máximo de encapsulación del  $52.87 \pm 0.23\%$ , seguido de  $QT_{\text{curc-10\%}}$  con una eficiencia del  $42.86 \pm 1.72\%$ . Estos resultados coinciden con lo reportado por Liu et al. (2015). El recubrimiento con quitosano posiblemente, favoreció un incremento en la eficiencia de encapsulación de los distintos sistemas.

### 7.2.3. Liberación controlada en medio acuoso simulado

En la Figura 7A se observa que en el lapso de tiempo estudiado, los distintos sistemas liberaron hasta un 57-65%, siendo  $LP_{\text{curc-1\%}}$  quien presentó un mayor porcentaje de liberación. En general, los distintos tratamientos de liposomas tuvieron un comportamiento similar. En cuanto al análisis de liberación de curcumina en sistemas diseñados con quitosomas (Figura 7B), se observó que el recubrimiento utilizado permitió disminuir considerablemente la liberación de curcumina hasta en un 10-15 % en  $QT_{\text{curc-1\%}}$ ,  $QT_{\text{curc-5\%}}$  y  $QT_{\text{curc-10\%}}$ , mientras que  $QT_{\text{curc-15\%}}$  mostró hasta una reducción porcentual del 20%. Las concentraciones altas de curcumina mostraron una menor tasa de liberación en el rango de tiempo evaluado; dicha tendencia se pudo notar tanto en liposomas como en quitosomas.



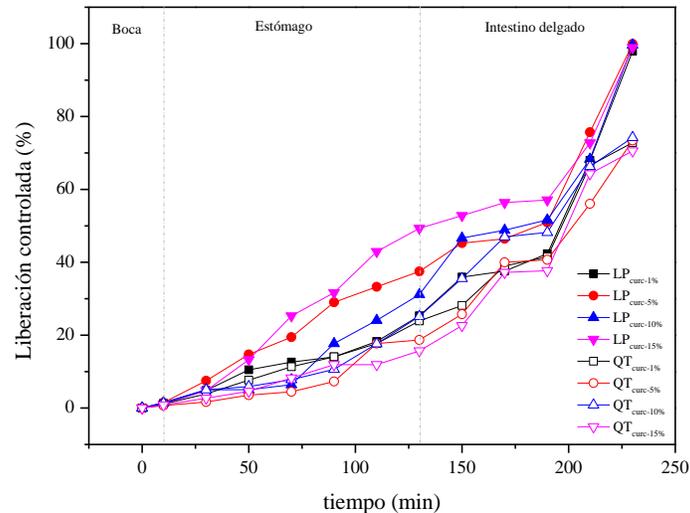
**Figura 7.** Liberación controlada en medio acuoso de curcumina encapsulada en liposomas (A) y quitosomas (B), diseñados con fosfatidilcolina.

#### 7.2.4. Liberación controlada en condiciones gastrointestinales simuladas

Liposomas y quitosomas formulados con fosfatidilcolina-colesterol, fueron inmersos en soluciones simulantes del sistema digestivo (boca, estómago e intestino delgado), los cuales permitieron dar un parámetro del comportamiento de la liberación de curcumina de los distintos sistemas de encapsulación formados. A continuación, en la Figura 8 se presenta la liberación del compuesto a lo largo 250 min, en las diferentes fases digestivas. En lo que corresponde al comportamiento gastrointestinal simulado de liposomas, se observó que en la fase bucal se obtuvo una liberación menor al 5% en todos los sistemas. En la fase de simulación estomacal ocurrió una liberación mayor en sistemas como  $LP_{\text{curc-15\%}}$ , alcanzando un porcentaje máximo de 50%; por otro lado,  $LP_{\text{curc-1\%}}$  presentó un porcentaje de liberación menor en esta fase (~ 20%). Para la fase simulada de intestino delgado se mostró un comportamiento de liberación similar en el rango de 130-190 min para todos los sistemas, donde  $LP_{\text{curc-15\%}}$  continuó presentando una mayor liberación. En general, se observó que la mayor tasa de liberación ocurrió en la etapa de intestino delgado y fue precisamente en esta etapa donde la liberación alcanzó hasta un 99% en todos los sistemas liposomales formados.

A diferencia del comportamiento obtenido en los liposomas, se pudo visualizar que el empleo de quitosano como material de protección, favoreció a la disminución de la liberación de curcumina en los distintos tratamientos. Todos los sistemas de quitosomas manifestaron un comportamiento similar, y mostraron la mayor capacidad de liberación en la etapa simulada del intestino delgado, sin embargo, solo se llegó a notar un porcentaje de liberación del 70-74%. Estos resultados nos permiten mencionar que la mayor parte de

curcumina podría llegar hasta el lugar deseado (intestino delgado) para maximizar su biodisponibilidad y absorción.



**Figura 8.** Liberación en condiciones gastrointestinales simuladas de curcumina encapsulada en liposomas y quitosomas diseñados con fosfatidilcolina.

Tendencia similar fue observado en un estudio realizado por Zhou et al. (2021), donde liposomas formados con ramnolípidos y encapsulando curcumina mostraron una mayor liberación liposomas recubiertos con quitosano. Indicaron, por lo tanto, que la presencia de quitosano pudo inhibir la liberación de curcumina de los liposomas, lo que puede ser beneficioso para aplicaciones de liberación prolongada. Esto puede relacionarse con los valores de potencial  $\zeta$  obtenidos, al haber un buen recubrimiento del quitosano en la estructura de los liposomas debido a la interacción electrostática, y posiblemente, redujo la tendencia a la liberación de curcumina.

Haciendo una comparación general de los materiales utilizados para la formación de liposomas y quitosomas, se pudo notar que el uso de fosfatidilcolina favoreció a obtener mejores propiedades fisicoquímicas (potencial  $\zeta$ , principalmente), el cual brindó una mayor estabilidad a los sistemas formulados y permitió mejorar la eficiencia de encapsulación de

curcumina en quitosomas. Así mismo, mejoró las condiciones para controlar la tasa de liberación y eficientar la biodisponibilidad de curcumina y lograr su llegada hasta el lugar deseado para su máxima absorción (intestino delgado), en comparación a los resultados obtenidos con estructuras formadas con lecitina de soya.

## **8. Conclusiones**

Se establecieron las condiciones de formación de los liposomas y quitosomas conteniendo curcumina, lo que permitió mayores rendimientos de encapsulación, tanto en los liposomas como en los quitosomas como método de encapsulación de compuestos bioactivos.

Se realizó la caracterización fisicoquímica de los liposomas y los quitosomas conteniendo curcumina, utilizando al quitosano como material de recubrimiento en los liposomas, este polisacárido le proporcionó mayor estabilidad, tamaño y carga superficial en los sistemas formulados.

Se evaluó la estabilidad de los liposomas y quitosomas conteniendo curcumina mediante el uso de fosfatidilcolina como componente estructural para la formulación de liposomas y quitosomas lo cual favoreció las propiedades fisicoquímicas de los mismos, permitiendo obtener estructuras más estables en comparación a estructuras formadas con otros materiales no purificados (lecitina de soya).

Se evaluó la liberación controlada de la curcumina en condiciones gastrointestinales simuladas, mostrando que la encapsulación es un método de protección eficaz para la curcumina, lo que permite llevar a los compuestos bioactivos que tienen relativamente baja absorción en el intestino y, por lo tanto, a mejorar su biodisponibilidad.

## 9. Referencias

- Alshamsan, A., Fadilah, S. A., Mohamed, B., Fulwah, Y., Haya, A., Abdulaziz, A. & Sara, A. (2019). Exploring anti-MRSA activity of chitosan-coated liposomal dicloxacillin. *Journal of Microbiological Methods*, 156, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.11.015>
- Alshraim, M. O., Sangi, S., Harisa, G. I., Alomrani, A. H., Yusuf, O. & Badran, M. M. (2019). Chitosan-Coated Flexible Liposomes Magnify the Anticancer Activity and Bioavailability of Docetaxel: Impact on Composition. *Molecules*, 24, 250. <https://doi.org/10.3390/molecules24020250>
- Arkoun, M., Daigle, F., Holley, R. A., Heuzey, M. C. & Aji, A. (2018). Chitosan-based nanofibers as bioactive meat packaging materials. *Packaging Technology and Science*, 31(4), 185-195. <https://doi.org/10.1002/pts.2366>
- Borin T. R., Georges E. L., Moraes I. C. & Pinho S. C. (2016). Curcumin-loaded nanoemulsions produced by the emulsion inversion point (EIP) method: an evaluation of process parameters and physico-chemical stability. *Journal of Food Engineering*, 169, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.012>
- Castañeta, H., Gemio, R., Yapu, W. & Nogales, J. (2011). Microencapsulación, un método para la conservación de propiedades fisicoquímicas y biológicas de sustancias químicas. *Revista boliviana de química*. 28(2). ISSN: 0250-5460.
- Chaves, M. A., Oseliero, Filho, P. L., Jange, C. G., Sinigaglia-Coimbra, R., Oliveira, C. L. P. & Pinho, S. C. (2018). Structural characterization of multilamellar liposomes

coencapsulating curcumin and vitamin D<sub>3</sub>. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 549, 112-121.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.04.018>

Chen, X., Zou, L. Q., Niu, J., Liu, W., Peng, S. F. & Liu, C. M. (2015). The stability, sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. *Molecules*, 20(8), 14293-14311. <https://doi.org/10.3390/molecules200814293>

Chuyen, H. V., Roach, P. D., Golding, J. B., Parks, S. E. & Nguyen, M. H. (2019). Encapsulation of carotenoid-rich oil from Gac peel: Optimisation of the encapsulating process using a spray drier and the storage stability of encapsulated powder. *Powder Technology*, 344, 373-379.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.12.012>

da Silva Malheiros, P., Daroit, D. J. & Brandelli, A. (2010). Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 21(6), 284-292. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.03.003>

Dag, D., Guner, S. & Oztop, M. H. (2019). Physicochemical mechanisms of different biopolymers'(lysozyme, gum arabic, whey protein, chitosan) adsorption on green tea extract loaded liposomes. *International journal of biological macromolecules*, 138, 473-482. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.106>

Darbasi, M., Askari, G., Kiani, H. & Khodaiyan, F. (2017). Development of chitosan based extended-release antioxidant films by control of fabrication variables.

*International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 303-310.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.055>

Dhar, G., Chakravarty, D., Hazra, J., Dhar, J., Poddar, A., Pal, M., Chakrabarti, P., Surolia, A. & Bhattacharyya, B. (2015). Actin–Curcumin Interaction: Insights into the Mechanism of Actin Polymerization Inhibition. *Biochemistry*, 54(4), 1132-1143.

<https://doi.org/10.1021/bi5014408>

FDA U.S. Food and Drugs Administration. (2000). Estudios de biodisponibilidad y equivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente considerados generales, sitio en internet:

<http://www.fda.gob/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation>

Forutan, M., Hasani, M., Hasani, S., Salehi, N. & Sabbagh, F. (2022). Liposome System for Encapsulation of *Spirulina platensis* Protein Hydrolysates: Controlled-Release in Simulated Gastrointestinal Conditions, Structural and Functional Properties.

*Materials*, 15(23), 8581. <https://doi.org/10.3390/ma15238581>

Frezard, F., Schettini D., Rocha. & Demicheli C. (2005). Liposomes Properties physical-chemical and pharmacological, applications in antimony-based chemotherapy. *Quim. Nova.*, 3(28), 511-518.

Frenzel, M., Krolak, E., Wagner, A. E. & Steffen-Heins, A. (2015). Physicochemical properties of WPI coated liposomes serving as stable transporters in a real food matrix. *LWT- Food Science and Technology*, 63(1), 527-534.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.055>

---

Esposito, B. S., Jaurengi, P., Tapia-Blácido, D. R. & Martelli-Tosi, M. (2021). Liposomes vs. chitosomes: Encapsulating food bioactives. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.003>

Gao, X., Yi, X., Liu, Z., Dong, X., Xia, G., Zhang, X. & Shen, X. (2021). Comparative study on curcumin loaded in golden pompano (*trachinotus blochii*) head phospholipid and soybean lecithin liposomes: Preparation, characteristics and anti-inflammatory properties. *Molecules*, 26(8), 2328. <https://doi.org/10.3390/molecules26082328>

García-Ceja, A. & López-Malo, A. (2012). Biopolímeros utilizados en la encapsulación. Universidad de las Américas Puebla, México. Temas selectos de ingeniería de alimentos (6-1), 84-97.

Gharehbeglou, P., Jafari, S. M., Hamishekar, H., Homayouni, A. & Mirzaei, H. (2019). Pectin-whey protein complexes vs. small molecule surfactants for stabilization of double nano-emulsions as novel bioactive delivery systems. *Journal of Food Engineering*, 245, 139-148. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.10.016>

Gibis, M., Ruedt, C. & Weiss, J. (2016). In vitro release of grape-seed polyphenols encapsulated from uncoated and chitosan-coated liposomes. *Food Research International*, 88, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.010>

Hasan, M., Ben, M. G., Michaux, F., Tamayol, A., Kahn, C., Belhaj, N., Linder, M., Arab-Tehrany, E. (2016). Chitosan-coated liposomes encapsulating curcumin: Study of

lipid-polysaccharide interactions and nanovesicles behavior. *Royal Society of Chemistry Advances*, 10.1039. <https://doi.org/10.1039/C6RA05574E>

Herrera, C. F., Betancur, A. D. & Segura, C. M. R. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutrición Hospitalaria*, 29(1), 10-20. ISSN 0212-1611.

Huang, M., Liang, C., Tan, C., Huang, S., Ying, R., Wang, Y., Wang, Z. & Zhang, Y. (2019). Liposome co-encapsulation as a strategy for the delivery of curcumin and resveratrol. *Food & function*, 10(10), 6447-6458. <https://doi.org/10.1039/C9FO01338E>

Kamezaki, C., Nakashima, A., Yamada, A., Uenishi, S., Ishibashi, H., Shibuya, N., Hama, S., Hosoi, S., Yamashita, E. & Kogure, K. (2016). Synergistic antioxidative effect of astaxanthin and tocotrienol by co-encapsulated in liposomes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 59(2), 100-106. <https://doi.org/10.3164/jcfn.15-153>

Katouzian, I. & Taheri, R. A. (2021). Preparation, characterization and release behavior of chitosan-coated nanoliposomes (chitosomes) containing olive leaf extract optimized by response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 3430-3443. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-04972-2>

Kim, T. S., Decker, E. A. & Lee, J. (2012). Antioxidant capacities of  $\alpha$ -tocopherol, trolox, ascorbic acid, and ascorbyl palmitate in riboflavin photosensitized oil-in-water

emulsions. *Food Chemistry*, 133(1), 68-75.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.069>

Kumavat, S., Chaudhari, Y., Borole, P., Mishra, P., Shenghani, K. & Duvvuri, P. (2013). Degradation studies of curcumin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3, 50-55.

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

[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00194-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00194-2)

Letchford, K. & Burt, H. (2007). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 65(3), 259-269. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.11.009>

Liu, Y., Liu, D., Zhu, L., Gan, Q. & Le, X. (2015). Temperature-dependent structure stability and in vitro release of chitosan-coated curcumin liposome. *Food Research International*, 74, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.024>

Lopez-Polo, J., Silva-Weiss, A., Giménez, B., Cantero-López, P., Vega, R. & Osorio, F. A. (2020). Effect of lyophilization on the physicochemical and rheological properties of food grade liposomes that encapsulate rutin. *Food research international*, 130, 108967. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108967>

- Lupo, B., González, C. & Maestro, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. *Técnicas y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 130-151.
- Madkour, M., Bumajdad, A. & Al-Sagheer, F. (2019). To what extent do polymeric stabilizers affect nanoparticles characteristics?. *Advances in Colloid and Interface Science*, 270, 38-53. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.05.004>
- Mahdi, S. M., Rostami, H., Mahdi, J. S. & Fathi, M. (2021). Development and characterization of chitosan-coated nanoliposomes for encapsulation of caffeine. *Food Bioscience*, 40, 100857. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100857>
- Maleki, G., Woltering, E. J. & Mozafari, M. R. (2022). Applications of chitosan-based carrier as an encapsulating agent in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.001>
- Manconi, M., Manca, M. L., Valenti, D., Escribano, E., Hillaireau, H., Fadda, A. M. & Fattal, E. (2017). Chitosan and hyaluronan coated liposomes for pulmonary administration of curcumin. *International journal of pharmaceutics*, 525(1), 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.04.044>
- McClements, D. J. (2015). Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems. Boca Raton, FL: CRC Press. Taylor & Francis Group.
- Mesa, M., Ramírez-Tortosa, M., Aguilera, G. C., Ramírez-Boscá, A. & Gil, H. Á. (2000). Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*, 41(3), 307-321.

- Nahar, K., Absar, S., Patel, B. & Ahsan, F. (2014). Starch-coated magnetic liposomes as an inhalable carrier for accumulation of fasudil in the pulmonary vasculature. *International Journal of Pharmaceutics*, 464(1–2), 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.01.007>
- Navarro, G., Maldonado, L. & González, M. (2018). Liposomas: nanoburbujas de lípidos con aplicaciones en biomedicina. *Universitarios Potosinos* 229, 4-10.
- Nunes, P. S., Rabelo, A. S., de Souza, J. C. C., Santana, B. V., da Silva, T. M. M. & Serafini, M. R. (2016). Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. *International Journal of Pharmaceutics*, 513(1–2), 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.040>
- Ourique, A., Pohlmann, A., Guterres, S. & Beck, R. (2008). Tretinoin-loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. *International journal of pharmaceutics*, 352(1-2), 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.12.035>
- Parra, H. R. A., (2010). Food Microencapsulation: A Review. *Revista facultad nacional de agronomía. Colombia*, 63(2), 5669-5684.
- Pasarin, D., Ghizdareanu, A. I., Enascuta, C. E., Matei, C. B., Bilbie, C., Paraschiv-Palada, L. & Veres, P. A. (2023). Coating Materials to Increase the Stability of Liposomes. *Polymers*, 15(3), 782. <https://doi.org/10.3390/polym15030782>

Pinheiro, A. C., Coimbra, M. A. & Vicente, A. A. (2016). In vitro behaviour of curcumin nanoemulsions stabilized by biopolymer emulsifiers—Effect of interfacial composition. *Food Hydrocolloids*, 52, 460-467.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.025>

Salva, E., Turan, S. O., Eren, F. & Akbuga, J. (2015). The enhancement of genesilencing efficiency with chitosan-coated liposome formulations of siRNA targeting HIF-1alpha and VEGF. *International Journal of Pharmaceutics*, 478(1), 147-154.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.10.065>

Santos, D. O. (2014). Uso de la microencapsulación como mecanismo para la protección de probióticos. Trabajo recepcional de monografía. Universidad veracruzana. México.

Sarabandi, K., Mahoonak, A. S., Hamishehkar, H., Ghorbani, M. & Jafari, S. M. (2019). Protection of casein hydrolysates within nanoliposomes: Antioxidant and stability characterization. *Journal of Food Engineering*, 251, 19-28.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.004>

Sarabandi, K. & Jafari, S. M. (2020). Effect of chitosan coating on the properties of nanoliposomes loaded with flaxseed-peptide fractions: Stability during spray-drying. *Food Chemistry*, 310, 125951.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125951>

---

Sharma, V., Mishra, D., Sharma, A. & Srivastava, B. (2010). Liposomes: Present Prospective and Future Challenges. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*. 1(2), 1-16. ISSN: 0976 822X.

Shen, L. & Ji, H. F. (2012). The pharmacology of curcumin: is it the degradation products?, *Trends in molecular medicine*, 18(3), 138-144.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.01.004>

Singh, H. (2016). Nanotechnology applications in functional foods; opportunities and challenges. *Preventive nutrition and food science*, 21(1), 1.  
<https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.1.1>

Stankovic, I. (2004). Curcumin: Chemical and Technical Assessment (CTA). JECFA, Rome, 8.

Subramani, T. & Ganapathyswamy, H. (2020). An overview of liposomal nanoencapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *Journal of Food Science & Technology*, 57, 3545-3555.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04360-2>

Tai, K., Rappolt, M., Mao, L., Gao, Y., Li, X. & Yuan, F. (2020). The stabilization and release performances of curcumin-loaded liposomes coated by high and low molecular weight chitosan. *Food Hydrocolloids*, 99, 105355.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105355>

Talón, E, Lampi, A. M., Vargas, M., Chiralt, A., Jouppila, K. & González-Martínez, C. (2019). Encapsulation of eugenol by spray-drying using whey protein isolate or

lecithin: release kinetics, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, 295, 588-598. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.115>

Tan, C., Feng, B. Zhang, X., Xia, W. & Xia, S. (2016). Biopolymer-coated liposomes by electrostatic adsorption of chitosan (chitosomes) as novel delivery systems for carotenoids. *Food Hydrocolloids*, 52, 774-784. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.016>

Tavakoli, H., Hosseini, O., Jafari, S. M. & Katouzian, I. (2018). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of yogurt enriched by olive leaf phenolics within nanoliposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 9231-9240. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02759>

Taylor, T. M., Weiss, J., Davidson, P. M. & Bruce, B. D. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7-8), 587-605. <https://doi.org/10.1080/10408390591001135>

Vahedikia, N., Garavand, F., Tajeddin, B., Cacciotti, I., Jafari, S. M., Omid, T. & Zahedi, Z. (2019). Biodegradable zein film composites reinforced with chitosan nanoparticles and cinnamon essential oil: Physical, mechanical, structural and antimicrobial attributes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 177, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.045>

Vallejo, C. A. A., Velázquez, F. J. B. & Camacho, V. T. A. (2017). Unidad 11: Liposomas, en Tecnologías de nano/microencapsulación de compuestos bioactivos. Primera edición, Nanobio-CIATEJ. ISBN: 978-607-97548-3-9.

Zamani-Ghaleshahi, A. & Rajabzadeh, G. (2020). The influence of sodium alginate and genipin on physico-chemical properties and stability of WPI coated liposomes.

*Food Research International*, 130, 108966.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108966>

Zhou, W., Cheng, C., Ma, L., Zou, L., Liu, W., Li, R. & Li, J. (2021). The formation of chitosan-coated rhamnolipid liposomes containing curcumin: stability and in vitro

digestion. *Molecules*, 26(3), 560. <https://doi.org/10.3390/molecules26030560>

ANEXOS:

Participaciones congresos:

The poster is for the XXIV International Congress of Agricultural Sciences, held from August 7 to 12, 2022. It is organized by the National Congress and the International Congress of Agricultural Sciences. The event is hosted by La Universidad Autónoma de Chapingo, which is providing the venue. The speaker is Carolina Estudillo Márquez, presenting a paper titled 'Efecto del contenido de curcumina microencapsulada en quitosomas sobre sus características físico-químicas'. The paper is presented in the oral modality. The authors are Carolina Estudillo-Márquez, Anthony M. Ortiz-Deleón, and Angélica Román-Guerrero. The presentation is scheduled for October 4, 2022, in Chapingo, Mexico. The poster also features the signature of M.C. Langer-Corlay Chee, the President of the event.

Congreso Internacional, Congreso Nacional  
**XXIV** Ciencias Agronómicas  
del 07 al 12 de octubre de 2022

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
**CHAPINGO**

Otorga la presente

**CONSTANANCIA**

a: **CAROLINA ESTUDILLO MARQUEZ**

Por su participación como  
**PONENTE**  
en la modalidad Oral del trabajo titulado

**EFFECTO DEL CONTENIDO DE CURCUMINA MICROENCAPSULADA EN QUITOSOMAS SOBRE SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS**

cuyos autores son:  
Carolina Estudillo-Márquez; Anthony M. Ortiz-Deleón; Angélica Román-Guerrero

Chapingo, Estado de México, del 04 al 07 de octubre de 2022

*Langer*  
M.C. Langer-Corlay Chee  
Presidenta

**SIMPOSIO DE PERSPECTIVAS EN BIOTECNOLOGÍA 2022**

Casa abierta al tiempo  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
METROPOLITANA  
Unidad Iztapalapa

Institut de Recherche  
pour le Développement  
FRANCE

**Constancia de Participación**

El Posgrado en Biotecnología de la UAM agradece a los coautores:  
Estudillo-Márquez C., Román-Guerrero A.

Quienes presentaron el trabajo de investigación:  
Efecto del contenido de curcumina microencapsulada en  
liposomas sobre sus características fisicoquímicas

Modalidad videos  
6 y 7 de julio de 2022

Dr. Octavio Elera Corral  
Coordinador del Posgrado en Biotecnología

Dr. José Luis Gómez Olivares  
Director  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

## ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00216

Matrícula: 2221801576

ENCAPSULACIÓN Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE CURCUMINA EN LIPOSOMAS Y QUITOSOMAS.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:30 horas del día 21 del mes de abril del año 2023 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO  
DR. FRANCISCO CRUZ SOSA

siendo la primera asesora de la alumna y lector el segundo, de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

DE: CAROLINA ESTUDILLO MARQUEZ

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, se comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



CAROLINA ESTUDILLO MARQUEZ  
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

ASESORA

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO

LECTOR

DR. FRANCISCO CRUZ SOSA