

# Encapsulación y liberación controlada: Macro cápsulas



Center for Nanotechnology Education

Versión 081018



Este material está basado en trabajo apoyado por la Fundación Nacional de Ciencia bajo la Concesión Número 0802323 y 1204918. **Cualquier opinión, hallazgos, conclusiones o recomendaciones expresadas en este material son las del autor(es) y no necesariamente representan las opiniones de la Fundación Nacional de Ciencias.**



Este trabajo está licenciado por [“Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported License”](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

Basado en un trabajo en [www.nano-link.org](http://www.nano-link.org).

# Encapsulación y liberación controlada

## Abstracto

Este módulo introduce el proceso de la formación de macro cápsulas y el concepto de autoensamblaje. Formar cápsulas a escalas macro, micro y nano tiene aplicaciones muy importantes en la liberación de medicamentos, cosméticos, tecnología de alimentos y en la limpieza de toxinas ambientales. El módulo incluye una actividad de laboratorio que utiliza compuestos orgánicos, nanopartículas y colorante, permitiendo que los estudiantes estudien los procesos de encapsulación y liberación controlada.

## Resultados

- Comprender los roles de las nanopartículas y el autoensamblaje en el proceso de microencapsulación.
- Aprender sobre las aplicaciones teóricas y actuales de micro y nano cápsulas en la medicina y otras tecnologías.

## Prerrequisitos

- Química de escuela superior

## Correlación

### *Conceptos Científicos*

- Difusión
- Fuerzas e interacciones: Van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas
- Espectrofotometría
- Encapsulación

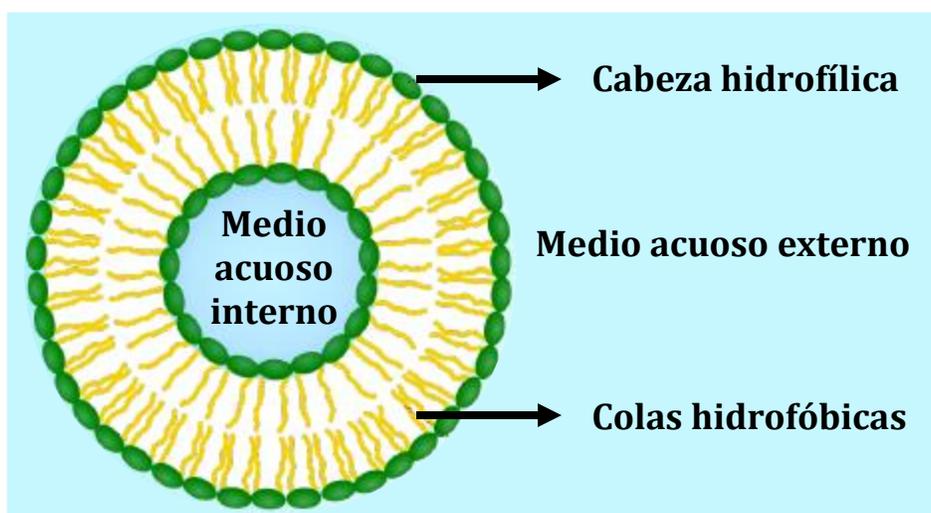
### *Conceptos de Nanociencia*

- Nanopartículas
- Autoensamblaje

## Información de trasfondo

### ¿Qué es encapsulación?

El fenómeno de la encapsulación ocurre naturalmente y también es el centro de atención para muchos campos de la ingeniería (farmacéutica, agricultura, alimentación, impresión, cosmética, textil y defensa (8)). Un ejemplo de encapsulación natural es la formación de liposomas a través de un proceso llamado autoensamblaje. Un liposoma es una pequeña vesícula esférica compuesta de al menos una bicapa de lípidos (Figura 1) con diámetros que van desde decenas de nanómetros a decenas de micrómetros. El interior del liposoma (el "núcleo") está cubierto de moléculas hidrofílicas (amantes del agua), lo que le permite contener una variedad de soluciones acuosas o sustancias hidrofílicas, dependiendo del ambiente exterior, el tamaño del liposoma y procesos naturales como la difusión y la ósmosis. La membrana externa del liposoma es también hidrofílica, lo que permite que pueda estar suspendido en agua, una solución salina u otros medios acuosos.



**Figura 1.** Esquema (corte transversal) de un liposoma que muestra una bicapa de fosfolípidos rodeando un ambiente acuoso interno y a la misma vez excluyendo el ambiente acuoso externo (<https://en.wikipedia.org/wiki/Liposome>).

Las bicapas de lípidos se forman a través de un proceso conocido como autoensamblaje. El autoensamblaje es un fenómeno natural en el que diversas fuerzas físicas, químicas, eléctricas y otras fuerzas ambientales actúan sobre un sistema desordenado para formar una estructura organizada. Un ejemplo de autoensamblaje es la formación de un copo de nieve, donde la intrincada estructura hexagonal surge mientras las moléculas de agua se condensan partiendo desde su fase de vapor de agua. Debido al ángulo de enlace del H<sub>2</sub>O, el ensamblaje resultante de las moléculas de agua tiene una forma hexagonal. Otro ejemplo de autoensamblaje es la vida misma, específicamente las proteínas que forman las células. Las proteínas se ensamblan de aminoácidos en una amplia variedad de estructuras, dependiendo de la distribución de grupos cargados positiva y negativamente en los aminoácidos. La forma específica de la proteína resultante determina su rol en el proceso vital que cumple dentro de la célula.

Las fuerzas que juegan un papel crucial en el autoensamblaje y en la formación de liposomas incluyen el movimiento Browniano (movimiento aleatorio de partículas suspendidas en un fluido como resultado de colisionar con átomos o moléculas que se mueven rápidamente) y fuerzas electrostáticas que impulsan el efecto hidrofóbico (la tendencia de las moléculas hidrofóbicas a agregarse en un ambiente acuoso hidrofílico, lo que explica el por qué una gota de aceite en una olla de agua permanece como una gota incluso después de una mezclarlo todo de forma turbulenta).

La microencapsulación es un proceso que aprovecha el autoensamblaje. Este proceso envuelve la formación de pequeñas cápsulas (tamaño micro) que contienen algún ingrediente activo (ingredientes alimenticios, enzimas, medicamentos, etc.) destinados a ser liberados bajo condiciones definidas. El proceso puede extenderse a nano cápsulas en nano encapsulación.

### *¿Por qué la encapsulación es importante?*

Encapsular una sustancia a escala micro o nano es importante siempre que sea necesario encerrar una sustancia dentro de una cubierta, de forma permanente o temporalmente, para extender su vida y estabilidad y para controlar su liberación bajo condiciones ambientales específicas.

La fabricación y aplicación de microcápsulas ha estado en curso durante décadas. Las microcápsulas se utilizan en productos cotidianos, incluyendo los adhesivos, papel electrónico / tinta electrónica, aditivos de alimentos, pesticidas, perfumes, textiles y medicamentos. La fabricación y aplicación de las nano cápsulas muestran un enorme potencial en áreas como la tecnología de los alimentos, los cosméticos y la liberación de fármacos.

Un ejemplo común de micro o nano encapsulación es un medicamento (fármaco) que sólo debe liberarse en el intestino delgado. Para evitar que el medicamento sea digerido en el estómago antes de llegar al intestino, el agente farmacológico se micro encapsula en una cubierta que es insoluble en el ambiente del estómago que tiene un pH bajo ( $\text{pH} \leq 3$ ) y que sólo se disuelve en el pH un poco más alto ( $\text{pH} = 6$ ) del intestino delgado. Otros ejemplos de productos micro encapsulados incluyen catalizadores químicos que están diseñados para ser liberados en un reactor a ciertas temperaturas y colorantes que se liberan de pequeñas cápsulas cuando se rompen mecánicamente - así es cómo funcionan las estructuras sin carbono.

### *¿Qué tipos de microcápsulas pueden prepararse?*

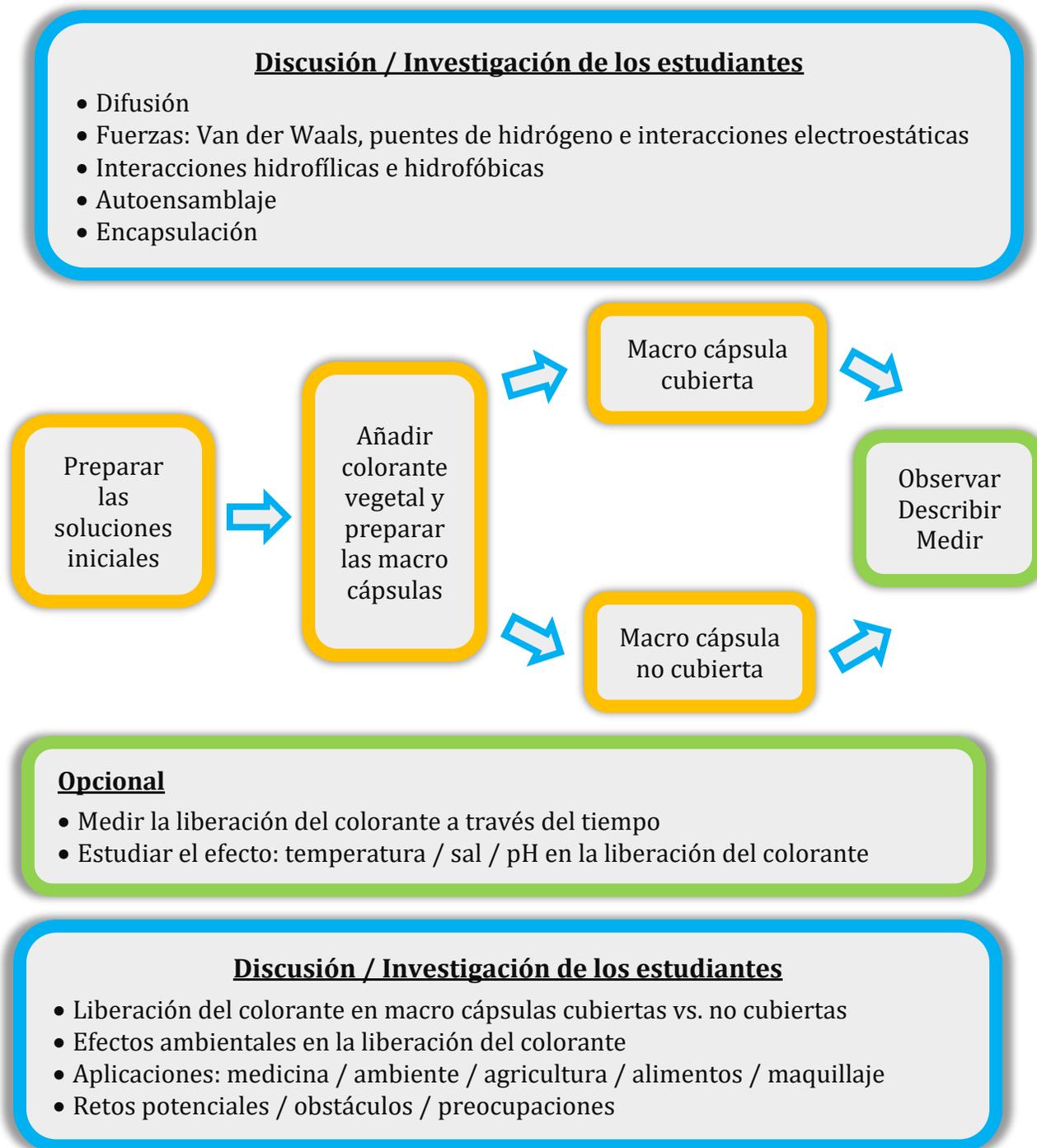
Hay dos tipos generales de microcápsulas: cápsulas con centro/capa y cápsulas con matriz. Una cápsula con centro/capa es como un huevo, tiene una capa ("shell") continua que encierra el ingrediente activo líquido o sólido en un centro ("core"). La liberación del ingrediente activo se logra al romper, derretir o digerir la capa, lo que resulta en una liberación rápida (de una sola vez).

Una cápsula con matriz es más parecida a una esponja: tiene una estructura porosa que retiene el ingrediente activo por capilaridad. La liberación del ingrediente activo ocurre por difusión al ambiente externo y tiende a ser más continuo. Las cápsulas de matriz pueden ser posteriormente cubiertas con una capa si se desea un perfil de liberación diferente. Un material común que se usa para formar cápsulas de matriz es un polímero orgánico conocido como ácido algínico (derivado de algas marrones). Cuando los iones de calcio están presentes, las cadenas de ácido algínico se entrecruzan todas juntas formando un gel.

En esta actividad de laboratorio, los estudiantes prepararán y caracterizarán cápsulas a mayor escala (macro cápsulas), utilizando polímeros orgánicos naturales como el quitosano y el sodio alginato. Utilizarán un colorante (de alimentos) como el material en el interior de la cápsula. Si el laboratorio está equipado con un espectrofotómetro que mida la absorción de luz por una muestra líquida, los estudiantes también pueden medir la liberación del colorante en la cápsula a través del tiempo. Adicional, pueden estudiar la estructura de las cápsulas si tienen acceso a un microscopio óptico, un microscopio de fluorescencia y/o un microscopio electrónico de barrido (SEM).

## Actividad de aprendizaje: Preparando y probando macro cápsulas

### Flujograma de la actividad



### Video de la actividad

El video de la actividad está disponible en: [www.nano-link.org](http://www.nano-link.org)

## Actividad de aprendizaje: Encapsulación y liberación controlada

### Descripción

- En esta actividad de laboratorio explorarás los conceptos de encapsulación y técnicas autoensamblaje. Para ayudarte a visualizar el concepto de encapsulación y liberación controlada, prepararás una matriz de macro cápsulas (de unos pocos mm de diámetro) encapsulando un colorante y utilizando un compuesto natural para cubrir la cápsula. Medirás el ritmo de liberación del colorante entre la matriz de las cápsulas cubiertas y las no cubiertas.

### Objetivos

- Encapsular un colorante utilizando un método común de encapsulación.
- Aprender parte de la química detrás del proceso de encapsulación.
- Medir la liberación del material en el interior de la cápsula bajo condiciones controladas.

### Materiales y equipo

- Sal de sodio del ácido algínico
- Quitosano (chitosán) de bajo peso molecular
- Ácido cítrico monohidrato
- Cloruro de calcio
- Colorante vegetal concentrado
- Agitador magnético y agitador
- Goteros desechables de 1mL
- Espectrofotómetro (opcional)
- Cubetas / Frascos (opcional, para utilizar con el espectrofotómetro)
- Guantes de vinilo, gafas de seguridad y delantal
- Adicional: vasos de laboratorio, balanza, espátulas, platos desechables, etiquetas o cinta adhesiva, marcador, cámara digital

### Procedimiento

#### ***Paso 1. Preparación de las soluciones iniciales***

NOTA: El alginato y quitosano son compuestos orgánicos naturales, pero requieren un manejo especial para evitar que se aglomeren y tarden más tiempo en disolverse. Para el alginato: agita el agua vigorosamente utilizando un agitador magnético y añade el ácido algínico en polvo LENTAMENTE al vórtice para que todo el polvo tenga contacto con el agua y se moje. No viertas todo el polvo muy rápido, de lo contrario, obtendrás una masa pegajosa que será difícil de disolver. Continúa agitando el polvo suspendido por 25 – 30 minutos hasta que el polvo esté completamente disuelto y obtengas una solución clara. Para el quitosano: agita el agua vigorosamente, añade el quitosano en polvo al vórtice LENTAMENTE y agita por 10 minutos.

- a. Se puede preparar suficiente alginato para la clase, disolviendo 1.0g de sal de sodio del ácido alginico en 200mL de agua DI para producir una solución al 0.5wt%.
- b. Prepara un baño de cloruro de calcio al 2.5wt% disolviendo 2.5g de  $\text{CaCl}_2$  en 100mL de agua DI.
- c. Prepara una solución de quitosano disolviendo 0.2g de quitosano en 50mL de agua DI que contenga 2g ácido cítrico agitando vigorosamente.

### ***Paso 2. Formación de macro cápsulas***

- a. Añade una gota del colorante concentrado a 5mL de la solución de alginato y mezcla con un agitador o con un gotero.
- b. Llena un gotero con la solución de alginato y colorante, vierte la solución, gota a gota, en el baño de cloruro de calcio para formar ~50 cápsulas. Sujeta el gotero sobre la superficie del baño de cloruro de calcio a 4 – 5mm de distancia. El alginato reaccionará con los iones de calcio para formar una cápsula parecida a gelatina. Las cápsulas que se forman deben de tener forma esférica; dejar caer las gotas desde una distancia mayor de la superficie del baño de cloruro de calcio producirá formas aplanadas.
- c. Escurre el baño de cloruro de calcio reteniendo las cápsulas de alginato. Enjuaga las cápsulas con agua. Divide las cápsulas en dos porciones (grupos).
- d. A una porción de las cápsulas de alginato enjuagadas, añádele 30mL de agua DI. Identifica estas macro cápsulas como MC1. Toma fotografías y determina el diámetro de las cápsulas.
- e. A la segunda porción de las cápsulas de alginato, añádele 5mL de la solución de ácido cítrico y quitosano. Esto provocará que se forme una cubierta de quitosano alrededor de la cápsula. Luego de 5 minutos, descarta la solución reteniendo las cápsulas y añade 30mL de agua DI. Identifica estas macro cápsulas como MC2. Toma fotografías y determina el diámetro de las cápsulas.

### ***Paso 3. Medición del ritmo de la liberación del colorante en las macro cápsulas de alginato cubiertas y no cubiertas. Esto requiere un espectrofotómetro que pueda medir absorción de luz y transmisión a través de una pequeña muestra de fluido. (OPCIONAL)***

- a. Transfiere un poco de cada tipo de las macro cápsulas suspendidas en la cubeta del espectrofotómetro.
- b. Coloca la cubeta en el pozo (hueco) del espectrofotómetro. Mide y anota la absorción de luz por la cantidad de colorante que se ha difundido hacia el exterior de las cápsulas. Esta medida inicial de absorción es la base. (Si el instrumento lo permite, anota la absorción en dos largos de onda distintos).
- c. Repite las medidas en intervalos de 10 minutos por 30 – 40 minutos. Los cambios en la absorción se deben a la liberación del colorante en las macro cápsulas. Anota la cantidad de absorción para cada tipo de macro cápsula en las Tablas 1 y 2. Grafica absorbancia versus tiempo para cada tipo de cápsula.

**Tabla 1.** Absorbancia de luz (medida de liberación de colorante) de macro cápsulas (MC1) de alginato, no cubiertas con quitosano, a través del tiempo.

<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>Absorbancia</b>
<b>0</b>	
<b>10</b>	
<b>20</b>	
<b>30</b>	
<b>40</b>	

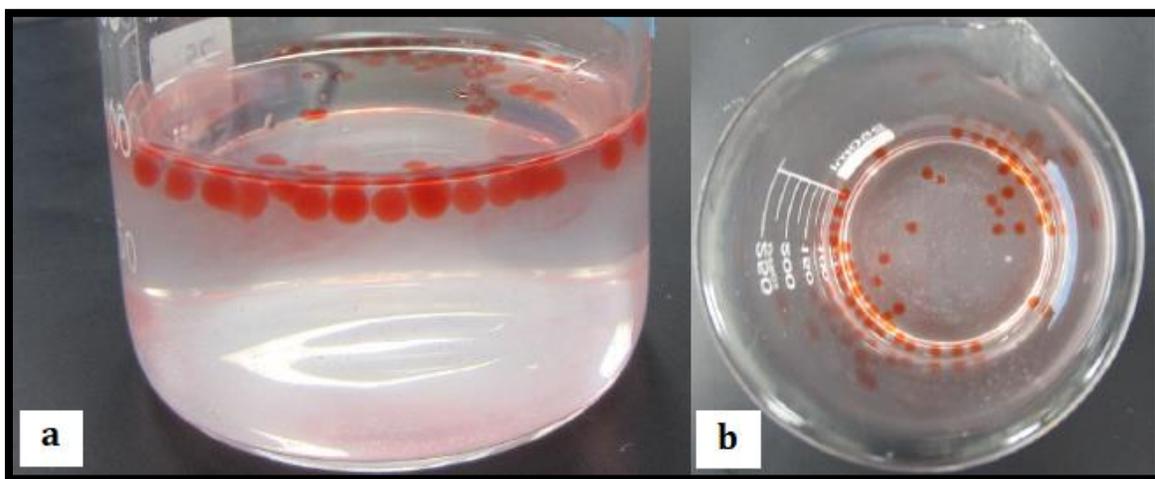
**Tabla 2.** Absorbancia de luz (medida de liberación de colorante) de macro cápsulas (MC2) de alginato, cubiertas con quitosano, a través del tiempo.

<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>Absorbancia</b>
<b>0</b>	
<b>10</b>	
<b>20</b>	
<b>30</b>	
<b>40</b>	

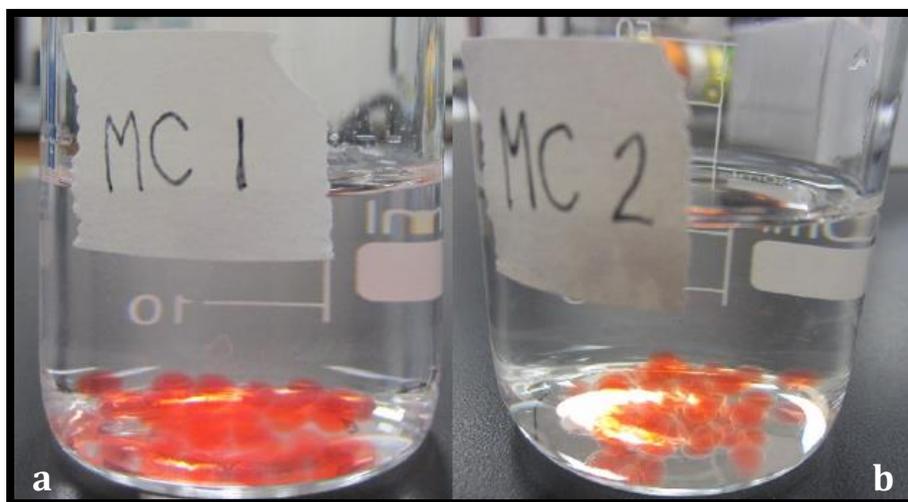
### Análisis

- Utiliza una hoja de cálculo en el programado “Excel” para construir una gráfica con los datos de absorbancia versus tiempo. Para cada tipo de macro cápsula (MC1 y MC2), determina la razón, proporción o el ritmo de liberación del colorante a través del tiempo, utilizando una regresión lineal.

## Resultados (sólo para ilustración – los resultados pueden variar)



**Figura 2.** Aproximadamente 50 macro cápsulas esféricas de alginato formadas en un baño de cloruro de calcio (a) vista lateral, (b) vista superior.



**Figura 3.** a) Aproximadamente 25 macro cápsulas de alginato no cubiertas con quitosano en 30mL de agua DI (MC1); b) Aproximadamente 25 macro cápsulas de alginato cubiertas con quitosano en 30mL de agua DI (MC2).

## Preguntas de discusión

1. ¿Qué tendencias se observan en el ritmo de liberación de colorante entre las macro cápsulas de alginato cubiertas con quitosano y las macro cápsulas de alginato no cubiertas con quitosano bajo “condiciones normales”?

*Las respuestas pueden variar.*

2. ¿Cómo se afecta la liberación de colorante con las variaciones en la temperatura, salinidad y el pH del ambiente donde se encuentran las macro cápsulas?

*Las respuestas pueden variar.*

3. Discute. ¿Por qué el alginato y el quitosano son polímeros adecuados para su encapsulación?

*Los alginatos forman un gel con una porosidad que le permite ser llenado por otra sustancia y controlar la liberación de la misma. Ambos materiales son naturales, orgánicos, biocompatibles, biodegradables y tienen baja toxicidad, lo que los hace aptos para aplicaciones en los alimentos y medicamentos.*

4. ¿Cómo este nuevo conocimiento adquirido sobre la encapsulación del colorante, mientras se estudió su liberación, puede ser aplicado a la liberación de medicamentos en los campos de la medicina, agricultura, producción de alimentos y cosméticos?

*Las respuestas pueden variar.*

### Para profundizar (requiere investigación adicional)

5. ¿Qué otros materiales podrían ser adecuados para encapsular sustancias destinadas a utilizarse con propósitos médicos o ambientales?

*Aminoácidos (poli), ácido hialurónico, albumina, dextrano y gelatina.*

6. ¿Existe actualmente un medicamento (droga/fármaco) en el mercado aprobado por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) que sea efectivo trabajando a base del concepto de encapsulación y liberación controlada?

*Las respuestas pueden variar.*

7. ¿Con qué retos los investigadores pueden encontrarse al desarrollar un fármaco nuevo que puede ser liberado bajo ambientes altamente específicos en el cuerpo (ejemplo: pH, salinidad, presión osmótica, presencia / ausencia de enzimas, etc.)?

*Las respuestas pueden variar.*

## Usos presentes y aplicaciones futuras

Actualmente, muchos productos en el mercado aprovechan la encapsulación. Las compañías de fragancias envían tarjetas publicitarias, para raspar y oler, a los clientes con una cubierta especial que contiene microcápsulas que, al aplicarle fricción, liberan el aroma del perfume. El mismo enfoque se utiliza para que los consumidores conozcan el olor del gas natural y de esta manera puedan identificar fugas en las tuberías del hogar (2). La industria de los cosméticos también utiliza encapsulación. Los filtros solares se fabrican con nano cápsulas que ayudan a reflejar la radiación UV y los labiales contienen nano cápsulas con nanopartículas de oro que intensifican el color rojo (4).

Hay mucho Investigación en curso sobre cómo las nano cápsulas pueden incorporarse a la medicina. Algunos fármacos para el cáncer contienen nano cápsulas que permiten una liberación más lenta del material de quimioterapia en el cuerpo, lo que conduce a una mejor absorción, mayor tiempo de residencia, mayor dispersión dentro del cuerpo, control sobre las condiciones de liberación, mejor selección de órganos, disminución de toxicidad e irritación (1). Sin embargo, la aplicación de nano cápsulas en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades aún se encuentra en varias etapas de los procesos para desarrollar fármacos (1).

Las aplicaciones futuras de la nano encapsulación se encuentran en diversas áreas, que incluyen la tecnología de alimentos y la liberación de fármacos. Muchas compañías de alimentos están diseñando formas de mejorar la preservación de alimentos, la administración de aditivos en los mismos, como lo son el sabor y color y así aumentar la eficiencia, el almacenamiento y la seguridad en la producción y manipulación (3). Las nano cápsulas también se están estudiando para la administración de insulina, mejorar el desarrollo y salud ósea, inmunoterapia, quimioterapia, diagnósticos y terapia génica (1).

## Recursos multimedia

### Videos

- Microencapsulación:  
[www.youtube.com/watch?v=BS7fjU9nafE](http://www.youtube.com/watch?v=BS7fjU9nafE)
- Tecnología de encapsulación y liberación programada:  
[www.youtube.com/watch?v=d3VmumaiBtl](http://www.youtube.com/watch?v=d3VmumaiBtl)

### Artículos

1. Reis, Catarina Pinto, Ronald J. Neufeld, Antonio J. Ribeiro y Francisco Veiga. "Nanoencapsulation II. Biomedical Applications and Current Status of Peptide and Protein Nanoparticle Delivery Systems." *"Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2"* (2006): 53-65. *"Science Direct"*. Recuperado el 15 de julio de 2015. Sitio web: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)
2. [www.nanosupermarket.org/nanoencapsulation](http://www.nanosupermarket.org/nanoencapsulation)
3. [www.foodnavigator.com/Science/Drug-nano-encapsulation-system-may-have-food-applications-Study](http://www.foodnavigator.com/Science/Drug-nano-encapsulation-system-may-have-food-applications-Study)
4. Wiechers, J. (2008). "Micro- and Nanoencapsulation of Water- and Oil-soluble Actives for Cosmetic and Pharmaceutical Applications". En *"Science and Applications of Skin Delivery Systems"* (1ra ed., pp. 23-46). "Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation".
5. [ijps.aizeonpublishers.net/content/2013/4/ijps303-308.pdf](http://ijps.aizeonpublishers.net/content/2013/4/ijps303-308.pdf)
6. [en.wikipedia.org/wiki/Nanocapsules](http://en.wikipedia.org/wiki/Nanocapsules)
7. [en.wikipedia.org/wiki/Micro-encapsulation](http://en.wikipedia.org/wiki/Micro-encapsulation)
8. [citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.849.9194&rep=rep1&type=pdf](http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.849.9194&rep=rep1&type=pdf)

## Reconocimientos

- Basado en una actividad de laboratorio desarrollada por el Dr. James Marti de "University of Minnesota", Minneapolis, MN. Adaptado de "Self-Assembly and Nanotechnology" por Hitesh G. Bagaria, et al, J. Chem. Educ. 2011, 88, 609-614.
- Adaptado y editado por Kyle Forgette, Instructor de Biología y Nano-biotecnología en "Dakota County Technical College", Rosemount, MN.
- Traducido al español por Rodfal A. Rodríguez y María T. Rivera de Cupey María Montessori School, San Juan, PR.