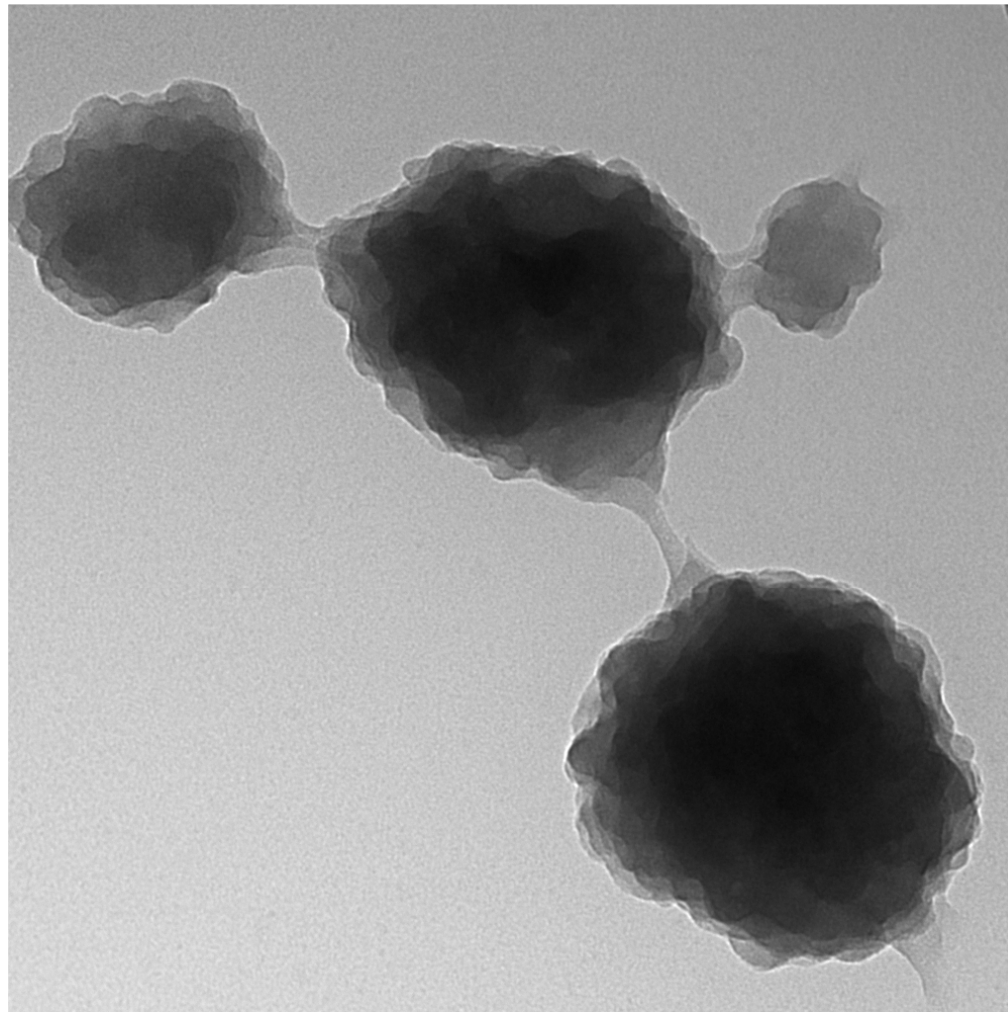


Micro- y nanoencapsulación de aditivos y otros compuestos de interés alimentario

Juan M. Irache



D07-2301-PTX-OHCDNP.tif
PTX-OHCDNP s/s s.contr.
Print Mag: 76900x @ 51 mm

100 nm
HV=80kV



Tecnología Farmacéutica
Universidad de Navarra

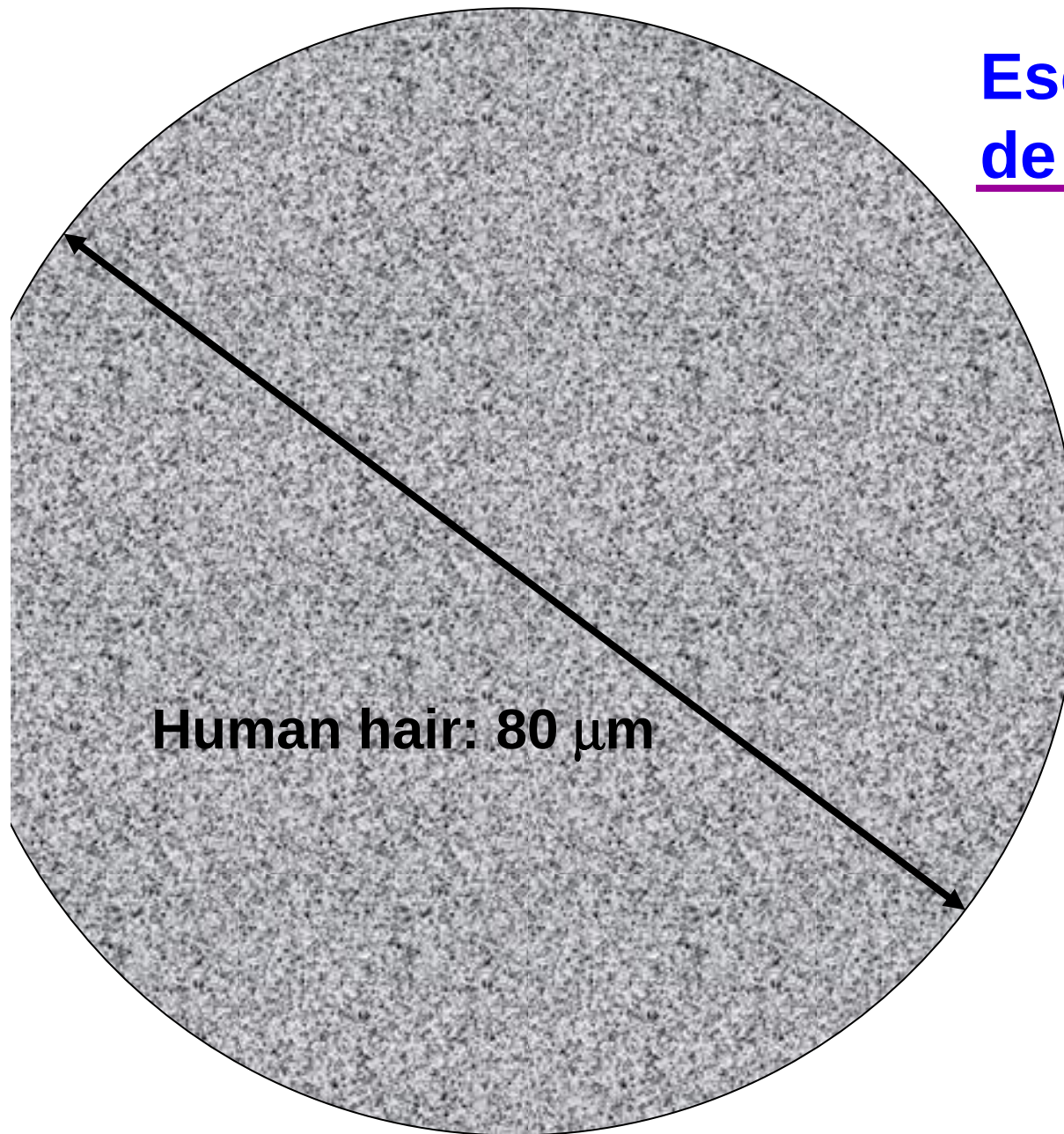
Ier Congreso Nacional de Agroalimentación
Pamplona (Mayo 2010)

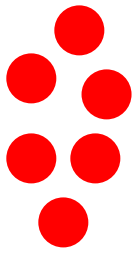
Encapsulación en la industria alimentaria

- **Encapsulación:** incorporación de ingredientes alimentarios, enzimas, células u otros materiales en pequeños dispositivos (escala nano- o micrométrica)
- Estos dispositivos se obtienen por **recubrimiento o atrapamiento** de un material o una mezcla (material encapsulado) en otro material (polímero, macromolécula, lípido)
- **Material encapsulado:** núcleo, activo, relleno, fase interna, carga
- **Material encapsulante:** cápsula, esfera, material polimérico, membrana



Escala comparativa de micro-nanómetros



 **Micropartículas
Microsistemas
Microdispositivos
(3 μm)**

 **Nanopartículas
Nanosistemas
Nanodispositivos
(200 nm)**



¿Por qué encapsular? Ventajas

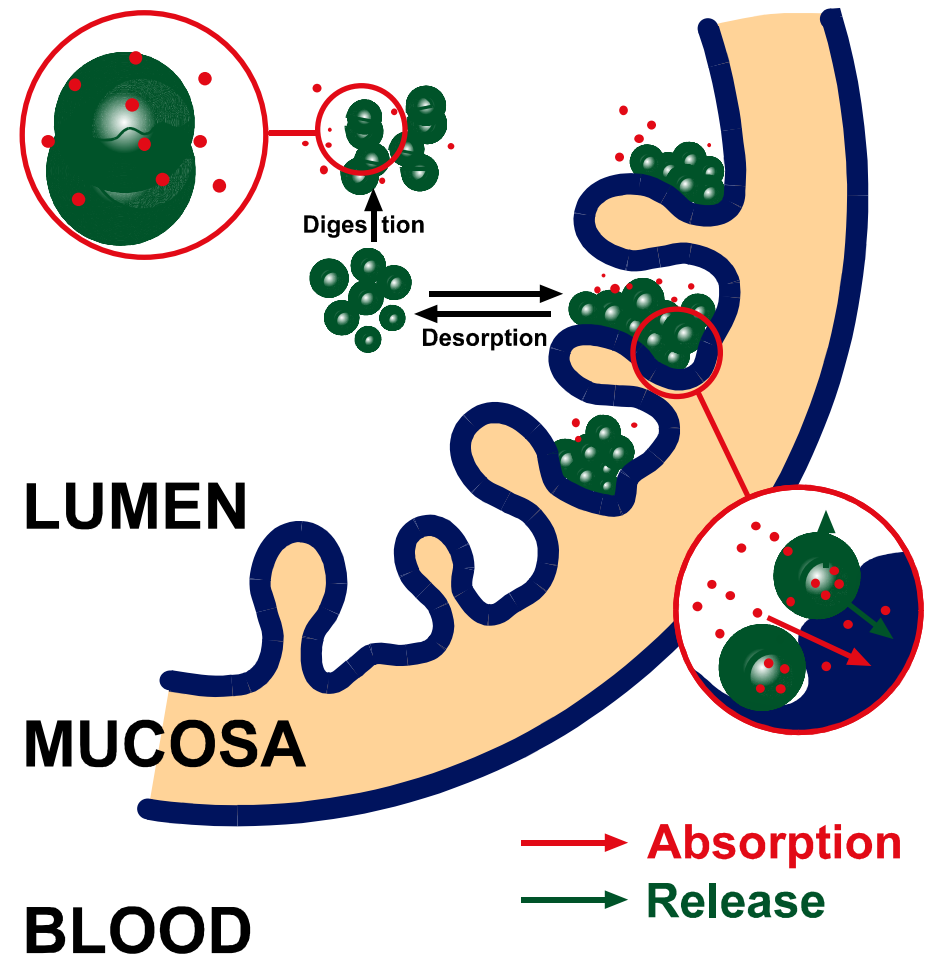
- **Incremento estabilidad (aumentar la vida media del producto)**
 - Encapsulación = aislamiento ingredientes que pueden interaccionar con otros componentes alimentarios
 - Protección frente calor, humedad, aire, luz, oxígeno...
- **Modificación características físicas para facilitar manipulación**
 - Dispersión uniforme en el material deseado
 - Modificación para manipulación más sencilla
- **Retención de ingredientes volátiles (aromas)**
 - Reducción pérdidas
- **Control de la liberación en el lugar y momento deseado (alcanzar el estímulo adecuado)**
 - Por modificación condiciones de pH (evitar pH ácido)
 - Por cambio del medio (disolución en saliva)
 - Por calor (liberación durante cocinado, acción microondas)
- **Enmascarar sabores desagradables**
 - Minimizar interacción entre activo y receptores de la boca



¿Por qué encapsular? Ventajas (II)

- **Otras**

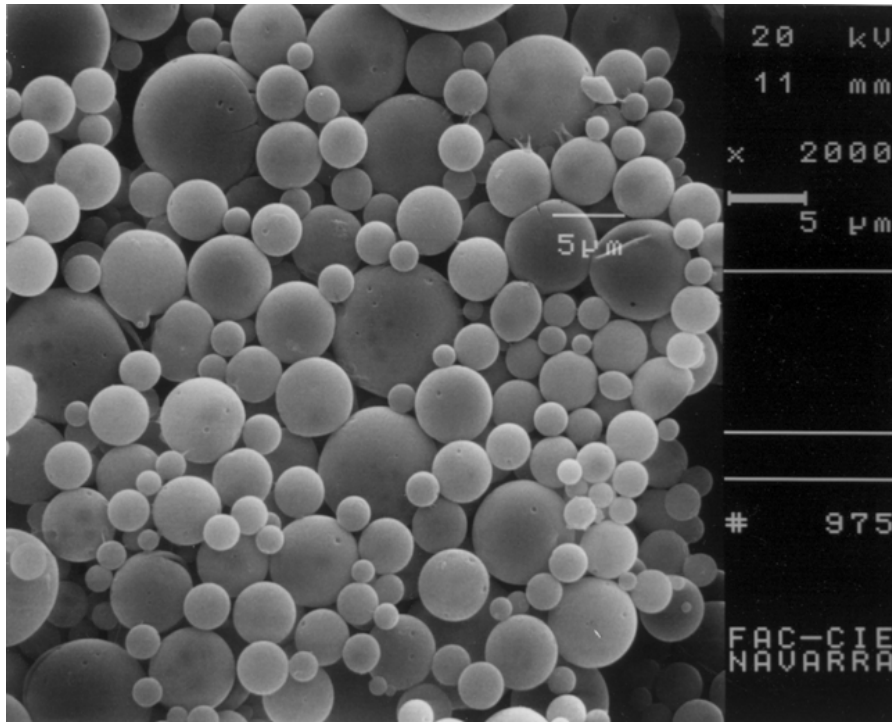
- Mayor percepción, potenciar notas, reducir cantidad ingrediente
- Aumentar biodisponibilidad (vitaminas, nutrientes): paso estómago, fenómeno bioadhesión
- Liberación consecutiva de múltiples ingredientes



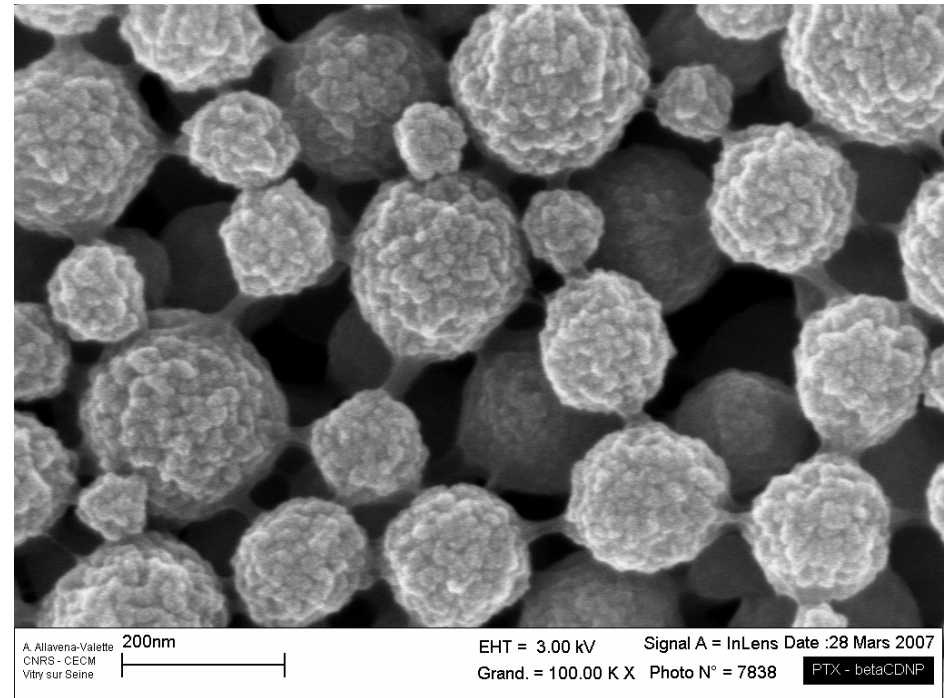
Criterios en micro- nanoencapsulación

- El objetivo de la encapsulación debe estar **claramente definido**
- El ingrediente activo **no debe deteriorarse durante** el proceso de **encapsulación**
- El polímero / macromolécula: **erosionable, no reactivo e insípido**
- La **concentración** del ingrediente debe ser **optimizada** en relación a su rendimiento y coste
- **Liberación** debe ser estudiada y **optimizada**:
 - (i) minimizar pérdidas durante la encapsulación, transferencia al alimento y almacenamiento
 - (ii) liberación en el lugar, momento y a la velocidad deseada, en función del estímulo predefinido (disolución, pH, temperatura, presión, etc...)
- **Coste** del proceso tiene que estar **justificado** en términos de aumento de rendimiento





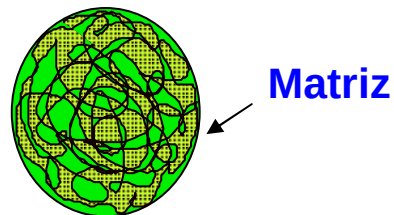
Micropartículas y nanopartículas poliméricas



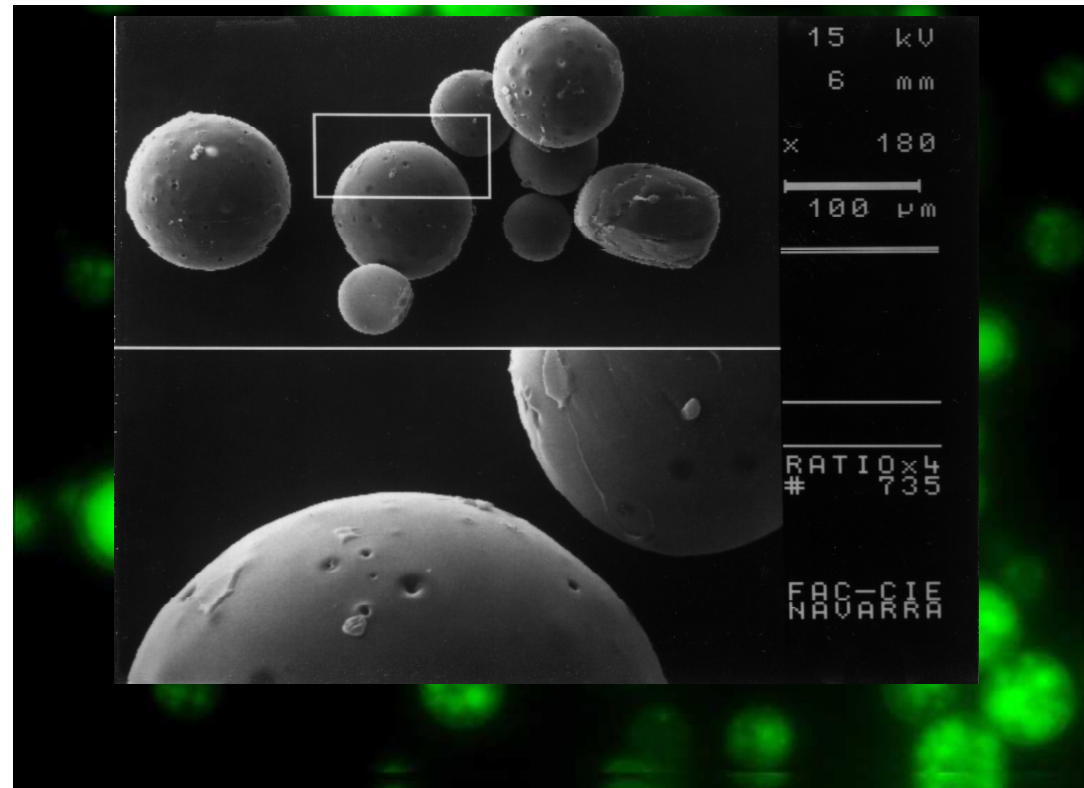
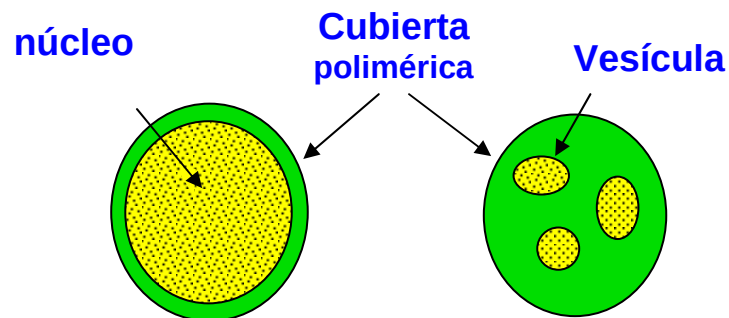
Micropartículas

- Vesículas sólidas de tamaño comprendido entre 1 y 1000 μm . Constituidas a base de macromoléculas de origen natural, lípidos o polímeros sintéticos. La sustancia activa es incorporada en su interior, o adsorbida en su superficie.

– Microesferas



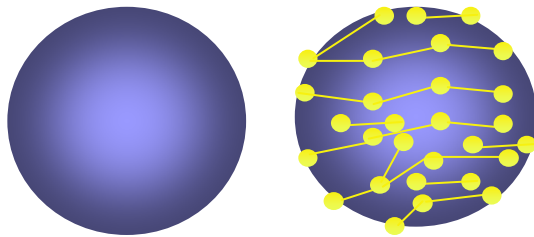
– Microcápsulas



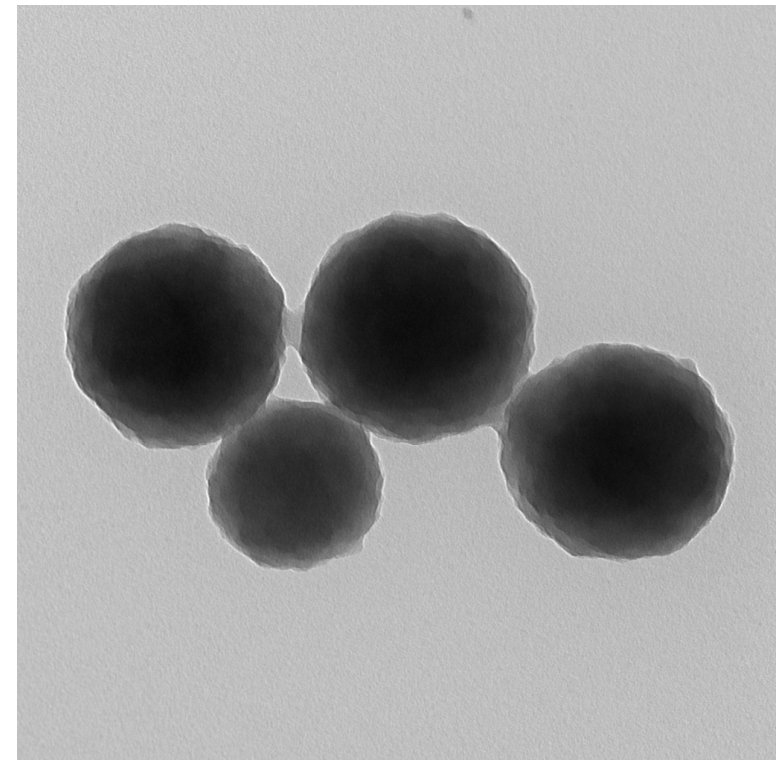
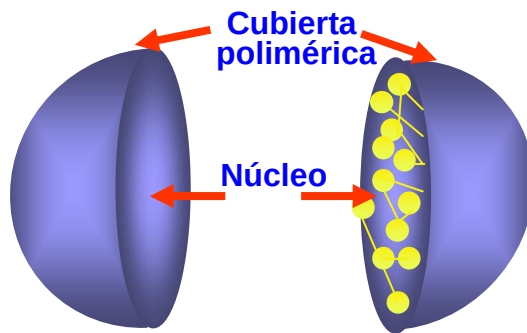
Nanopartículas

- Vesículas sólidas con tamaño medio inferior 1000 nm (normalmente 10-500 nm), formadas por macromoléculas naturales, lípidos o polímeros sintéticos. El activo es incorporado en el interior de la nanopartícula, o bien adsorbido en superficie.

– Nanoesfera



– Nanocápsula



D07-2338-PTX-bCDNP.tif
PTX-bCDNP s.contr.
Print Mag: 60400x @ 51 mm
12:10 02/26/07
Microscopist: Jeril

100 nm
HV=80kV
Direct Mag: 110000x
UMR 8080 CNRS / CCME ORSAY



Diferencias entre micro- y nanopartículas

	Micropartículas	Nanopartículas
	● ● ● ● ●	... :... :... :...
Superficie específica	+	+++
Comportamiento en fluidos	Tasa de sedimentación superior a la del movimiento Browniano	Dispersión homogénea
Encapsulación de moléculas pequeñas	+++	++
Encapsulación de probióticos	+++	-
Velocidad de liberación	+	+++
Liberación pulsátil	Posible	Difícil

Existe una influencia real del material y del método de producción en las características físico-químicas de los sistemas resultantes



Propiedades ideales del material encapsulante

- **Biodegradable / bioerosionable**
- **Inerte** con el material a ser encapsulado, tanto durante el procesado como durante almacenamiento
- Ofrecer la **máxima protección** al material activo frente a las condiciones ambientales (p.ej., calor, luz, humedad, oxígeno...)
- **Procesable / Manipulable** en disolventes o condiciones aceptables y aprobadas para uso en la industria alimentaria (p. ej., agua, etanol).
- **Material de grado alimenticio** y económico
- **Aproximación mimética**: Intentar usar materiales que estén ya presentes en los alimentos (idealmente, presente de forma natural en el alimento diana)



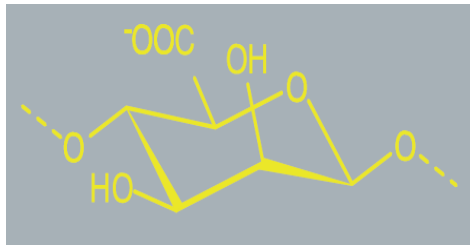
Materiales de recubrimiento para la encapsulación

Categoría	Materiales	Métodos
Polisacáridos	Almidón, maltodextrinas, quitosano, alginato, ciclodextrinas, carragenatos, gomas, agar	Spray, extrusión, coacervación, complejación, gelificación
Celulosas	CMC, MC, EC, acetato-ftalato de celulosa	Coacervación, spray-drying, lecho fluído
Lípidos	Cera, parafinas, manteca cacao, aceites, grasas	Emulsificación, liposomes, fusión en caliente
Proteínas	Gliadina, vicilina, legumina, caseína, gelatinas, albúminas	Emulsificación, coacervación, spray-drying

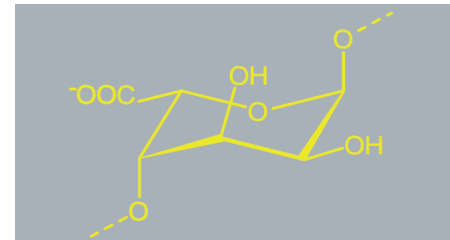


Materiales de recubrimiento: polisacáridos

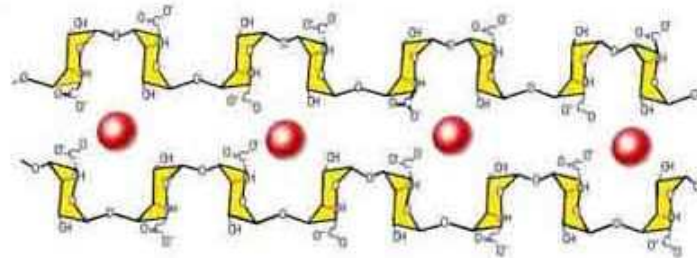
- **Alginato Sódico:** Hidrocoloide, polímero soluble en agua extraído de algas marinas. Polisacárido lineal constituido por dos unidades monoméricas (ácido β -D manurónico y α -L gulurónico) unidos por enlaces glucosídicos 1-4.



Ácido β - D Manurónico



Ácido α - L - Gulurónico



Modelo estructural de la "Caja de huevos" en presencia de cationes divalentes como calcio

Es uno de los polisacáridos más empleados para la encapsulación de aditivos y sustancias bioactivas en alimentación.

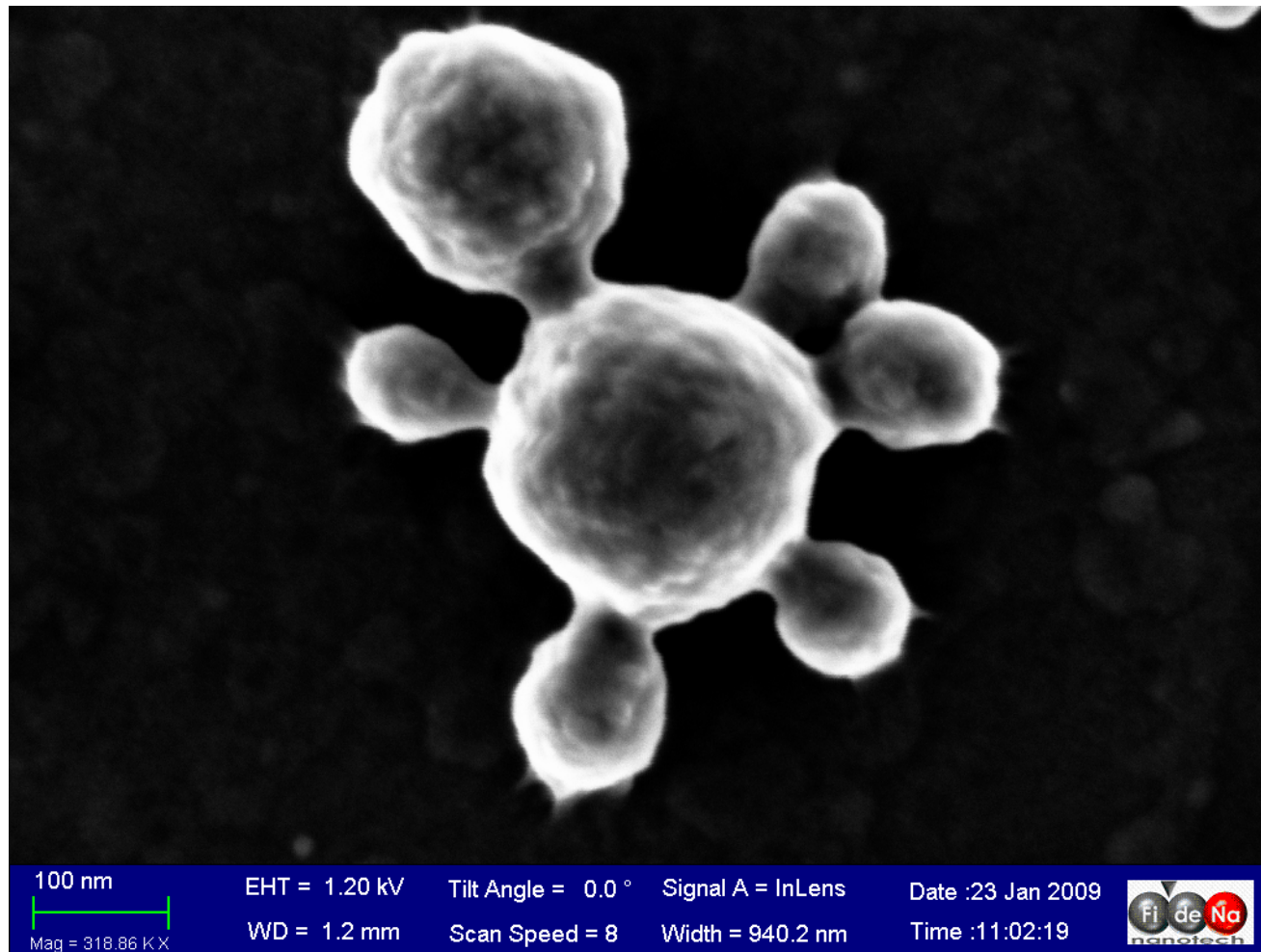


Materiales de recubrimiento: proteínas

- **Proteínas de origen animal**
 - Ovoalbúmina
 - Albúminas séricas
 - Gelatinas / Colágenos
- **Proteínas de origen vegetal**
 - **Albúminas:** solubles en agua
 - **Globulinas:** solubles en disoluciones acuosas salinas
 - Vicilina: 7S, 160 kDa, pl: 4,5
 - Legumina: 11S, 360 kDa, pl: 4,5
 - **Prolaminas:** solubles en disoluciones hidroalcohólicas al 70-85%.
 - Zeína de maíz
 - Gliadina de trigo
 - Hordeína de cebada
 - **Glutelinas:** Insolubles en agua y alcoholes. Solubles en disoluciones alcalinas ó ácidas.



Técnicas de encapsulación



Técnicas de encapsulación

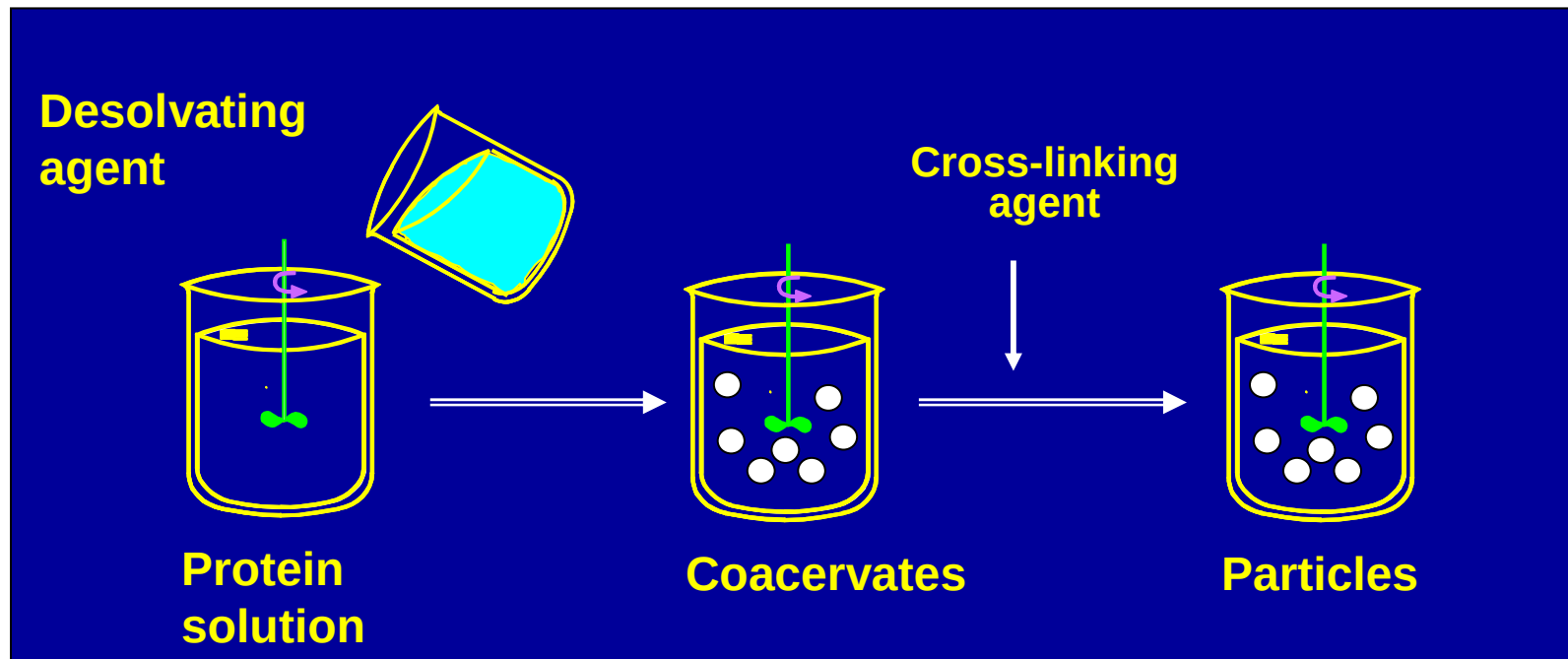
- **Procedimientos Físico-Químicos**
 - Coacervación (Simple o Compleja)
 - Emulsion-evaporación / Emulsion-extracción
 - Fusión en caliente
- **Procedimientos Químicos**
 - Policondensación interfacial
 - Complejación
 - Gelificación
- **Procedimientos Mecánicos**
 - Lecho fluido
 - Spray
 - Extrusión
 - Electrostatic Droplet generation
 - Spinning Disk
 - TROMS
 - Fluidos supercríticos



Encapsulación por coacervación

Coacervación Simple: adición de disolventes miscibles en agua, cambios de pH o electrolitos

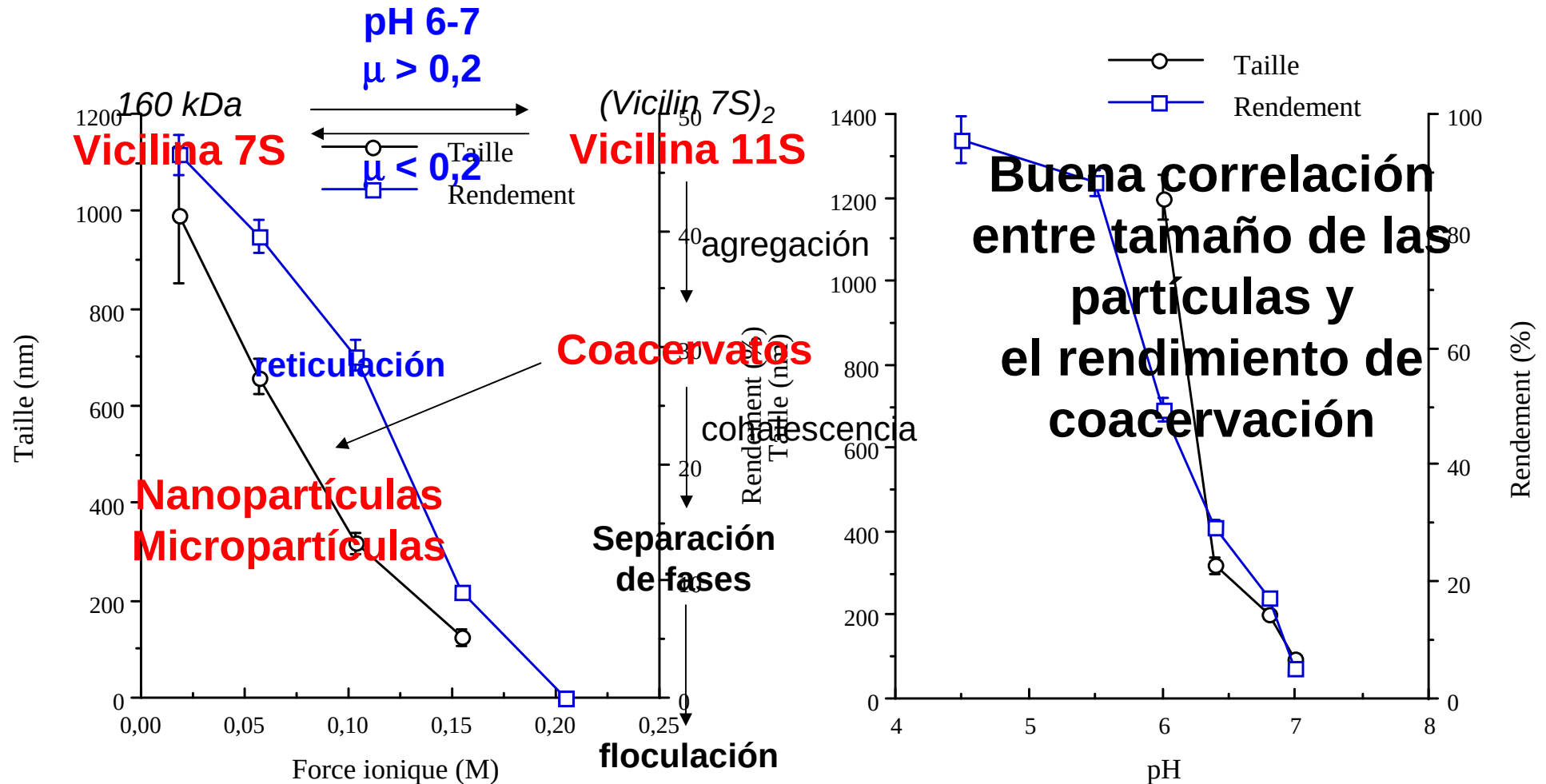
Coacervación compleja: desolvatación simultánea, inducida por cambio de pH, de coloides con carga opuesta



Dependiendo de las condiciones experimentales (agente desolvatante, tiempo de incubación, agente reticulante), se pueden obtener micro- o nanopartículas

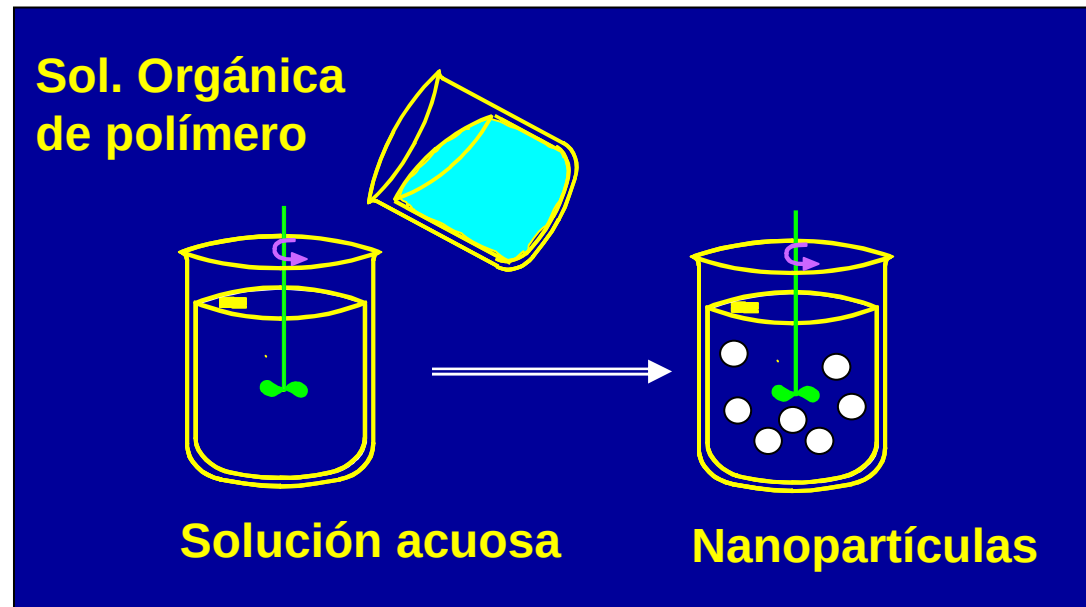


Encapsulación por coacervación



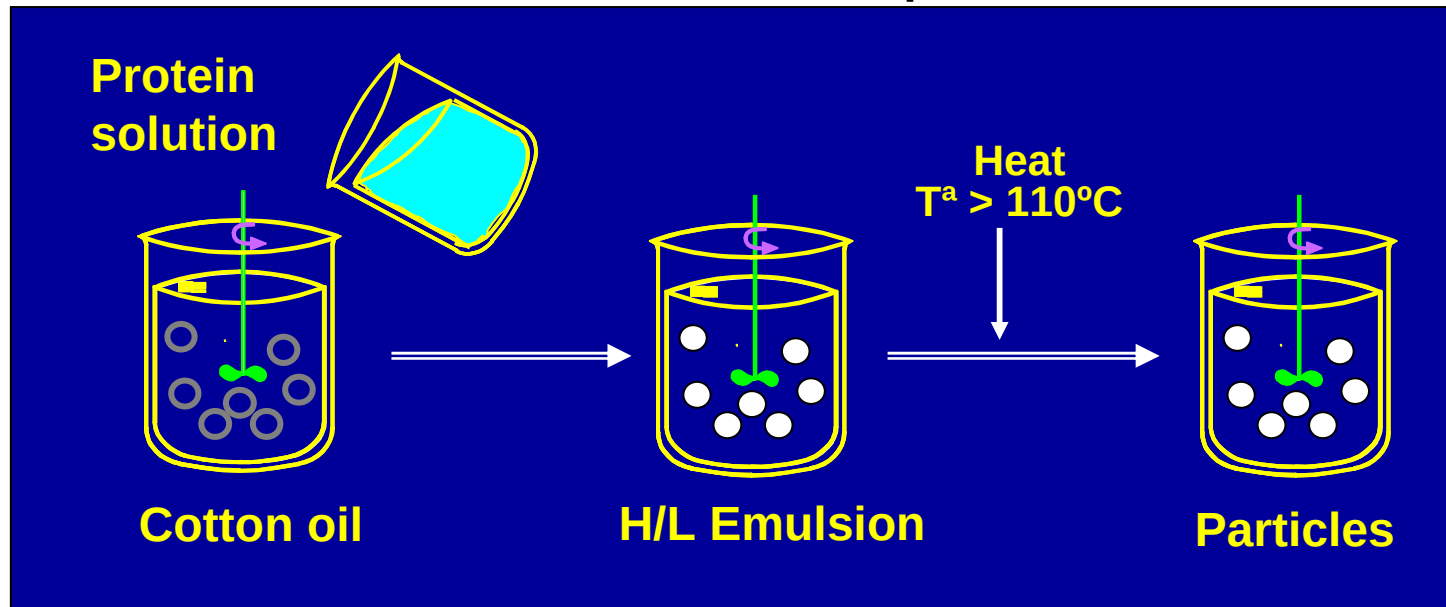
Encapsulación por desolvatación

- **Desolvatación / nanoprecipitación / desplazamiento del disolvente / salting-out:** polímeros, macromoléculas (gliadina)
 - Desolvatación
 - Evaporación / concentración



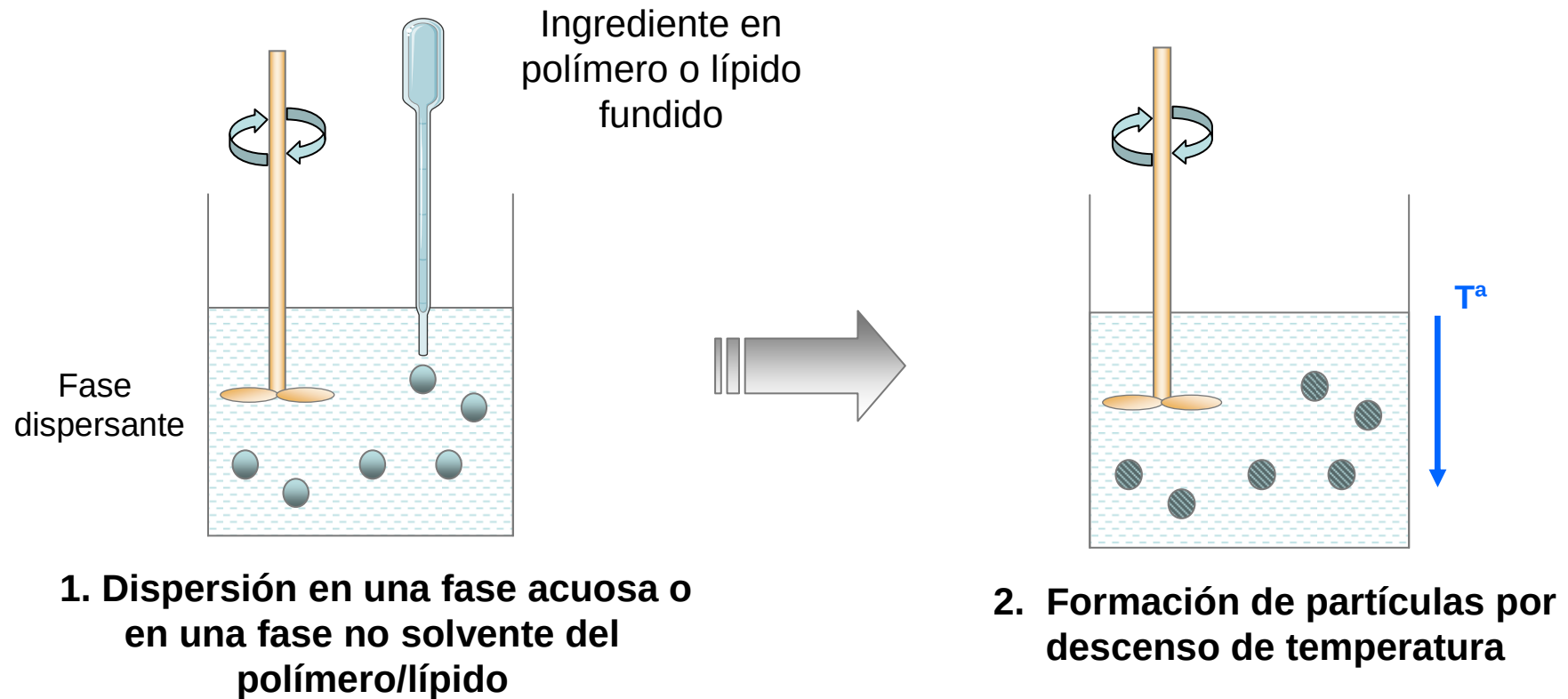
Encapsulación por evaporación del disolvente

- **Evaporación del disolvente:** Basado en la evaporación de la fase interna de una emulsión. Dos etapas:
 - Emulsificación
 - Evaporación
- Dependiendo de las condiciones experimentales (agitación, presencia de tensioactivos, fase oleosa, reticulación) se pueden obtener micro- o nanopartículas.



Encapsulación por fusión en caliente

Fusión en caliente: polímeros o lípidos fundidos



Encapsulación mediante gelificación iónica (I)

- **Gelificación:** Todos los polímeros pueden formar geles en condiciones particulares de hidratación. Cuando el gel se puede controlar, se aprovecha la propiedad para encapsular



Alginato sódico + aditivo

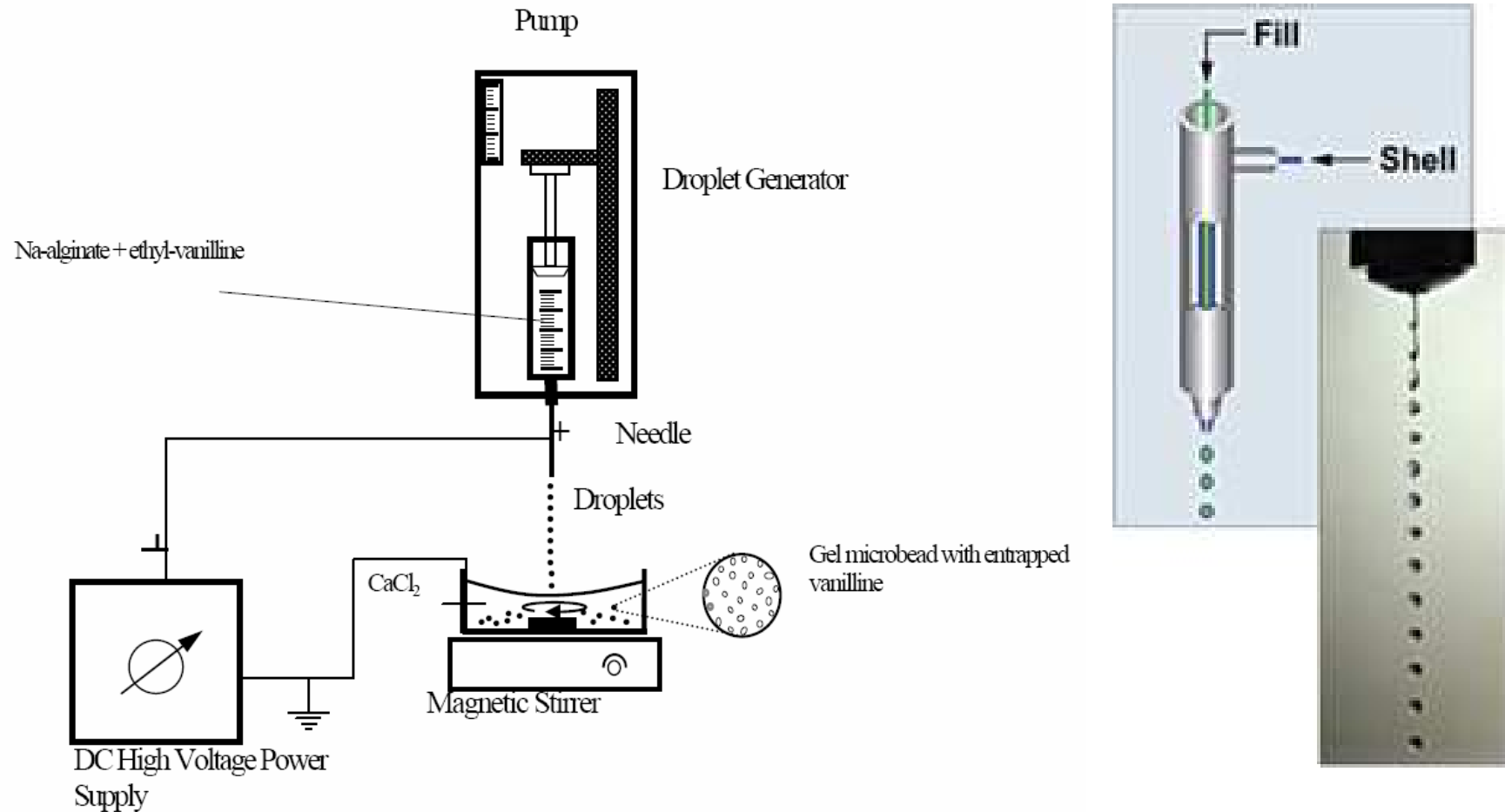
Cloruro
cálcico

$\text{Ca-(Alginato)}_2 + 2 \text{ NaCl}$



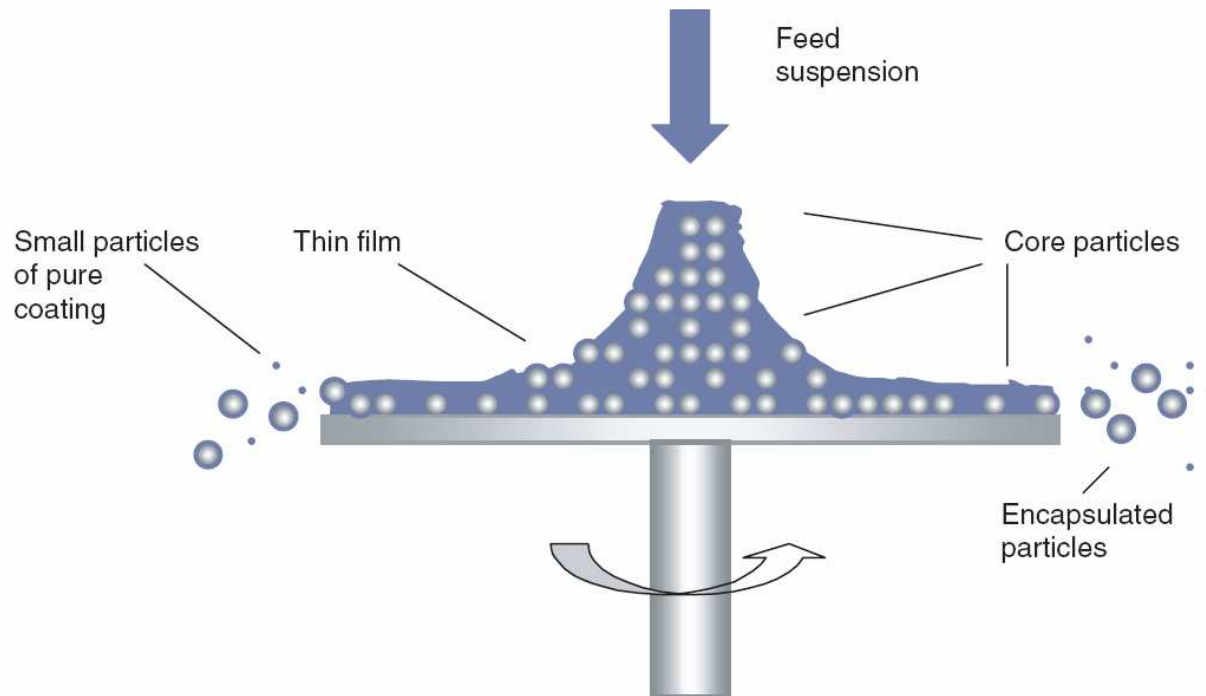
Encapsulación mediante gelificación iónica (II)

Gelificación tras generación electrostática de gotas



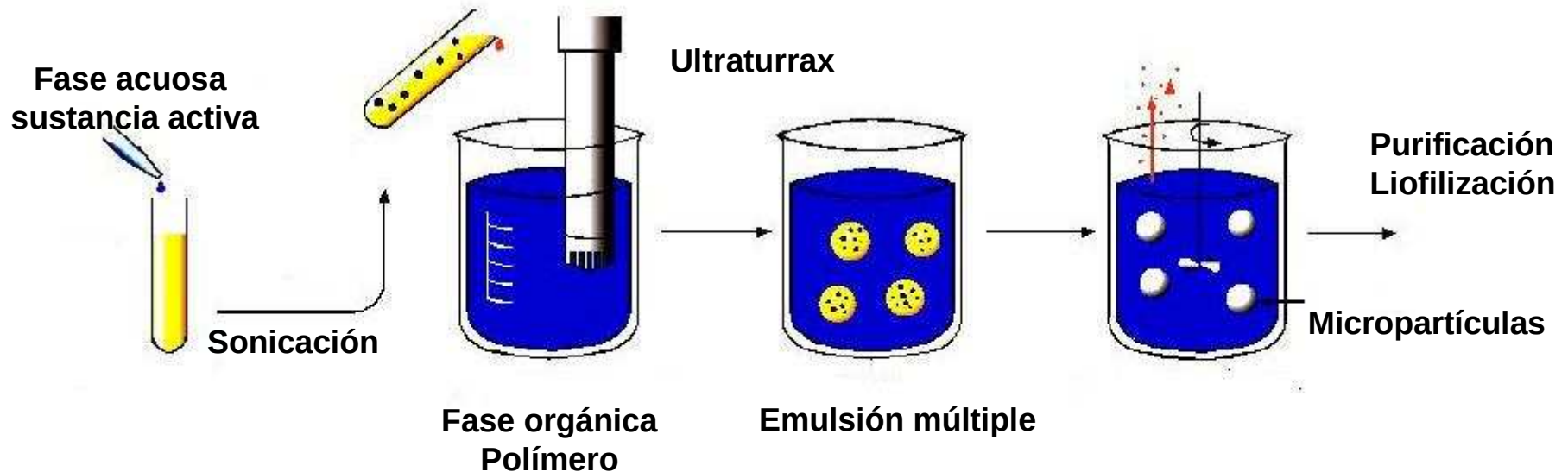
Encapsulación mediante gelificación iónica (III)

Spinning Disk / Disco rotatorio: implica la formación de una suspensión del material encapsulante en una solución de polímero de recubrimiento y su paso por un disco rotatorio.



Encapsulación tras emulsión múltiple (A/O/A)

Evaporación del disolvente: Emulsión múltiple (A/O/A)

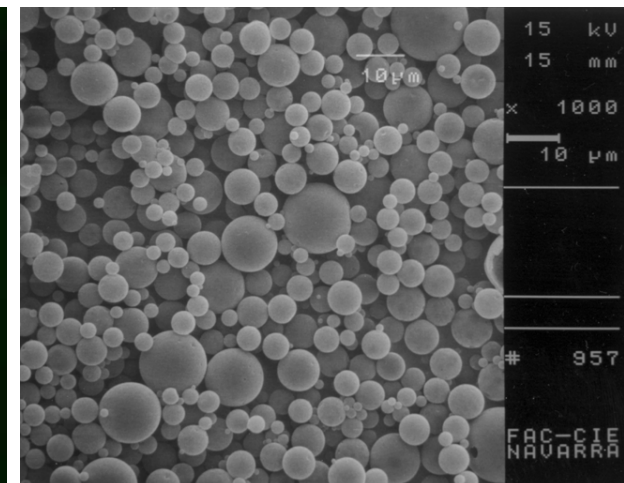
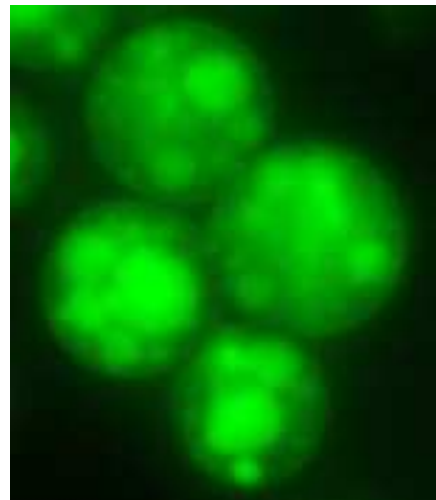


- **Problema:**
 - **Proceso de homogeneización**
 - **Empleo de disolventes orgánicos**

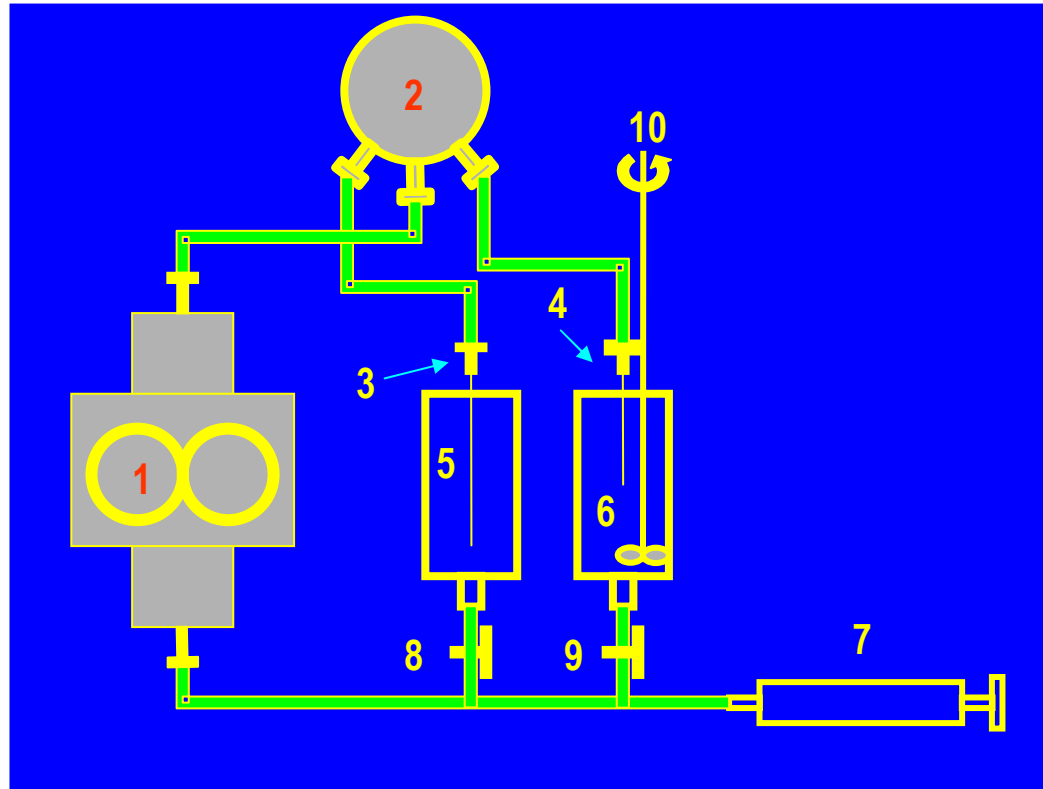


Encapsulación: TROMS

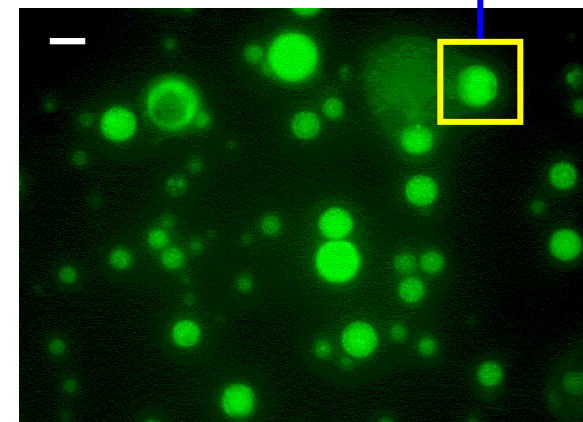
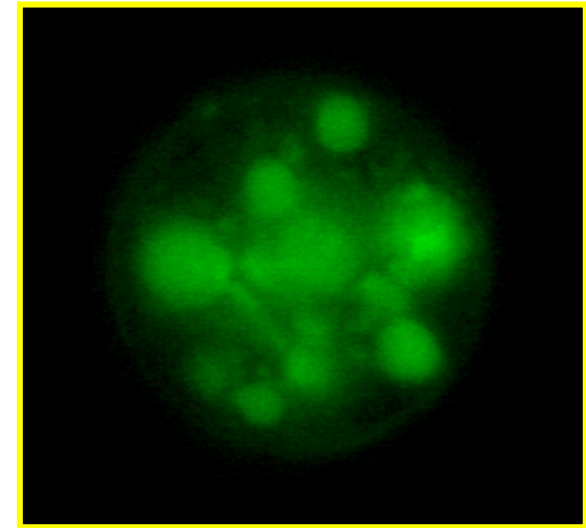
- Total recirculation one machine system
 - Sencillo para la preparación de emulsiones simples o múltiples ($A_1/O/A_2$): micropartículas
 - Control de parámetro de procesado: diámetro de aguja, tiempo de recirculación, temperatura: permite seleccionar el tamaño de las micropartículas obtenidas
 - Minimiza las fuerzas de cizalla: viable para probióticos



Encapsulación: TROMS

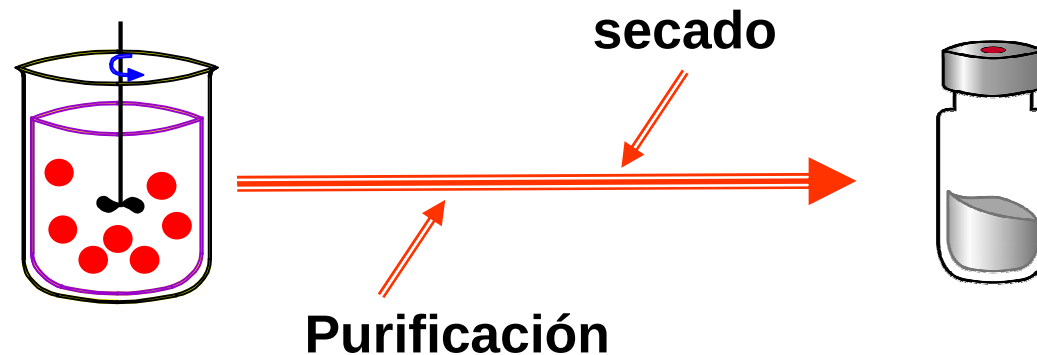


(1) Pumping system; (2) multi-way valve; (3/4) Needles; (5/6) missing vessels; (7) reservoir organic phase; (8/9) valves; (10) stirrer

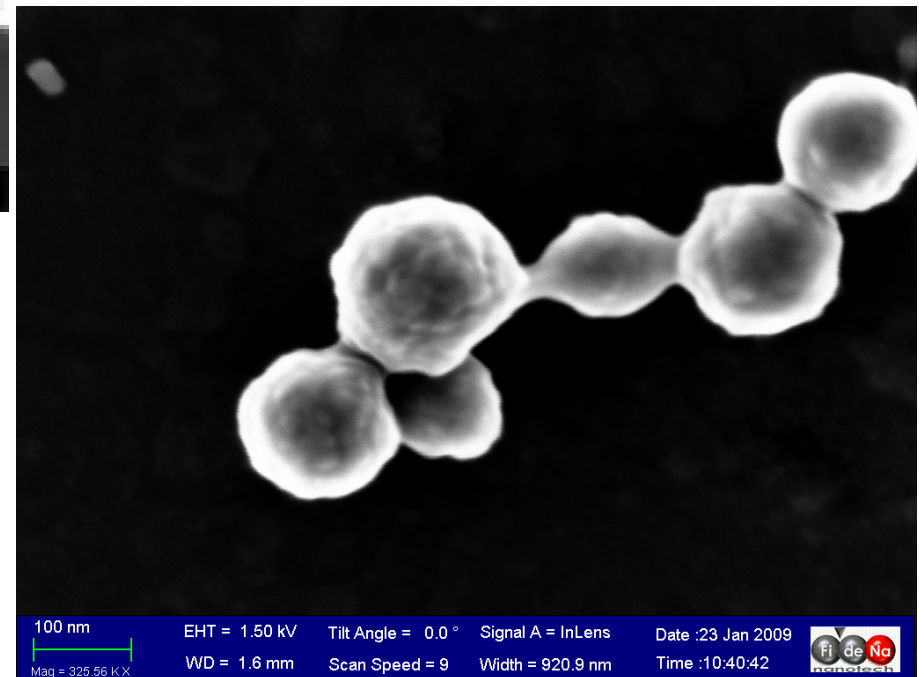
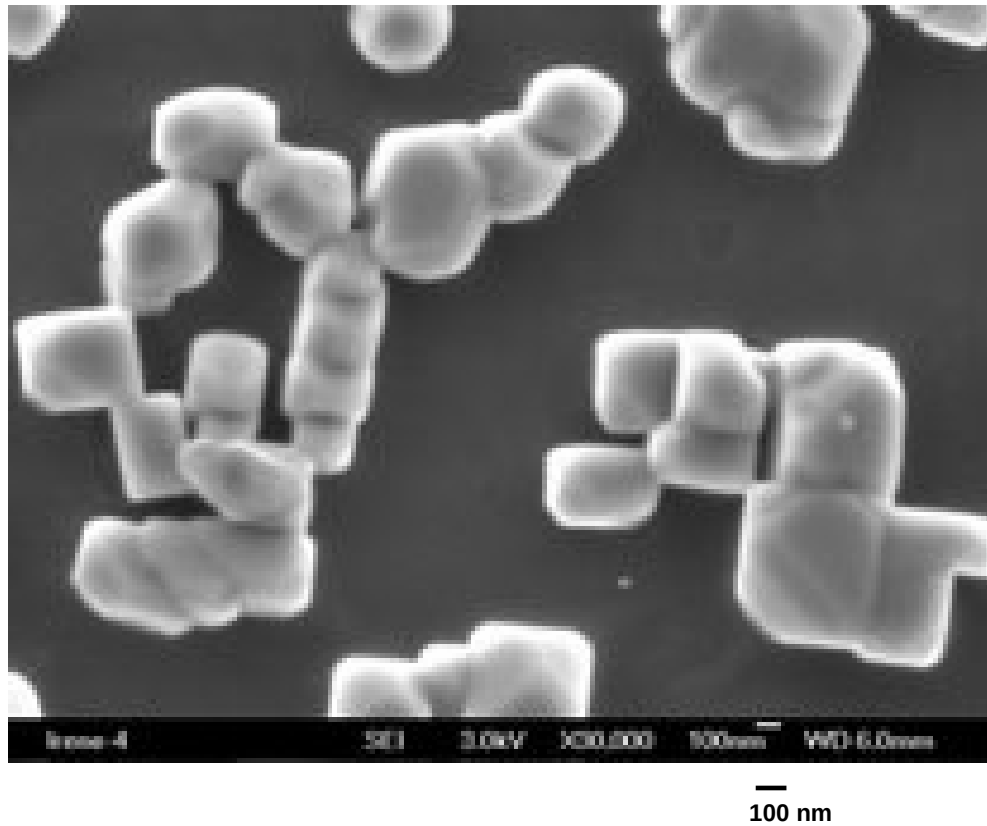


Purificación / Secado

- En algunos casos puede ser necesario manipular las micro-nanopartículas para facilitar su incorporación en el alimento diana.
 - Purificación o eliminación de disolventes orgánicos y aditivos no encapsulados: **dialisis, filtración tangencial, centrifugación**
 - Secado: **liofilización, Spray-drying**



Otros nanosistemas



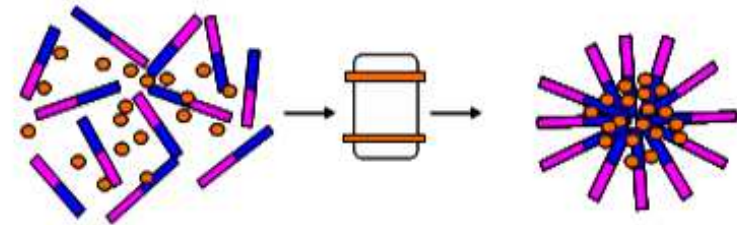
Nanocrystals

- Food components produced as pure crystals, with a mean diameter below 1000 nm.
 - Nanosuspension may include stabilising agents (surfactants, polymeric stabilisers)
 - Nanocrystals have to be distinguished from polymeric nanoparticles, which consist of a polymeric matrix and an incorporated drug
 - Nanocrystals do not consist of any matrix material
- Developed to improved the dissolution velocity of lipophilic ingredients: lycopene for addition to soft drinks and other food products
- Production methods
 - Milling Processes
 - Precipitation methods
 - High-pressure homogenization



Nanoparticulate Polymeric Micelles

- **Micelle:** aggregate of amphipathic molecules in water, with the nonpolar portions in the interior and the polar portions at the exterior surface
- **Polymers** with **amphiphilic** character, having a large solubility difference between hydrophilic and hydrophobic segments, are known to assemble in an aqueous milieu (Polymeric micelles or micelar nanoparticles).
 - Hydrophobic molecules
 - Difficult to control the release of the loaded ingredient



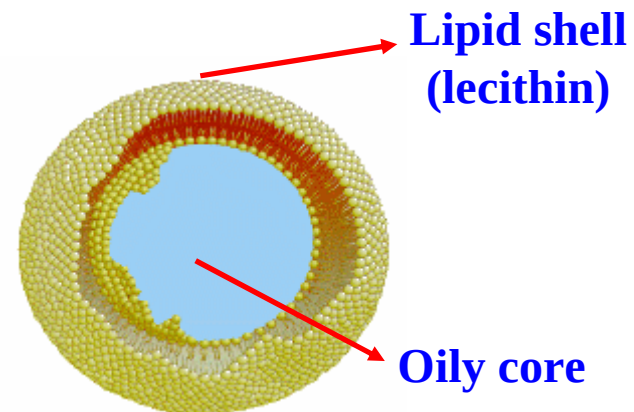
→ Hydrophilic segment
→ Hydrophobic segment
● Drug

**Micelle are fabricated by
controlled dialysis of
polymer and additive
solution (in water miscible
solvent)
Size < 100 nm**



Lipid-based colloidal delivery systems

- **Properties**
 - Colloidal stability in biological fluids (LNC)
 - Solubilizing properties of liquids (LNC / Liposomes)
- **Lipid Nanocapsules:** Submicron particles made of an oily liquid core surrounded by a solid or semisolid hydrophobic shell



Produced by

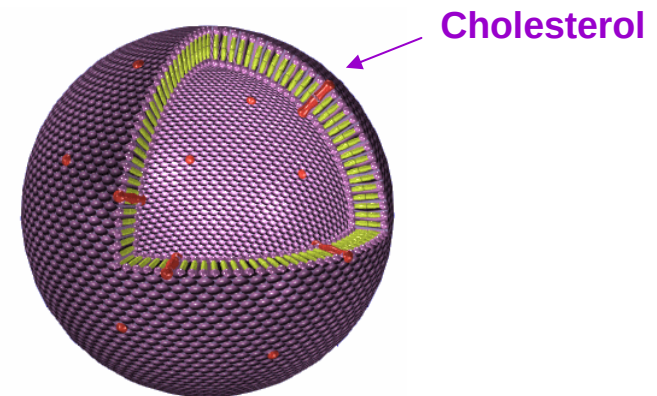
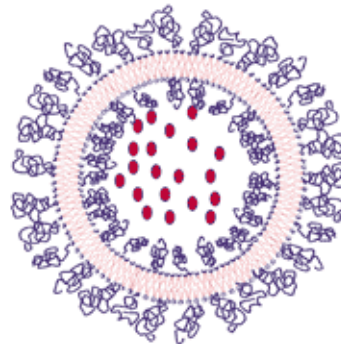
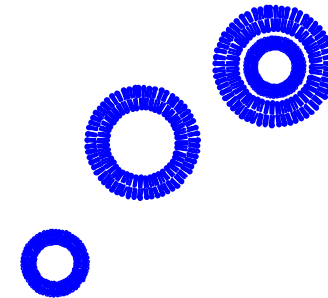
- Microemulsion techniques
- High pressure homogenization



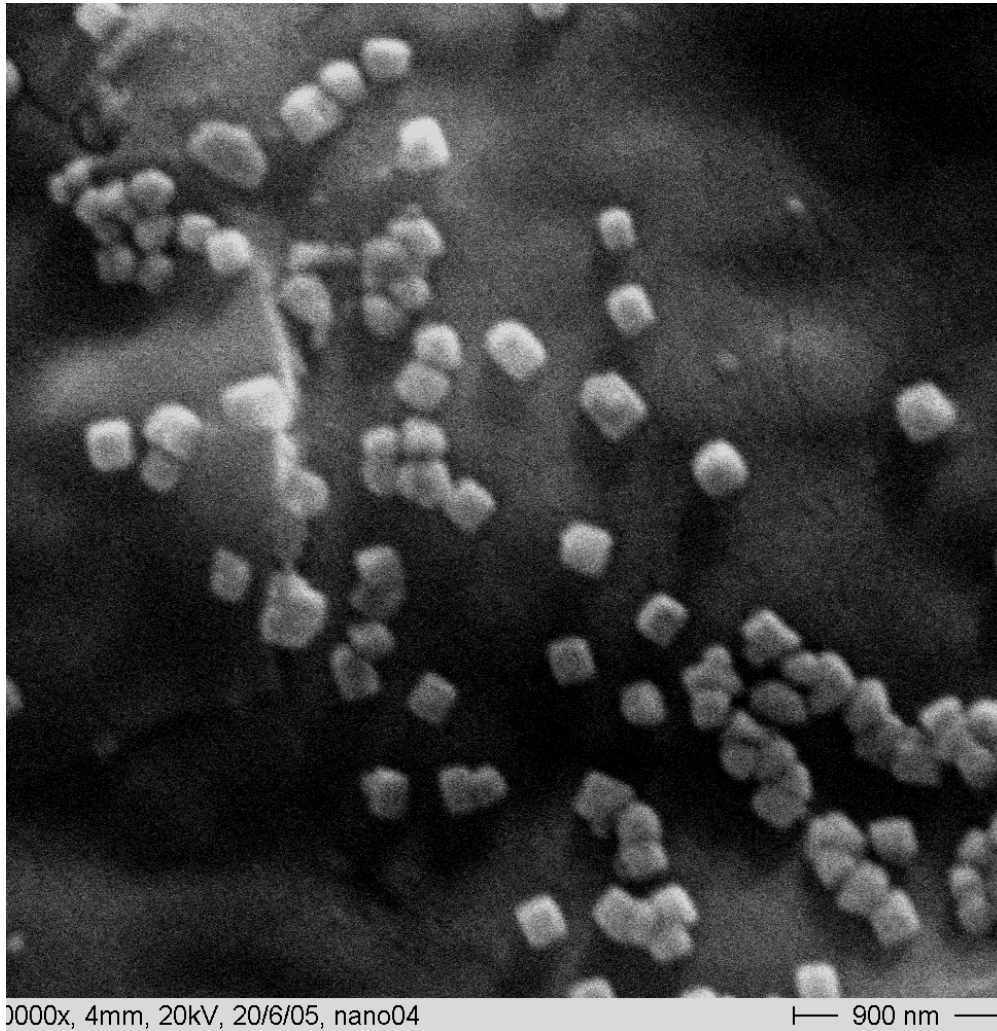
Lipid-based colloidal delivery systems

- **Liposomes**

- Phospholipid bilayers with an entrapped aqueous volume, containing cholesterol as stabilizing agent
 - MLV: multilamellar vesicles (size > 200 nm)
 - LUV: large unilamellar vesicles (100-400 nm)
 - SUV: small unilamellar vesicles (<100 nm)
- Characteristics
 - They can associate hydrophobic, hydrophilic and amphiphilic molecules
 - Low chemical and physical stability
 - Low toxicological problems



Aplicaciones



Aquanova® Novasol® (Alemania)



- Micelas poliméricas de unos 30 nm (Aquanova Alemania) para encapsulación de antioxidantes y suplementos (vitaminas, isoflavonas, β -caroteno, luteína, ácidos grasos omega-3).
- Buen sistema para sustancias hidrofóbicas

Tip Top® - Omega 3 Bread (Australia)

- Microcápsulas para enmascarar sabor y olor a aceite de pescado (ácidos grasos omega-3) añadido al pan como ingrediente funcional (p.ej.. “Tip Top-up” pan de molde, George Weston Foods, Australia).



Nano-sized self-assembled liquid structures (NSSL; Nutralease, Israel)

- Micelas para nanoencapsular fitoesteroles
- Reduce la ingesta de colesterol en un 14%
- Canola Active oil, produced by Shemen Ind.



Nanoceuticals™ (RBC Life Sci. Inc. USA)

- **Nanoceuticals™ Slim Shake Chocolate:**
diminutas partículas diseñadas para vehiculizar chocolate puro para mejorar el sabor.



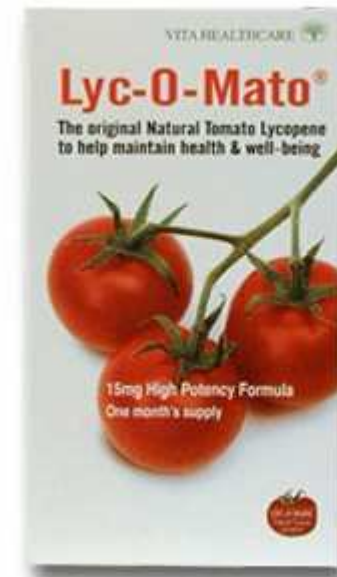
NANO B-12 Vitamin Spray Nanotech (USA)

- NANO B-12 Vitamin Spray Nanotech (Nutrition by Nanotec, LLC, USA)
- Nano-Gotas diseñadas para liberar la vitamina de forma controlada y constante



Lyc-O-Mato

- Nanocristales de licopeno



Otros ejemplos

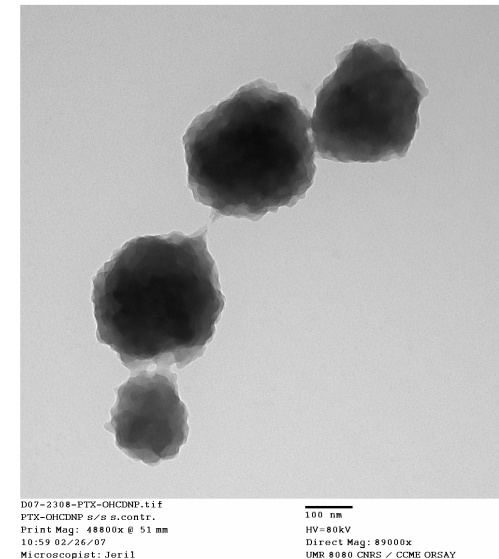
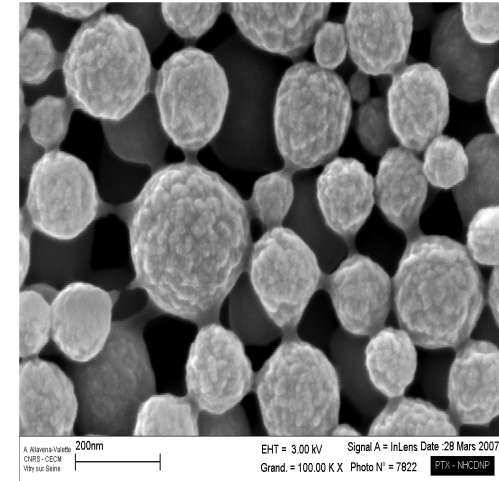


- Nano Ca/Mg from Mag-I-Cal.com USA)
- Nano-selenium-enriched Nanotea from Shenzhen Become Industry & Trade Co., Ltd. China)
- CapsuDar® and AsparCote™: Microencapsulated Ingredients Product Line
- CapsuDar® Microencapsulated Vitamins Product Line
- CapsuDar® Microencapsulated Mineral Product Line



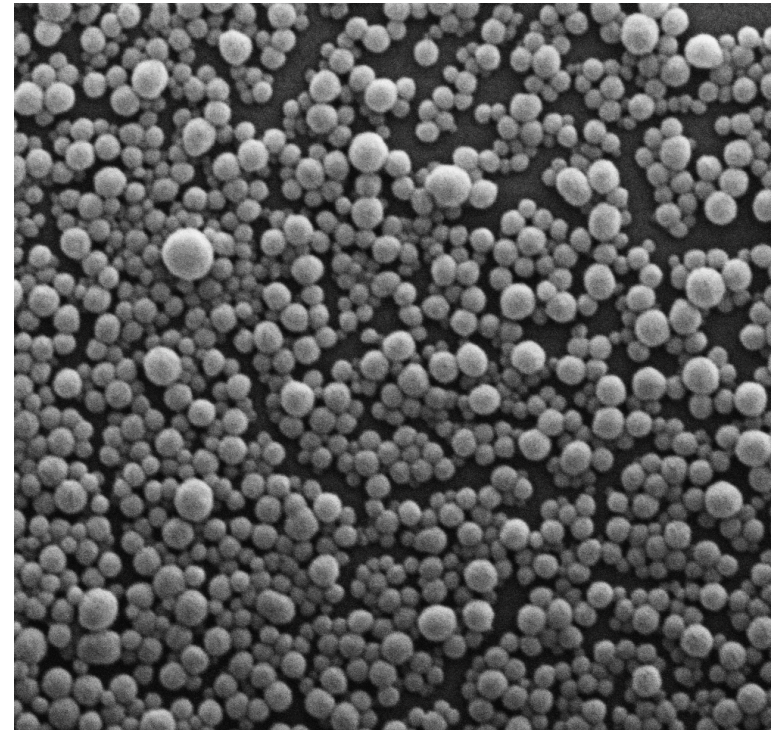
Conclusiones (I)

- El empleo de la micro/nanoencapsulación es una alternativa para resolver muchos de los problemas de la industria alimentaria actual, ya que se trata de una estrategia adecuada para numerosas aplicaciones, como la fortificación de alimentos, la mejora de propiedades organolépticas, incrementos de la vida útil del alimento y desarrollo de nuevos productos.
- Factores como la salud y la seguridad deben ser muy considerados a la hora de incluir estos dispositivos en alimentos y bebidas. Debe haber claridad y transparencia respecto al impacto para la salud, la seguridad y el medio ambiente.



Conclusiones (II)

- Como material de encapsulación se deben emplear sustancias GRAS. Además, como primera elección, es deseable emplear ingredientes presentes de forma natural en el alimento en el que se incorpora la formulación.
- Actualmente la tecnología es madura para su transferencia del laboratorio a la producción industrial. Los desafíos se centran en la correcta selección de la técnica de encapsulación y el material encapsulante adecuado.



Agradecimientos

- Prof. Anne Marie Orecchioni
 - Prof. Jacques Gueguen
 - Prof. Yves Popineau
 - Dr. Isabel Ezpeleta
 - Dr. Miguel Angel Arangoa
-
- Dra. Irene Esparza
 - Dra. Maite Agüeros
 - Dña. Rebeca Peñalva
 - D. Alex Hansen

