

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



## FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E INDUSTRIAL

### CENTRO DE POSGRADO

### PROGRAMA DE MAESTRÍA DE QUÍMICA, COHORTE 2019

**TEMA:** Incremento de la solubilidad de la curcumina extraída de la *Cúrcuma longa* L con mecanismos físicos y mecánicos.

**Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico Magister en Química, mención Química-Física**

**Modalidad de titulación Proyecto de Desarrollo**

**AUTOR:** Ing. Erika Vanessa Moya Castillo

**DIRECTOR:** Dr. Orestes Darío López Hernández PhD.

Ambato-Ecuador

2021

## APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

A la Unidad de Titulación/Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial. El Tribunal receptor de la Defensa del Trabajo de Titulación presidido por la Ing. Elsa Pilar Urrutia, Mg., e integrado por los señores: Noroska Gabriela Salazar Mogollón PhD & Lic. Danae Fernández Rivero MSc, designados por la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema: “Incremento de la solubilidad de la curcumina extraída de la *Cúrcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos”, elaborado y presentado por la señorita Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo, para optar por el Grado Académico de Magister en Química mención Química Física; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la Universidad Técnica de Ambato.

-----  
Ing. Elsa Pilar Urrutia Urrutia, Mg.  
Presidente y Miembro del Tribunal de Defensa

-----  
Lic. Noroska Gabriela Salazar Mogollón PhD.  
Miembro del Tribunal de Defensa

-----  
Lic. Danae Fernández Rivero MSc  
Miembro del Tribunal de Defensa

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Titulación presentado con el tema: Incremento de la solubilidad de la curcumina extraída de la *Cúrcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos, le corresponde exclusivamente a la Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo, Autora bajo la Dirección del PhD. Orestes López Hernández, Director del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

-----  
Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo

**AUTORA**

-----  
PhD. Orestes López Hernández

**DIRECTOR**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad Técnica de Ambato.

-----  
Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo

C.I. 180434365-3

**AUTORA**

# ÍNDICE GENERAL

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO .....	i
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	iii
DERECHOS DE AUTOR .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN EJECUTIVO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
CAPÍTULO I .....	1
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	1
1.1. Introducción .....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos .....	2
1.3.1. Objetivo general.....	2
1.3.2. Objetivos específicos .....	2
CAPÍTULO II: .....	4
ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	4
2.1. Descripción de la <i>Cúrcuma longa</i> L. ....	4
2.1.1. Generalidades.....	4
2.1.2. Morfología y Taxonomía .....	4
2.1.3. Zonas de Producción en Ecuador.....	5
2.1.4. Composición Química .....	6
2.1.5. Usos tradicionales .....	8
2.1.5.1. Aplicación de la industria textil .....	8
2.1.5.2. Aplicación de industria alimentaria .....	8
2.1.5.3. Aplicación farmacológica .....	9

2.2.	Propiedades biológicas de curcumina con experimentación <i>in vitro</i> .....	10
2.2.1.	Actividad antibacteriana .....	11
2.2.1.1.	Mecanismo de Acción frente a cepas de bacterias nosocomiales.....	11
2.2.2.	Actividad antiinflamatoria .....	12
2.2.2.1.	Mecanismos de acción de medicamentos antiinflamatorios.....	12
2.2.3.	Actividad citotóxica .....	12
2.2.3.1.	Propiedades antitumorales .....	12
2.2.4.	Actividad antioxidante .....	13
2.2.4.1.	Mecanismo de acción de agentes antioxidantes.....	13
2.3.	Método de extracción de curcumina a partir de <i>Cúrcuma longa</i> L.....	14
2.3.1.	Extracción sólido- líquido.....	15
2.4.	Método de cuantificación de curcumina por espectroscopía UV-Visible.....	15
2.5.	Formulación de la Nanoemulsión .....	15
2.5.1.	Emulgentes utilizados para una nanoemulsión .....	17
2.5.2.	Métodos formación de nanoemulsiones.....	17
2.5.2.1.	Métodos de Alta Energía .....	17
2.5.2.1.1.	Aplicación de presiones altas .....	18
2.5.2.1.2.	Ultrasonidos .....	18
2.5.2.2.	Método de Baja Energía.....	19
2.5.2.2.1.	Autoensamble.....	19
2.5.2.2.2.	Inversión de fases o formación espontánea.....	19
2.5.2.2.3.	Formación por membrana .....	20
2.5.2.2.4.	Desplazamiento del disolvente.....	20
2.5.3.	Aplicaciones de nanoemulsiones .....	20
CAPÍTULO III.....		22
MARCO METODOLÓGICO.....		22
3.1.	Materiales .....	22

3.2. Equipos.....	22
3.3. Reactivos .....	22
3.4. Tipo de Investigación .....	22
3.5. Metodología .....	23
3.5.1. Recolección de material vegetal .....	23
3.5.2. Preparación del extracto vegetal .....	24
Obtención de material vegetal molido .....	24
Extracto etanólico .....	24
Concentración de extractos líquidos .....	25
3.5.3. Cuantificación de curcumina a través de Espectrofotometría UV-Visible .....	25
3.5.4. Determinación de humedad de extractos líquidos .....	26
3.5.5. Formulación de Nanoemulsiones.....	26
3.5.6. Solubilización .....	28
3.5.7. Análisis Estadístico.....	29
CAPÍTULO IV .....	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	30
4.1. Resultados y Discusión .....	30
Obtención de Extractos.....	30
Determinación de Curcumina en extractos líquidos.....	31
Tiempo Óptimo.....	34
Concentración Óptima de Etanol.....	35
Nanoemulsión.....	36
Solubilización .....	42
CAPÍTULO V .....	48
5.1. Conclusiones .....	48
5.2. Recomendaciones.....	50
5.3. Bibliografía: .....	51

5.4. Anexos.....63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Zonas del Ecuador con producción de cúrcuma .....	5
<b>Tabla 2.</b> Composición nutricional de la cúrcuma .....	6
<b>Tabla 3.</b> Actividad antimicrobiana de <i>Curcuma longa</i> L. con cepas de bacterias nocosomiales .....	12
<b>Tabla 4.</b> Diseño Experimental para la obtención de extractos etanólicos.....	24
<b>Tabla 5.</b> Diseño Experimental para la formulación de la Nanoemulsión .....	27
<b>Tabla 6.</b> Diseño experimental para determinación de solubilidad de la nanoemulsión .....	28
<b>Tabla 7.</b> Sólidos solubles totales (SST) y rendimiento de los sólidos extraídos.....	30
<b>Tabla 8.</b> Porcentaje de Transmitancia de las mezclas de nanoemulsiones de curcumina.....	37
<b>Tabla 9.</b> Absorbancias de las nanoemulsiones de curcumina .....	42
<b>Tabla 10.</b> ANOVA-Curcumina .....	67
<b>Tabla 11.</b> Factores considerados en la extracción de curcumina .....	67
<b>Tabla 12.</b> ANOVA-Tiempo de extracción.....	68
<b>Tabla 13.</b> Pruebas de Múltiple Rangos de tiempo de extracción- Método: 95,0 porcentaje LSD.....	68
<b>Tabla 14.</b> Determinación de Diferencias significativas en niveles de tiempo del proceso de extracción.....	68
<b>Tabla 15.</b> ANOVA-Concentración de solvente .....	69
<b>Tabla 16.</b> Pruebas de Múltiple Rangos de concentración del solvente- Método: 95,0 porcentaje LSD .....	69
<b>Tabla 17.</b> Determinación de Diferencias significativas entre los niveles de concentración de solvente .....	69
<b>Tabla 18.</b> Factores considerados en la formulación de nanoemulsión.....	69
<b>Tabla 19.</b> Análisis de Varianza para %T 425 nm .....	70
<b>Tabla 20.</b> Niveles óptimos en la formulación de la nanoemulsión .....	70
<b>Tabla 21.</b> Factores considerados en la solubilidad de la nanoemulsión.....	71
<b>Tabla 22.</b> Análisis de Varianza para A425 nm .....	71
<b>Tabla 23.</b> Niveles óptimos en la solubilidad de la nanoemulsión.....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Planta de Cúrcuma.....	5
<b>Figura 2.</b> Síntesis de la curcumina a partir de reacciones enzimáticas .....	8
<b>Figura 3</b> Obtención de emulsión el método inversión de fases [72].....	20
<b>Figura 4.</b> Localización de la comunidad “El Capricho” .....	23
<b>Figura 5.</b> Diagrama de Pareto en la determinación de curcumina .....	32
<b>Figura 6.</b> Gráfica de efectos principales en la extracción de curcumina .....	33
<b>Figura 7.</b> Gráfico de superficie de respuesta en la determinación de curcumina .....	34
<b>Figura 8.</b> Gráfica de cajas y bigotes para tiempo óptimo del proceso .....	35
<b>Figura 9.</b> Gráfico de cajas y bigotes para concentración óptima del disolvente.....	36
<b>Figura 10.</b> Diagrama de Pareto en determinación de Transmitancia de curcumina. ....	38
<b>Figura 11.</b> Gráfica de efectos principales en la formulación de nanoemulsión. ....	39
<b>Figura 12.</b> Gráfica de interacción de factores en la nanoemulsión .....	39
<b>Figura 13.</b> Diagrama de Pareto en formulación de la nanoemulsión.....	40
<b>Figura 14.</b> Diagrama de Pareto en determinación de solubilidad de la nanoemulsión .....	44
<b>Figura 16.</b> Gráfica de interacción de factores en la nanoemulsión.....	45
<b>Figura 17.</b> Gráfica de superficie de respuesta en la solubilidad de la nanoemulsión. ....	46
<b>Figura 18.</b> Rizomas de cúrcuma pulverizados .....	63
<b>Figura 19.</b> Proceso de Extracción de curcumina en baño maría con agitación constante .....	63
<b>Figura 20.</b> Extractos etanólicos filtrados. ....	63
<b>Figura 21.</b> Almacenamiento de extractos líquidos.....	64
<b>Figura 22.</b> Determinación de humedad de los extractos líquidos de cúrcuma. ....	64
<b>Figura 23.</b> Preparación de muestras para determinación de curcumina por espectroscopía UV-Vis.....	65
<b>Figura 24.</b> Preparación de curva patrón para determinación de curcumina.....	65
<b>Figura 24.</b> Dilución de extractos líquidos para determinación de curcumina. ....	65
<b>Figura 25.</b> Preparación de Nanoemulsiones de curcumina.....	66
<b>Figura 26.</b> Dilución de las nanoemulsiones de curcumina .....	66
<b>Figura 27.</b> Muestras diluidas de la nanoemulsión de curcumina en celdas de cuarzo.....	66
<b>Figura 28.</b> Solubilización de las nanoemulsiones de curcumina .....	67

## AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la sabiduría para hacer las mejores elecciones para mi vida personal y profesional.

Un agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato, prestigiosa institución que me abrió sus puertas para continuar con mis estudios.

A mis padres y mi hermano porque con su apoyo incondicional fue posible que se cumpla mi objetivo personal.

Al Doctor Orestes López Hernández PhD. por ser mi tutor y mentor en todo mi proceso de formación académica, gracias a su paciencia, profesionalismo, dedicación y comprensión ha dejado sembrado en mi semilla de la investigación, un campo que realmente me apasiona.

Al la Empresa Andes Kinkuna S.A. por permitirme desarrollar la fase experimental final del trabajo de investigación en sus instalaciones de laboratorios.

A mis docentes Danae Fernández Rivero MSc & Gabriela Salazar Mogollón PhD, quienes con su paciencia y su tiempo realizaron significativos aportes en el presente trabajo de investigación

Expreso mi gratitud a personas importantes como Liliana Ortiz Mayorga, Paola Pérez, Marcelo Tirado y mis amigas, quienes me han acompañado en esta etapa de formación profesional.

## **DEDICATORIA**

Con mucho cariño y humildad, dedico el presente logro académico a mis padres Edgar Amado Moya Medina & María Elena Castillo Mejía porque son el pilar fundamental en mi vida, han contribuido con esfuerzo, ejemplo, pero sobre todo con mucho amor en mi formación profesional y ahora se ve recompensado en este logro que no es solo mío.

A mi hermano Juan Diego Moya Castillo, porque es mi gran amigo y confidente, nuestro cariño se ha fortalecido con el tiempo y con cada logro, porque en eso consiste la vida de hermanos, alentarnos a salir adelante en todas las metas propuestas.

A mi segundo padre, Segundo Rodrigo Moya Medina porque su ejemplo, buenos consejos y motivaciones han dejado una gran huella en mi vida

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E INDUSTRIAL**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA FÍSICA**

**TEMA:**

Incremento de la solubilidad de la curcumina extraída de la *Cúrcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos.

**AUTOR:** Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo

**DIRECTOR:** Dr. Orestes Darío López Hernández PhD.

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:** Biotecnología

**FECHA:** 02 de julio del 2021

**RESUMEN EJECUTIVO**

La baja disponibilidad de la curcumina es un factor limitante para aprovechar sus propiedades bioactivas, antiinflamatorias, antibacterianas, citotóxicas, hepatoprotectoras, antioxidantes, entre otras. Las nuevas alternativas para permitir que compuestos insolubles en medios acuosos aumenten su solubilidad a través de una nanoemulsión son propuestas eficientes porque las nanoemulsiones pueden transferir rápidamente los principios activos que poseen, característica que las hace ideales para aplicaciones industriales, farmacéuticas, biotecnológicas y alimentarias. La obtención de curcumina a partir de los rizomas de *Curcuma longa* L. fue posible con la extracción sólido-líquido, utilizando etanol como disolvente debido a su afinidad química con la curcumina (compuesto fitoquímico liposoluble). La concentración del disolvente, la relación entre la materia vegetal y el volumen del disolvente (m/v), la temperatura y el tiempo de contacto fueron los factores considerados para la extracción. Basándose en los resultados del análisis estadístico, se establecieron como condiciones óptimas: la concentración de etanol (95 %), la relación m/v (1:8), la temperatura (80 °C) y el tiempo (90 minutos), para optimizar el proceso de extracción y obtener un extracto (EMC73) con 22,72 % de curcumina. La formulación de la nanoemulsión consistió en una mezcla de extracto de curcumina con Tween 80 y aceite vegetal, proporciones establecidas según el diseño experimental propuesto, teniendo en cuenta el factor de agitación constante para que los componentes interactúen adecuadamente. La espectroscopía UV-Vis se utilizó con la finalidad de establecer la dimensión de las gotas que conforman la nanoemulsión, es así que el tratamiento que presentó

un porcentaje de transmitancia de 87,58 % con una composición de 45 % de mezcla extracto-Tween 80, 35 % de aceite vegetal y 20 % de agua, se identificó el resultado más óptimo en la formulación de la nanoemulsión porque a medida que aumenta la transmitancia de una muestra, disminuye el tamaño de las partículas en suspensión. La utilización de Tween 80 y Eumulgin CO 40 como emulsionantes no iónicos garantizó la estabilidad, solubilidad y efecto emulsionante de la nanoemulsión, considerando el Balance Hidrofílico-Lipofílico (HLB). Se midieron las absorbancias de las muestras resultantes del diseño experimental aplicado para determinar la solubilidad de la nanoemulsión, encontrándose que la combinación en proporción 1:1 de los surfactantes Tween 80 y Eumulgin CO 40, con respecto a los demás tratamientos, fue considerada óptima porque se obtuvo una absorbancia de 0,14 representando la concentración de curcumina presente en la disolución de la nanoemulsión en medio acuoso y así se verificó el incremento de la solubilidad de la curcumina.

**Palabras clave:** Absorbancia, cúrcuma, emulgente, etanol, Eumulgin CO 40. extracción, nanoemulsión, transmitancia, tensoactivos, Tween 80.

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E INDUSTRIAL**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA FÍSICA**

**INVESTIGATION TOPIC:**

Incremento de la solubilidad de la curcumina extraída de la *Curcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos.

**AUTHOR:** Ingeniera Erika Vanessa Moya Castillo

**DIRECTED BY:** Dr. Orestes Darío López Hernández PhD.

**LINE OF RESEARCH:** Biotecnología

**DATE:** July 2<sup>nd</sup>, 2021

**ABSTRACT**

The low availability of curcumin is a limiting factor to take advantage of its bioactive properties, anti-inflammatory, antibacterial, cytotoxic, hepatoprotective, antioxidant, among others. New alternatives to allow insoluble compounds in aqueous media to increase their solubility through a nanoemulsion are efficient proposals because nanoemulsions can rapidly transfer the active principles they possess, a characteristic that makes them ideal for industrial, pharmaceutical, biotechnological, and food applications. Obtaining curcumin from the rhizomes of *Curcuma longa* L. was possible with solid-liquid extraction, using ethanol as a solvent due to its chemical affinity with curcumin (liposoluble phytochemical compound). The solvent concentration, the ratio of plant matter to solvent volume (m/v), temperature, and contact time were the factors considered for the extraction. Based on the results of statistical analysis, were established as optimal conditions: ethanol concentration (95 %), m/v ratio (1:8), temperature (80 °C), and time (90 minutes), to optimize the extraction process and obtain an extract (EMC73) with 22.72 % curcumin. The nanoemulsion formulation consisted of a mixture of curcumin extract with Tween 80 and vegetable oil, proportions established according to the proposed experimental design, taking into account the constant agitation factor so that the components interact adequately. The treatment that presented the highest percentage of transmittance 87.58 % had a composition of 45 % extract-Tween 80 mixture, 35 % vegetable oil, and 20 % water, considering that as the transmittance of a sample increases, the size of the particles in suspension decreases. Tween 80 and Eumulgin CO 40 were used as non-ionic

emulsifiers to guarantee the stability, solubility, and emulsifying effect of the nanoemulsion, considering the Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB). When measuring the absorbance of the samples to test the solubility of the nanoemulsion in aqueous medium, 0.14 absorbance was obtained, which is a direct relationship of the curcumin concentration of the nanoemulsion dissolved in aqueous medium.

**Keywords:** Absorbance, emulsifier, ethanol, Eumulgin CO 40. extraction, nanoemulsion, surfactants, transmittance, turmeric, Tween 80.

# CÁPITULO I

## PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Introducción

Las plantas poseen metabolitos secundarios o compuestos bioactivos que son de gran interés para los diversos campos de la industria porque tienen múltiples beneficios con un mecanismo de acción complementario [1]. Un componente fitoquímico es producido por las plantas y se encuentra en pequeñas cantidades, debido a que no son esenciales, estos compuestos están siendo analizados en investigaciones científicas para determinar sus propiedades biológicas con la finalidad de mejorar el estado de salud de los seres humanos y reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas [2]. Estudios de investigación confirman que el consumo de vegetales y frutas incrementa la ingesta de compuestos bioactivos, especialmente de antioxidantes, lo cual se considera una estrategia muy efectiva para la prevención de enfermedades cardiovasculares y degenerativas. El mecanismo de acción de estos compuestos fitoquímicos aún no está claro, pero su efecto es el resultado de varias interacciones entre los distintos componentes así como con el organismo [3].

En el Ecuador el cultivo de la *Curcuma longa* L se localiza en la región Amazónica en el cantón Taisha por lo que se han realizado proyectos de comercialización de 142,2 kg de rizomas de cúrcuma con la finalidad de activar la economía local de la provincia de Morona Santiago [4].

En la medicina tradicional la cúrcuma es considerada como una planta energética, calorífica, amarga, astringente, antibiótico natural, tiene acción sobre todos los tejidos del cuerpo humano con buenos efectos en los sistemas respiratorio, digestivo y circulatorio [5]. La mayoría de las propiedades biológicas de la *Curcuma longa* L. se le atribuye a su componente principal, curcumina. En la industria alimentaria se usa como aromatizante, colorante; en la cosmética se aplica en la formulación de cremas porque posee grandes cualidades para el cuidado de la piel; en la biomedicina es una alternativa para el tratamiento de enfermedades degenerativas, hepáticas y afecciones cutáneas debido a la bioactividad de sus principios activos [6].

## **1.2. Justificación**

La curcumina es un compuesto fenólico de color amarillo extraído de los rizomas de la planta *Curcuma longa* L. con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, neuroprotectoras, anticancerígenas que ayudan en el tratamiento de varias patologías entre las que cabe mencionar el cáncer y Alzheimer. Sin embargo, su estructura química es de carácter lipofílico, es decir su biodisponibilidad es limitada porque es insoluble en agua y éter.

La solubilidad puede definirse en términos cuantitativos como la concentración de un soluto en una solución saturada a una cierta temperatura, mientras que en términos cualitativos se considera como la interacción espontánea de dos o más sustancias para formar una dispersión molecularmente homogénea. La solubilidad de un compuesto depende de las características del soluto y del disolvente, también de factores como la temperatura, presión, pH de la solución, además de los efectos químicos, eléctricos y estructurales que provocan las interacciones que ocurren entre los componentes de una mezcla, mientras mayor sea la interacción entre ambas especies, mayor será la solubilidad. Por lo tanto, al mezclar dos sustancias que se atraen entre sí, por acción de las fuerzas electrostáticas van a facilitar el proceso de disolución.

La nanoemulsiones son una importante alternativa para llevar a cabo funciones de protección y liberación de ingredientes fitoquímicos como nutraceuticos, antimicrobianos y antioxidantes. Entre las ventajas que ofrecen las nanoemulsiones es factible mencionar su estabilidad ante la agregación y separación gravitacional, además de la liberación del compuesto protegido en el sitio específico. Las nanoemulsiones presentan una apariencia transparente, alta solubilidad y estabilidad, por lo que brindan una excelente biodisponibilidad oral y eficacia biológica a los principios activos que se encuentran dispersos.

Debido a la baja solubilidad de la curcumina extraída de la *Curcuma longa* L en disolventes acuosos se ha visto la necesidad de la elaboración de una nanoemulsión para incrementar su solubilidad en medios acuosos, alcanzando de esta manera un mayor aprovechamiento de sus actividades biológicas en futuras formulaciones de diferente tipo como suplementos alimenticios dermatológica, productos farmacológicos, dermatológicos, entre otros.

## **1.3. Objetivos**

### ***1.3.1. Objetivo general***

- Incrementar la solubilidad de la curcumina extraída de la *Curcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos.

### ***1.3.2. Objetivos específicos***

- Optimizar el proceso de obtención de extractos de *Cúrcuma longa* L.
- Determinar la concentración de curcumina de los extractos obtenidos.
- Aplicar mecanismos físicos y mecánicos para incrementar la solubilidad de la curcumina extraída a partir de *Cúrcuma longa* L.
- Incrementar la solubilidad de la curcumina extraída de la *Cúrcuma longa* L. mediante la formulación de una nanoemulsión.

## CAPÍTULO II

### ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

#### **2.1. Descripción de la *Cúrcuma longa* L.**

##### **2.1.1. Generalidades**

La *Cúrcuma longa* L. es una planta herbácea que pertenece a la familia Zingiberaceae, tiene su origen en el continente asiático, se la incluye en el grupo de las Comelínidas, poseen paredes celulares fluorescentes bajo luz ultravioleta, esto se debe a la presencia de ácido ferúlico, cumárico y salícico en las hojas[7]. El hábitat de esta planta se localiza en el continente asiático, de manera específica en Vietnam e India, la cúrcuma es de origen tropical característico de zonas húmedas y cálidas, además se la puede encontrar en sectores de baja y alta selva. Entre las condiciones necesarias para desarrollarse puede mencionar la temperatura entre 20 y 30 °C, el cultivo puede tardar entre siete a diez meses para crecer, se recomienda que el nivel de luz debe ser relativamente alto, la composición del suelo de cultivo debe garantizar la presencia de elementos nutritivos que le permita ser fértil y con buen sistema de drenado, el pH óptimo del suelo se considera en un rango de 5-6, ligeramente ácido [8].

##### **2.1.2. Morfología y Taxonomía**

Reino: Vegetal

Clase: Angiosperma

Familia: Zingiberáceas

Género: *Cúrcuma*

Especie: *longa*

Nombre científico: *Cúrcuma longa*



**Figura 1.** Planta de Cúrcuma

La cúrcuma es una planta herbácea que puede llegar a tener una altura de 1 metro, se caracteriza por presentar hojas perennes con flores de color amarillo [9], además tiene raíces o tubérculos oblongo-palmeados de color marrón por fuera y naranja en el interior, comúnmente llamados rizomas con alto contenido de metabolitos polifenólicos por lo que son útiles para propósitos medicinales y culinarios. La cúrcuma se emplea en la industria como colorante, conservante y saborizante [10]. La cosecha de los tubérculos que miden de 8 a 5 centímetros se realiza después de diez meses de haber sido plantados.

### **2.1.3. Zonas de Producción en Ecuador**

Las condiciones ambientales de Ecuador, son óptimas para el desarrollo de un cultivo de cúrcuma, se han identificado varias zonas del país en donde tiene una producción significativa, de preferencia en regiones tropicales, húmedas y subtropicales como se detalla en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Zonas del Ecuador con producción de cúrcuma

Zona	Atura (m.s.n.m.)	Condiciones de temperatura (°C)
<b>Santo Domingo de los Colorados</b>	660	24,00
<b>La Concordia</b>	300	24,00
<b>Tena</b>	527	23,00
<b>Zamora</b>	900	21,40
<b>Caluma</b>	250	22,90

**Fuente:** Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología [9].

### 2.1.4. Composición Química

Se han realizado varios análisis a la cúrcuma para determinar los componentes presentes en su estructura, con lo cual determinaron la presencia de minerales (calcio, potasio y sodio), vitaminas (E, C) y ácidos grasos. A continuación se detalla en la Tabla 2 la composición nutricional completa de la cúrcuma.

**Tabla 2.** Composición nutricional de la cúrcuma

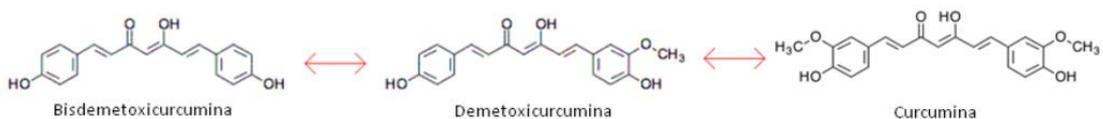
<b>Elemento</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor por 100 g</b>	<b>Valor por 3 g</b>
<b>Nutrientes</b>			
<b>Agua</b>	g	12,850	0,390
<b>Energía</b>	kcal	3120,000	9,000
<b>Proteína</b>	g	9,680	0,290
<b>Lípidos Totales</b>	g	3,250	0,100
<b>Carbohidratos</b>	g	67,170	2,010
<b>Fibra dietética total</b>	g	22,700	0,700
<b>Azúcares totales</b>	g	3,210	0,100
<b>Minerales</b>			
<b>Calcio</b>	mg	168,000	5,000
<b>Hierro</b>	mg	55,000	1,650
<b>Magnesio</b>	mg	208,000	6,000
<b>Fósforo</b>	mg	299,000	9,000
<b>Potasio</b>	mg	2080,000	62,000
<b>Sodio</b>	mg	27,000	1,000
<b>Zinc</b>	mg	4,500	0,140
<b>Vitaminas</b>			
<b>Vitamina C</b>	mg	0,700	0,000
<b>Tiamina</b>	mg	0,058	0,002
<b>Riboflavina</b>	mg	0,150	0,004
<b>Niacina</b>	mg	1,350	0,041
<b>Vitamina B-6</b>	mg	0,107	0,003
<b>Folato, DFE</b>	µg	20,00	1,000
<b>Vitamina B-12</b>	µg	0,000	0,000

<b>Vitamina A, RAE</b>	μg	0,000	0,000
<b>Vitamina A, IU</b>	IU	0,000	0,000
<b>Vitamina E (alfa-tocoferol)</b>	mg	4,430	0,130
<b>Vitamina D(D2+D3)</b>	μg	0,000	0,000
<b>Vitamina D</b>	IU	0,000	0,000
<b>Vitamina K (Filoquinona)</b>	μg	13,400	0,400
<b>Lípidos</b>			
<b>Ácidos grasos saturados totales</b>	g	1,838	0,055
<b>Ácidos grasos monoinsaturados totales</b>	g	0,449	0,013
<b>Ácidos grasos poliinsaturados totales</b>	g	0,756	0,023
<b>Ácidos grasos trans totales</b>	g	0,056	0,002

**Fuente:** National Nutriente Database for Standard Reference [11].

La composición química de la cúrcuma presenta compuestos volátiles como el cariofileno, sesquifelandrendreno, arcumeno, bisaboeno, zingibereno [12] y turmeronas [13] y elementos fitoquímicos no volátiles como los polifenoles y la turmerina, este último péptido tiene la característica de ser soluble en agua [14].

Los polifenoles curcuminoides presentes en la cúrcuma son: la curcumina, la demetoxicurcumina, la bisdemetoxicurcumina y la más recientemente descubierta ciclocurcumina [15]. La curcumina 1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, es un compuesto fenólico con fórmula química (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>) tiene un peso molecular bajo (369,37 g/mol), su punto de fusión es 183 °C, su solubilidad es baja en agua y éter, por lo que es necesaria la utilización de disolventes orgánicos como el hexano, metanol, etanol, y acetona [16]. Se localiza en la familia de los diarilheptanoides, es decir posee grupos arilo, hidroxilo u oxo sustituidos, unidos entre sí a través de una cadena de 7 átomos de carbono que le confiere una función 1,3-dicarbonílica y diversas insaturaciones [17]. El mecanismo del que deriva la curcumina empieza con la demetoxicurcumina mediante un catalizador enzimático O-metiltransferasa y bisdemetoxicurcumina con la intervención de una hidrolasa. En la siguiente Figura 2 se muestran las estructuras de los compuestos que están presentes en los rizomas secos de *Cúrcuma longa* L. específicamente bisdemetoxicurcumina, demetoxicurcumina y curcumina que son responsables del olor característico de la cúrcuma.



**Figura 2.** Síntesis de la curcumina a partir de reacciones enzimáticas

**Fuente:** GenomeNet [18]

Los compuestos volátiles presentes en la cúrcuma son terpenoides, éstos proveen el olor característico al rizoma, además tiene sesquiterpenos cetónicos tales como zingibereno, ar-tumerona, isómeros ( $\beta$ -turmerona y  $\alpha$ -turmerona), bisaboleno, cariofileno,  $\alpha$ - curcumeno y  $\beta$ -sesquifelandrenendro que son partículas con alta bioactividad antioxidante [19].

### 2.1.5. Usos tradicionales

#### 2.1.5.1. Aplicación de la industria textil

Los colorantes naturales se producen a partir de fuentes naturales como las distintas partes de la planta. La utilización de colores y tintes de origen natural, ha sido una alternativa para la industria textil, de tal manera que se disminuya el consumo de colorantes químicos y sintéticos que resultan ser tóxicos y generan una contaminación ambiental severa, principalmente en los efluentes. La extracción de tintes de origen natural además de ser una propuesta ecológica, también es inofensiva y no causa efectos colaterales al medio ambiente. Varios países utilizan la cúrcuma como colorante natural, así es el caso de la India en donde el sol brilla aproximadamente durante 14 horas diarias, por lo cual utilizan la energía solar para teñir las telas de seda con el colorante mencionado, se considera que dicha técnica es económica y eco amigable [20]. Productos textiles como la tela 100 % algodón, lana, seda, cuero, papel han sido teñidas con tinte vegetal de cúrcuma con resultados exitosos ya que es un producto directo, es decir, tiene gran afinidad con la fibra textil [21].

#### 2.1.5.2. Aplicación de industria alimentaria

La seguridad del consumo de colorantes en productos de alimentos es de interés mundial por lo cual se han desarrollado varias investigaciones para la síntesis de colorantes naturales y potenciar sus beneficios [22]. Trabajos de investigación afirman que las propiedades de *Cúrcuma longa* L. son de gran importancia para la industria en la conservación de alimentos

pues preserva la frescura y da un sabor característico, además de atenuar afecciones estomacales [23]. La cúrcuma se identifica como E-100 en la industria de alimentos, porque se emplea como colorante por su característica anaranjada, debido a la presencia de elementos fenólicos que a su vez aromatizan y proveen de color a diversos productos como la mostaza, algunas conservas, quesos, cereales, sopas y productos lácteos [24]. Se recomienda que la ingesta de dicho compuesto se mantenga en un rango máximo de a 100 mg de curcumina/kg de peso en productos líquidos y 300 mg de curcumina/kg de peso en sustancias sólidas, por lo que la FDA (Food and Drug Administration) considera que la curcumina es un colorante y saborizante seguro para la elaboración de alimentos. La extracción de la oleorresina, se realiza a partir de los rizomas secos y molidos de la cúrcuma junto con la interacción de solventes orgánicos como la acetona, etanol, metanol, diclorometano que permiten obtener un producto de característica densa y aceitosa, pastosa o semisólida, con una composición entre el 35 y 55 % de curcuminoides y el 25 % de compuestos volátiles, el almacenamiento de la oleorresina de ser en un lugar con ambiente seco y frío, tomando en cuenta temperaturas entre 15-20 °C, evitando la exposición al aire, luz y calor [8].

### **2.1.5.3. Aplicación farmacológica**

En la medicina ancestral, la curcumina se emplea para tratamiento trastornos hepáticos, diabetes, reumatismos, hinchazón, esguinces, dolores estomacales; afecciones respiratorias como la alergia, el asma, la hiperactividad bronquial, sinusitis, tos [25].

El Comité de Productos Medicinales Herbales en el 2009, incluyó a la cúrcuma como producto apropiado para uso medicinal debido a sus diversas propiedades biomédicas entre las que se pueden mencionar beneficios antiinflamatorios, calma el malestar digestivo, además se emplea como alternativa medicinal cicatrizante. En la composición de la cúrcuma, los curcuminoides son los que proveen estas cualidades bioactivas. El uso medicinal puede darse a partir del polvo de cúrcuma seca y molida en una infusión con agua, o por el método de extracción con disolvente etanólico al 70-96 % [26].

Se han realizado varias investigaciones científicas que han permitido comprobar las propiedades biológicas de la Cúrcuma en el tratamiento de la artritis, actúa reduciendo la inflamación, adicionalmente se ha analizado su uso en la prevención de la arterioesclerosis, protección hepática, además resulta su gran interés como agente anticancerígeno [8]. En la medicina tradicional la cúrcuma tiene una función protectora nivel del hígado y como tratamiento de la ictericia, debido a que la composición de la cúrcuma aumenta la cantidad de glutatión y la acción glutatión -s-transferasa en dicho órgano, las sustancias mencionadas tienen

efectos protectores ante los efectos dañinos de radicales libres y toxinas [8]. Una de las propiedades bioactivas de la curcumina, es el poder antioxidante que incide directamente en la expresión de enzimas como el citocromo P450 oxidasa y la glutatión-sintasa (GTS) que están relacionadas con procesos que neutralizan los radicales libres. La capacidad antiinflamatoria de la curcumina actúa evitando la síntesis de prostaglandinas inflamatorias, con esa información como base se han realizado diversas investigaciones científicas en las que se han obtenido resultados eficientes en la reducción de niveles inflamatorios en artritis reumatoide sin provocar consecuencias adversas [27].

La actividad biológica citotóxica se debe a la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), la cual es responsable del proceso de inflamación con incidencia en la generación de diferentes tipos de cáncer. El trabajo de investigación realizado por Taylor y Leonard en el 2011, determinaron la capacidad antiinflamatoria de la curcumina como tratamiento para la reducción del crecimiento celular con la finalidad de impedir la expresión del factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNG- $\alpha$ ) y de interleukinas IL-1 $\beta$ , IL-6. La función de la curcumina a nivel gastrointestinal permite el aumento de la mucosa y protección de paredes del estómago, además de estimula la digestión de alimentos ricos en grasa, esto se debe a que impide que ciertos factores de transcripción causen una inflamación a nivel intestinal como por ejemplo el factor  $\beta$ -catequina o factor nuclear Kappa- $\beta$  [28].

El Alzheimer es una enfermedad de demencia que se caracterizan en la población de personas de la tercera edad, afecta al cerebro de manera especial en la memoria, pensamiento y lenguaje. Estudios realizados por Witkin & Li en el 2013 determinaron que la curcumina evita la acumulación de placas beta-amiloide que están relacionadas con la enfermedad antes mencionada, además estudios *in vivo* demostraron la eficacia de la curcumina en la disminución del estrés, provocando una notable mejora en la ansiedad e irritabilidad, modifica la señal celular en los mecanismos de neurotransmisión [29].

## **2.2. Propiedades biológicas de curcumina con experimentación *in vitro***

La curcumina tiene gran importancia farmacológica por sus múltiples propiedades que le permite actuar sobre diversas patologías. Se han realizado varias investigaciones de la curcumina que han aportado con determinación de su actividad biológica con más de treinta proteínas, entre las cuales cabe mencionar la ADN polimerasa, lipoxigenasa (LOX), tubulina, o el factor nuclear-kappa B (NF- $\kappa$ B) [30]. Los complejos formados mediante su unión a iones metálicos divalentes de Fe, Cu, Mn y Zn han mostrado también un alto potencial terapéutico.

La curcumina tiene múltiples actividades biológicas: antiinflamatoria, antioxidante, quimiopreventiva, anticancerígena y también como protector del sistema nervioso [31]. La propiedad antiinflamatoria directamente se debe a la inhibición de la unión del factor de transcripción NF-kB al ADN, como consecuencia se reduce la concentración de citoquinas pro-inflamatorias. Los derivados carboxílicos de la curcumina, son excelentes agentes antioxidantes, actuando directamente sobre los radicales libres [32]. En cuanto a la actividad protectora del sistema nervioso y anticancerígena, la curcumina interviene en el ciclo celular causando la apoptosis de las células carcinogénicas [33]. Adicionalmente cabe mencionar que estudios recientes han determinado actividad frente al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), actúa directamente sobre las proteínas VIH-1 IN y VIH-1 PR, responsables de propagar el ciclo de vida de virus, uniéndose a ellas y provocando su inhibición [34].

### **2.2.1. Actividad antibacteriana**

#### **2.2.1.1. Mecanismo de acción frente a cepas de bacterias nosocomiales**

Una investigación *in vitro* realizada por Álvarez, Angulo & Contreras sobre la actividad antimicrobiana del extracto etanólico y aceite esencial del *Curcuma longa* L. comprobó el efecto de la curcumina para contrarrestar el crecimiento de bacterias nosocomiales. La preparación de los ensayos de laboratorio se llevó a cabo con una formulación específica para determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico y del aceite esencial por el método de microdilución, para lo cual fue necesario obtener varias diluciones a distintas concentraciones (100, 500 y 100 ppm) para colocar un volumen de 100 µL de cada dilución junto con 10 µL de suspensión bacteriana en una microplaca de 96 pocillos. Posteriormente se mantuvo en incubación por un tiempo de 24 horas y la determinación de la propagación bacteriana se realizó con medición de la densidad óptica con una longitud de onda de 630 nm. Adicionalmente para evaluar la bioactividad antimicrobiana se calculó el porcentaje de disminución de crecimiento de microorganismos que ha sido propuesto por Sandasi, Leonard & Viljoen en el 2010. Los resultados obtenidos fueron efectivos en la reducción del crecimiento bacteriano de manera directamente proporcional con la concentración del extracto etanólico y del aceite esencial, en la Tabla 3 se muestra el registro de la bioactividad antimicrobiana de *Curcuma longa* L. frente a varias cepas nosocomiales.

**Tabla 3.** Actividad antimicrobiana de *Cúrcuma longa* L. con cepas de bacterias nosocomiales

Bacterias	Código	Extracto etanólico				
		C. crec.	100 ppm	500 ppm	1 000 ppm	C. est.
<i>E. coli</i>	Ec (AI)	0.675±0.069	0.453±0.011	0.442±0.005	0.422±0.021	0.252±0.012
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	Kp ATCC 700603	0.668±0.030	0.438±0.010	0.419±0.020	0.416±0.008	0.264±0.007
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Pa ATCC 27853	0.603±0.023	0.589±0.059	0.587±0.045	0.545±0.050	0.252±0.014
<i>P. aeruginosa</i>	Pa (AI)	0.559±0.021	0.555±0.013	0.548±0.029	0.498±0.029	0.300±0.035
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Sa ATCC 25923	0.518±0.006	0.484±0.052	0.456±0.019	0.405±0.021	0.252±0.007
<i>K. pneumoniae</i>	Kp (AI)	0.571±0.040	0.471±0.014	0.457±0.001	0.451±0.005	0.276±0.009
Aceite esencial						
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	Sa ATCC 43300	0.659±0.062	0.556±0.027	0.553±0.007	0.517±0.006	0.233±0.004
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Sa ATCC 25923	0.879±0.078	0.656±0.046	0.630±0.025	0.618±0.030	0.269±0.008
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Sa ATCC 29213	0.692±0.052	0.674±0.086	0.625±0.030	0.591±0.058	0.334±0.089
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ec ATCC 25922	0.867±0.029	0.848±0.013	0.787±0.033	0.737±0.010	0.252±0.009
<i>E. coli</i>	Ec (AII)	1.095±0.025	1.103±0.007	1.019±0.020	0.909±0.098	0.254±0.005
<i>E. coli</i>	Ec (AI)	0.675±0.069	0.654±0.016	0.649±0.051	0.597±0.017	0.252±0.009
<i>Proteus</i> sp.	Proteus (AI)	1.028±0.014	0.923±0.036	0.875±0.019	0.817±0.031	0.269±0.005
<i>Bacillus</i> sp.	B (AI)	0.818±0.027	0.637±0.044	0.582±0.052	0.504±0.100	0.252±0.009
<i>K. pneumoniae</i>	Kp (AI)	0.975±0.015	0.926±0.016	0.804±0.039	0.668±0.036	0.263±0.014
<i>K. pneumoniae</i>	Kp (AII)	1.113±0.011	1.109±0.027	1.105±0.039	0.786±0.125	0.264±0.005
<i>Salmonella</i> sp.	S (AI)	0.953±0.036	0.929±0.021	0.900±0.045	0.897±0.014	0.267±0.009
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Pa ATCC 27853	1.291±0.150	1.246±0.067	1.118±0.141	1.006±0.056	0.249±0.002

Fuente: Méndez Nelson, Angulo Alberto, Contreras Orfa [35].

## 2.2.2. Actividad antiinflamatoria

### 2.2.2.1. Mecanismos de acción de medicamentos antiinflamatorios

La actividad antiinflamatoria de la cúrcuma, se determinó mediante ensayos de laboratorio realizado por Clapé & Alfonso, lo que permitió concluir que los principios activos de los extractos de *Curcuma longa* L. actúan en enfermedades como la artritis reumatoidea y la osteoartritis, los principales compuestos que permiten que la cúrcuma tenga propiedad antiinflamatoria son la curcumina, cetonas sesquiterpénicas específicamente las turmeronas y los polisacáridos que forman parte de la composición química del rizoma de cúrcuma.

## 2.2.3. Actividad citotóxica

### 2.2.3.1. Propiedades antitumorales

La curcumina tiene la cualidad inhibir de manera específica ciertos componentes en las vías de señalización en el mecanismo de carcinogénesis como la modulación de moléculas transcripcionales, citoquinas, quinasas, factores de crecimiento y algunas enzimas. La estructura química de dicho polifenol tiene afinidad de interactuar con proteínas que forman

parte de la regulación epigenética, afectando directamente sobre su actividad y expresión, ya que las proteínas anteriormente mencionadas son las encargadas de las modificaciones anormales en la molécula de ADN como la hipermetilación en lugares determinados dentro de la estructura del ADN [36]. Además la curcumina disminuye la acetilación de las histonas (H3 y H4) que cumplen un rol importante en la modulación de expresión genética [37].

La bioactividad anticancerígena o quimiopreventiva ha sido comprobada mediante ensayos de laboratorio frente a distintos cánceres entre los que se puede incluir melanomas, leucemia, gastrointestinales, pulmón, hígado, páncreas, etc [38]. La apoptosis ocasionada en las células cancerígenas de pulmón (PC-9) tiene un efecto que causa daño a nivel de ADN para evitar el crecimiento y proliferación celular, en el cual el mecanismo de acción de la curcumina es aumentar la expresión del gen efector de la proteína de supresión tumoral P53 (GADD45), además suprime el crecimiento celular de las células PC-9 y así detener el ciclo celular G1/S, por lo tanto, se genera la apoptosis. También provoca la expresión de la ciclina que depende de los genes inhibidores de la quinasa p21 y p27, además, de manera simultánea se evita la expresión de genes ciclina-D1, CDK2, CDK4, CDK6, Bcl-2, que se relacionan con el aumento de la concentración de GADD45 y GADD153, por lo tanto la actividad anticancerígena de la curcumina se puede aplicar como alternativa para el tratamiento de cáncer de pulmón [39].

En las células prostáticas, es factible emplear la curcumina como una opción quimiopreventiva para el cáncer de próstata debido a su mecanismos de acción que se logra explicar con el aumento de la expresión de la kinasa fosfatasa-5 y de manera simultánea la reducción de factor nuclear kappa-b (NF $\kappa$ B)p38-dependiente que es impulsado por las citoquinas, de manera específica la interleukina-8 (IL-8), ciclooxigenasas-2 (COX-2), interleukina-6 (IL-6) [40].

#### **2.2.4. Actividad antioxidante**

##### **2.2.4.1. Mecanismo de acción de agentes antioxidantes**

Estudios científicos han determinado que la cúrcuma posee alto contenido de compuestos antioxidantes que evitan el daño provocado por los radicales libres, de manera especial actúa con beneficios inmunomoduladores, citoprotectores, hepatoprotectores, gracias al principio activo curcumina. El arsénico es un contaminante que se encuentra distribuido en el medio ambiente y su consecuencia a nivel fisiológico es la generación de radicales libres que provocan un desequilibrio e incluso si estas especies reactivas de oxígeno se encuentran en concentraciones elevadas ocasionan vasculopatías, enfermedades neurodegenerativas, cáncer, disfunción inmune, diabetes mellitus [41] por lo tanto, la curcumina neutraliza la acción de

éstas moléculas con la reducción de peroxidación lipídica. Simultáneamente incrementa la concentración de enzimas de detoxificación como glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa; además con el aumento de la polimerasa, permite la reparación del ADN. Se comprobó que la cúrcuma también impide la elevación de la glucosa, urea sérica, triglicéridos, lo cual le convierte en un alternativa de fácil accesibilidad para el tratamiento sobre los efectos nocivos del arsénico [42].

A nivel testicular la curcumina actúa como quimioprotector porque disminuye el estrés oxidativo provocado por di-n-butiltalato, concluyéndose que es adecuado para reducir el riesgo de toxicidad en el sistema reproductor [43].

La utilización del microondas para calentar comidas que se encuentran en recipientes desechables es un alto riesgo para la salud, pues se induce a la producción de un compuesto carcinógeno en células hepáticas, entonces la utilización de la curcumina reduce la generación de radicales libres, micronúcleos y además tiene alto poder citotóxico en las células Hep G2, dicha actividad depende de la concentración de peróxido de hidrógeno y de un mecanismo antioxidante específico para contrarrestar los efectos genotóxicos de la archilamida [44].

Los investigadores Kheradpezhohu y sus colaboradores realizaron un análisis *in vitro* sobre la reducción de los efectos a nivel hepático que causa el acetaminofen, en presencia extractos con alta concentración de curcumina dando lugar a una cinética química dosis-dependiente con el objetivo de reducir ciertos parámetros de oxidación como el malondialdehído, glutatión peroxidasa y catalasa, por lo tanto, la curcumina en combinación con N-acetilcisteína pueden servir de tratamiento frente a una sobredosis de acetaminofen [45].

La terapia antienvjecimiento también es una aplicación de la curcumina por sus propiedades antioxidantes, debido a que la curcumina impulsa la respuesta al estrés oxidativo en los fibroblastos que conforman la piel, mediante el mecanismo de la ruta fosfatidil inositol-3-quinasa/Akt, como resultado es la estimulación de defensas con capacidad antioxidante a nivel celular [46].

### **2.3.Método de extracción de curcumina a partir de *Cúrcuma longa* L.**

Existen varios métodos propuestos para la extracción de metabolitos vegetales, sin embargo, la presente investigación ha considerado el método de extracción de sólido-líquido porque permite extracción de elementos solubles de una matriz vegetal con la utilización de un solvente con afinidad química, además la técnica es rápida y de fácil acceso.

### **2.3.1. Extracción sólido- líquido**

Las plantas poseen elementos fitoquímicos de interés por su actividad biomédica, por lo tanto, resulta importante mencionar que la obtención los compuestos a partir de la materia prima se realiza por distintos mecanismos físicos y químicos. La extracción sólido-líquido, comprende la interacción entre la materia prima está en estado sólido previamente preparada para el procedimiento y la aplicación de un disolvente líquido, para lo cual es imprescindible investigar la afinidad química del principio activo de interés con el solvente a utilizar para que su extracción tenga alto rendimiento. Además, es importante tomar en cuenta el factor temperatura durante el proceso de decocción con la finalidad de evitar la descomposición química de los elementos fitoquímicos. Investigaciones que se han realizado previamente confirman que la extracción sólido- líquido asistida por decocción de los rizomas de la planta, tiene alto rendimiento con contenido de curcumina que ha sido determinado por análisis cuantitativos y cualitativos de laboratorio [47] .

### **2.4. Método de cuantificación de curcumina por espectroscopía UV-Visible**

El análisis que se realiza utilizando espectroscopía UV-Visible se fundamenta en la proporción de radiación electromagnética que una muestra puede transmitir o absorber en rango UV-Vis. La espectroscopía establece el cambio de nivel energético desde un estado basal de superior energía y compone una técnica complementaria a la espectroscopía de fluorescencia. El rango de longitudes de onda que corresponden a la región UV-Vis está entre 195-450 nm, en el rango se pueden identificar grupos funcionales que poseen en su estructura al menos un doble enlace, compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, grupos carbonilos entre otros [48]. En la región visible del espectro es factible distinguir el color de la muestra que corresponde a la longitud de onda que transmite, más no que absorbe. El color que absorbe es complementario al que transmite, por lo tanto, para efectuar las mediciones respectivas a la absorción, se debe tomar en cuenta el rango de longitud de onda en la que absorbe la luz la muestra [49].

La curcumina es un compuesto cromóforo responsable del característico color amarillo de los rizomas de la planta, el rango del espectro para la absorción de luz se considera entre 400-550 nm [50].

### **2.5. Formulación de la Nanoemulsión**

La biodisponibilidad de la curcumina es restringida por su baja solubilidad en medio acuoso y su acelerado metabolismo mediante glucuronidación hepática y sulfatación [51]. Las formas nanométricas de presentación como las nanoemulsiones ofrecen un gran potencial para

administrar altas concentraciones de componentes bioactivos solubles en aceite en una amplia línea de productos alimentarios [52]. Las gotas de una nanoemulsión tienen un radio inferior a 100 nm que depende de la composición del sistema y del método de homogenización del mismo [53]. La mayoría de las emulsiones tienen tres regiones que poseen propiedades fisicoquímicas específicas: el interior de las gotículas, la fase continua y la interfase. Las moléculas en una emulsión se distribuyen entre estas tres regiones en función de su concentración y polaridad [54]. Las moléculas no polares tienden a ubicarse principalmente en la fase oleosa, las moléculas polares en la fase acuosa, y las moléculas anfifílicas en la interfase. Una característica particular de las nanoemulsiones es su estabilidad cinética [55]. Para hacer una emulsión estable de forma reproducible, un gran número de factores deben ser controlados. Estos incluyen la selección de una composición apropiada, el control de la orden de adición de los componentes y la aplicación de la fuerza cortante para que se rompan de manera efectiva las gotas. Hay varios requisitos adicionales para la elaboración de nanoemulsiones [56]. La fase oleosa, usada para preparar nanoemulsiones puede estar formulada por varios componentes no polares, incluyendo triacilglicéridos, diacilglicéridos, monoacilglicéridos, ácidos grasos libres, aceites saborizantes, esenciales y minerales, ceras, sustitutos de grasas, vitaminas liposolubles y varios nutraceuticos lipofílicos (por ejemplo, carotenoides, curcumina, fitoesteroles, fitoestanoles, coenzima Q, etc.) [57]. La formación, estabilidad y propiedades de las nanoemulsiones a menudo dependen del conjunto de las características fisicoquímicas de la fase oleosa, como la polaridad, solubilidad en agua, tensión interfasal, índice de refracción, viscosidad, densidad y estabilidad química [58]. Por otra parte, la fase acuosa utilizada para preparar una emulsión comúnmente está formada por agua, pero también puede contener una variedad de otros componentes polares, incluyendo co-disolventes (alcoholes o polioles), carbohidratos, proteínas, minerales, ácidos y bases. El tipo y concentración de estos componentes determinan la polaridad, tensión interfacial, índice de refracción, reología, densidad, comportamiento de las fases, pH y fuerza iónica de la fase acuosa que, en conjunto, impactarán sobre la formación, estabilidad y las propiedades fisicoquímicas de la nanoemulsión producida [53].

Es indispensable agregar varios tipos de estabilizadores a las nanoemulsiones para mejorar su estabilidad a largo plazo. Al formar nanoemulsiones es necesario que la fase continua tenga un significativo exceso de tensoactivo que disminuya la tensión en la interfase, con la finalidad de crear nuevas áreas de superficie de las gotas en nanoescala, para ser rápidamente cubiertas

durante la emulsificación, logrando así inhibir la coalescencia inducida por el cizallamiento [59].

### ***2.5.1. Emulgentes utilizados para una nanoemulsión***

Los emulgentes empleados en la formulación de la nanoemulsión pueden ser de origen natural o sintético y cumplen la función de estabilizarla por un largo período, la principal propiedad que deben poseer los emulgentes es la capacidad de absorción rápida en la fase dispersa evitando la ruptura durante la colisión entre dos gotas, con la finalidad de evitar la coalescencia. Además, otro factor importante es la solubilidad en la fase continua, lo cual facilita el efecto emulsificante en la mezcla en altas y bajas concentraciones [60].

Es importante la utilización de los emulgentes para garantizar estabilidad de las nanoemulsiones, de tal manera que el tamaño de la gota no aumente, debido a que la mayoría de los emulgentes empleados poseen alto peso molecular por ser polímeros de gran tamaño. En una investigación realizada por Mao y sus colaboradores en el 2009 sobre la utilización de distintos emulgentes de gran peso molecular en la preparación de nanoemulsiones de  $\beta$ -caroteno empleando la técnica de homogenización tomando en cuenta el factor presión, entre los emulgentes que se aplicaron se mencionan monolaurato de decaglicerol, Tween 20, octenil succinato de almidón, mezcla de aislado de proteína de suero después de un análisis se determinó que el Tween 20 y el monolaurato de decaglicerol presentaron la producción de gotas de bajo tamaño y la reducción de la tensión interfacial, lo cual permitió que las gotas se incorporen fácilmente [61].

### ***2.5.2. Métodos formación de nanoemulsiones***

La mezcla entre un elemento acuoso y un compuesto lipídico, no puede generarse de forma espontánea, por lo cual es indispensable aplicar energía para que se lleve a cabo la unión entre los mencionados compuestos [62]. Los métodos involucrados en la formación de una nanoemulsión pueden ser de baja o alta energía

#### **2.5.2.1. Métodos de Alta Energía**

Las nanoemulsiones que se obtienen aplicando mecanismos de alta energía, que garantizan que la energía aplicada al sistema permite mantener su estabilidad en presencia de ciertos elementos que modifiquen su composición. Los procesos mecánicos se fundamentan en la utilización de dispositivos específicos que ocasionan fuerzas disruptivas para alcanzar el fraccionamiento de las fases macroscópicas, el uso de estas técnicas permite alta eficiencia en la formación de nanoemulsiones, considerando el tamaño de las gotas en la fase dispersa. Las técnicas con

aplicación de alta energía para la producción de nanoemulsiones son agitación con altas velocidades, aplicación de presiones altas y ultrasonidos [63].

#### ***2.5.2.1.1. Aplicación de presiones altas***

El método de homogenización por altas presiones (HAP) permite obtener nanoemulsiones con alto rendimiento, se conoce también como microfluidización, debido a la presión que se le aporta al fluido con un valor aproximado a 300 MPa cuando pasa por una válvula, lo que permite la disminución del tamaño de la gota que contiene la nanoemulsión. Donsi, Senatore, Huang y Ferrari (2010) utilizaron un emulgente nuevo a partir de chícharo, en el que se obtuvieron nanoemulsiones estables y con el tamaño de las gotas de 100 nm dentro de los parámetros de una nanoescala utilizando altas presiones comprendidas entre 200 y 300 MPa [64]. La homogeneización presenta algunos factores que afectan en el tamaño de las gotas en las nanoemulsiones, por ende, en la estabilidad a largo plazo de la emulsión, entre las principales causas se mencionan la presión suministrada y el número de pases [65].

#### ***2.5.2.1.2. Ultrasonidos***

Técnicas por ultrasonidos, han sido empleada hace más de 50 años, debido a que permiten que se produzca el efecto de cavitación, que se refiere al proceso hidrodinámico que da lugar a la creación de las nanoemulsiones. Los cambios físicos y químicos en la composición de una mezcla son generados a través de las ondas de ultrasonido comprendidas entre 20 a 100 kHz. Una superficie plana tiene vibraciones con una respectiva amplitud y frecuencia, provocando ondas longitudinales que se propagan en medios líquidos o gaseosos. La generación del desplazamiento de las partículas del medio da paso al proceso de cavitación acústica como consecuencia de las compresiones y refracciones bajo presión fluctuante. Las gotas de emulsión tienen un tamaño considerado dentro de la nano escala, es posible obtenerlas mediante cavitación, pues comprende la generación y colapso de cavidades de vapor en un fluido líquido, dando lugar a la formación de ondas de choque que se difunden en la disolución, por ende, causan la ruptura del líquido disperso [66].

En varios trabajos de investigación se ha analizado que los factores que permiten evaluar una nanoemulsión al aplicar ultrasonido son: el tratamiento, la frecuencia y la potencia. La potencia empleada en este método debe ser baja y la frecuencia se considera en un rango óptimo de 20 a 24 kHz para tener una efectividad en la formación de nanoemulsiones. Además del tipo de tratamiento aplicado en la nanoemulsión, se debe tomar en cuenta el tiempo de ejecución, ya

que se ha comprobado que mientras más largo es el periodo de aplicación del tratamiento, se obtienen gotas de tamaño nano escala [67].

### **2.5.2.2. Método de Baja Energía**

Los métodos que requieren una baja energía para la obtención de nanoemulsiones se fundamentan en obtener gotas en un sistema agua-aceite-emulgente, con una variación de los factores dentro del proceso o a su vez modificaciones en la composición química del sistema. Los procesos de baja energía más comúnmente utilizados son: el autoensamble, inversión de fases o formación espontánea, formación por membrana y desplazamiento del disolvente [68].

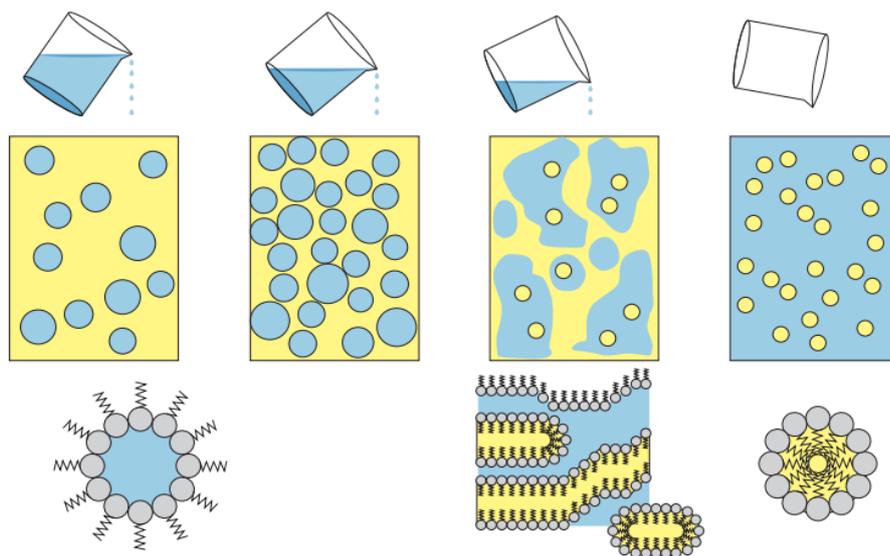
#### ***2.5.2.2.1. Autoensamble***

El método de autoensamble consiste en la obtención de nanoemulsiones mediante la utilización de emulgentes solubles en agua y agitación constante por un tiempo específico para formar una nanoemulsión de capa simple. Posteriormente se añade un biopolímero con la finalidad de revestir la fase dispersa, lo cual permite tener una nanoemulsión de doble capa; por último, nuevamente se agrega otro biopolímero para alcanzar una nanoemulsión de triple capa. El tamaño de las gotas de este tipo de nanoemulsiones oscilan en un rango de 20 a 300 nm [69].

#### ***2.5.2.2.2. Inversión de fases o formación espontánea***

Una alternativa de bajo costo y eficiente para la obtención de nanoemulsiones es la formación espontánea, porque se basa en el aprovechamiento de la energía química que tiene el sistema de emulsión debido a la inversión de las fases, es decir, cuando una mezcla agua en aceite se transforma en una mezcla de aceite en agua. El emulgente posee afinidad con la fase dispersa, junto con la aplicación de agitación constante es posible estabilizar la mezcla [70]. Los factores que influyen en la inversión de las fases son: la velocidad de coalescencia de las gotas, volumen de la fase dispersa, proporción aceite y emulgente, velocidad a la que se añaden las fases al sistema [71].

En la Figura 3 se puede observar el proceso de inversión de fases, inicialmente al sistema agua en aceite, se adicionan más cantidad de gotas de agua con la finalidad que el tamaño de las gotas iniciales vayan creciendo hasta circundar al aceite (fase continua), provocando que el agua se convierta en la fase continua de la emulsión.



**Figura 3** Obtención de emulsión el método inversión de fases [72]

#### **2.5.2.2.3. Formación por membrana**

El método de formación de emulsiones por membrana se basa en el paso de la fase dispersa por una membrana, con el objetivo de disminuir el tamaño de las gotas de la emulsión. Es un proceso de rápida aplicación, la cantidad de emulgente que necesita el proceso es menor con respecto a los métodos de alta energía, las gotas que se obtienen son más pequeñas.

#### **2.5.2.2.4. Desplazamiento del disolvente**

El proceso de obtención de una emulsión por desplazamiento del solvente requiere de la aplicación de un disolvente orgánico con elementos lipofílicos funcionales en la fase acuosa en presencia del emulgente, además la propagación del solvente orgánico en la fase acuosa logra la obtención de nanoemulsiones y como última etapa el solvente se evapora [73].

#### **2.5.3. Aplicaciones de nanoemulsiones**

La nanoemulsiones tienen diversas aplicaciones en la industria de alimentos porque se busca desarrollar novedosos sistemas de liberación de principios activos y componentes de naturaleza lipofílica con su respectiva incorporación en productos alimenticios. Las nanoemulsiones O/W son estables, idóneas para el transporte de principios activos como componentes fitoquímicos, vitaminas, preservantes, etc. Otra de las funciones es prolongar el tiempo de vida útil de alimentos [74].

En la industria farmacéutica son altamente utilizados como medio de transporte, porque llevan en su composición moléculas lipofílicas con propiedades biológicas y además proveen de

protección a los componentes bioactivos frente a enzimas hidrofílicas y altos rangos de pH, tienen la facilidad de producirse a gran escala y son biodegradables [75].

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Materiales

Fundas herméticas, papel aluminio, lienzo, vasos de precipitación de 1000, 500 y 250 ml (PYREX  $\pm$  0,05 ml), probetas graduadas de vidrio de 1000, 500 y 100 ml (Boro 3.3  $\pm$  0,01 ml), agitador magnético, frascos ámbar de 50 ml, tubos tapa rosca de 15 y 25 ml, varilla de agitación, gradilla plástica, tubos plásticos de centrifuga, micropipetas de 100–1000  $\mu$ L, balones de aforo de 1000 y 100 ml ( $\pm$  0,01 ml), balón rotoevaporador (IKA RU8, USA), celdas de cuarzo de 1 ml para espectrofotómetro.

#### 3.2. Equipos

Secador de Bandejas (GANDER MTN, China), licuadora (OSTER), balanza analítica (OHASUS, PA214), balanza de Humedad (KERN MLS 50-3), plancha de calentamiento con agitador magnético (Super Nouva Multiplace, Thermo Scientific), refrigeradora, rotaevaporador (IKA RU8, USA), baño María (IKA, USA), centrifuga (Hettich Zentrifugen, Germany), espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 5000, Germany), vortex (Fisher Scientific, USA).

#### 3.3. Reactivos

- **Preparación de extractos vegetales**

Etanol 95 %, agua destilada.

- **Nanoemulsión**

Tween 80, etanol 95 %, aceite de girasol, Eumulgin CO40

#### 3.4. Tipo de Investigación

El incremento de la solubilidad de curcumina extraída a partir de *Curcuma longa* L. con mecanismos físicos y mecánicos, es una investigación cuantitativa porque conlleva etapas como la extracción sólida-líquida de curcumina y su respectiva cuantificación para evaluar los factores que inciden en el proceso; formulación de la nanoemulsión y medida de la

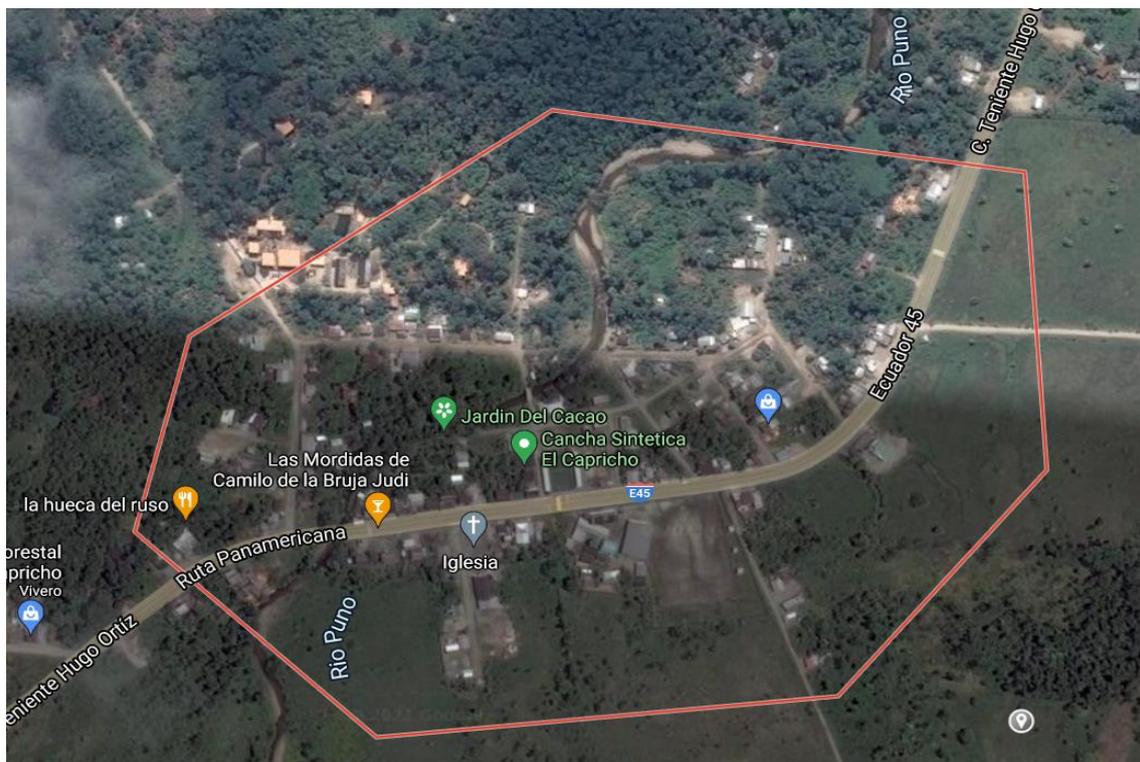
transmitancia; solubilidad de la nanoemulsión y determinación de su absorbancia aplicando Espectroscopía UV-Vis a una longitud de onda de 425 nm (específica para curcumina).

### 3.5. Metodología

#### 3.5.1. Recolección de material vegetal

En la provincia de Pastaza se recolectaron los rizomas de la planta de *Curcuma longa* L. en el cantón Carlos Julio Arrosemena Tola, comunidad “El Capricho” que se encuentra localizado en las coordenadas ESTE 180457.50 NORTE 9868410.

El material recolectado (7 kg) se colocó en un recipiente hermético para su conservación durante el transporte a los laboratorios de la UIDIDE-UTA.



**Figura 4.** Localización de la comunidad “El Capricho”

### 3.5.2. Preparación del extracto vegetal

#### Obtención de material vegetal molido

El material vegetal recolectado se lavó con agua corriente las veces que fueron necesarias para eliminar las impurezas y sustancias extrañas, seguido de esto aproximadamente 6 kg del material vegetal limpio, se cortaron de forma transversal los rizomas y se colocaron en el secador de bandejas (GANDER MTN, China) a una temperatura de 60 °C hasta que se encuentren completamente secos. Se procedió a triturar y moler la materia vegetal seca en la licuadora (OSTER) y se guardó en fundas plásticas herméticas con su respectivo rotulado, se almacenó en un lugar seco. La materia vegetal molida se pesó en una balanza analítica (OHASUS, PA214) y se registró su peso antes de empezar con la extracción utilizando el disolvente establecido, etanol [76].

#### Extracto etanólico

Para la obtención de los extractos líquidos se procedió a utilizar etanol al 95 % como disolvente en combinación con distintas proporciones de la materia vegetal como se detalla en la siguiente Tabla 4.

**Tabla 4.** Diseño Experimental para la obtención de extractos etanólicos

Temperatura de extracción (°C)	Relación materia vegetal /volumen de disolvente	Tiempo de extracción (min)
60	1:8	90
	1:12	
	1:16	
70	1:8	90
	1:12	
	1:16	
80	1:8	90
	1:12	
	1:16	

**Elaborado por:** Erika Vanessa Moya Castillo

La obtención de los 9 extractos líquidos iniciales para el procedimiento experimental se realizó tomando en cuenta las combinaciones de temperatura y relación de materia vegetal con el disolvente para cada tratamiento, se colocaron en tubos corning, se rotularon y se colocaron en un baño maría con agitación constante considerando la temperatura y el tiempo estimado para cada tratamiento como se detalla en la tabla 4. La mezcla caliente se filtró a través de un lienzo para eliminar lo sólidos y el extracto líquido se guardó en una botella ámbar de 30 ml rotulada respectivamente, almacenándolo en refrigeración a una temperatura de 4 °C.

### **Concentración de extractos líquidos**

El extracto etanólico obtenido se colocó en el balón de vidrio del rotaevaporador (IKA RU8, USA) y con la utilización del baño María se calentó el extracto a 74 °C con una constante rotación de 202 rpm, hasta alcanzar la evaporación de la mayor parte del disolvente en los extractos etanólicos [76].

#### ***3.5.3. Cuantificación de curcumina a través de Espectrofotometría UV-Visible***

Se verificó que se encuentre conectado a una fuente reguladora de voltaje y se comprobó el encendido de las lámparas de tungsteno para evaluar las absorbancias de las soluciones.

Se calibró la longitud de onda del espectrofotómetro antes de realizar las mediciones para lo cual se empleó. Se colocó 1 ml de etanol (blanco) y se realizaron las mediciones para ajustar a cero el equipo. Luego, se colocó 1 ml de muestra en las celdas y en el sistema se aplicó la opción de medición de barrido espectral con el que se obtuvieron las longitudes de onda en las que hay una absorbancia máxima con la finalidad de determinar la adecuada calibración del espectrofotómetro [77]. Según revisión bibliográfica se conoce que los curcuminoides se presentan en un rango de máxima absorción de 425 nm a 500 nm [78].

Para la cuantificación de curcumina se procedió a realizar una curva patrón en donde se necesitó preparar una solución patrón de curcumina. El blanco consistió en una solución de etanol al 96 °GL. Como patrón se empleó curcumina, disueltos con etanol hasta completar un volumen de 100 ml [79].

Se generó la curva de calibración a partir de la solución estándar con cinco concentraciones desde 0 a 8 µg/ml y se midió cada muestra, se realizó la lectura a 425 nm en el espectrofotómetro UV-visible [12]. Y se registraron los datos de absorbancia para luego realizar los cálculos respectivos y determinar su concentración en porcentaje.

#### **3.5.4. Determinación de humedad de extractos líquidos**

La determinación de la humedad de los extractos líquidos se realizó en la balanza de humedad (KERN MLS 50-3) la misma que se calibró previamente, en el porta muestras de la balanza se colocaron aproximadamente 3 g del extracto líquido a ser analizado, se programó la balanza para determinar la humedad de la muestra y una vez transcurrido el tiempo necesario, el equipo indicó el valor de la humedad del extracto líquido obtenido [76].

#### **3.5.5. Formulación de Nanoemulsiones**

Se necesitó la preparación de 1 Litro de extracto líquido (extracto con mayor porcentaje de curcumina EMC73) se colocó el volumen de etanol un vaso de precipitación de 1000 ml (PYREX  $\pm$  0,05 ml) y se utilizó un agitador magnético para que la mezcla del vaso de precipitación tenga una agitación constante. Se colocó en una plancha de calentamiento (Super Nouva Multiplace, Thermo Scientific) tomando en cuenta según los niveles de temperatura que se muestra en el Tabla 4 y con agitación constante de 800 rpm, se mantuvieron en estas condiciones durante 90 minutos. La mezcla caliente se filtró a través de un lienzo para eliminar lo sólidos y el extracto líquido se guardó en una botella ámbar de 1000 ml rotulada respectivamente, almacenándolo en refrigeración a una temperatura de 4 °C.

Se utilizaron mecanismos mecánicos y no mecánicos; El mecanismo mecánico se basó en el uso de un homogeneizador de alta velocidad. Mientras que los mecanismos físicos no mecánicos, consistieron en el empleo de varias sustancias tensoactivas ya sean solas o en mezclas [80].

Con la finalidad de optimizar la formación de la nanoemulsión se estableció un diseño experimental de superficie de respuesta  $3^2$  dos factores con 3 niveles.

La formulación de la nanoemulsión de curcumina se realizó en un tubo corning mediante una mezcla del extracto etanólico de curcumina- Tween 80 con la adición del aceite vegetal en proporciones como lo muestra la Tabla 5, luego se aforó con agua destilada hasta llegar a un volumen de 10 ml y durante 1 minuto se homogenizó la mezcla en un vortex (Fisher Scientific, USA). Luego se procedió a realizar una dilución 1/1000 a partir de la mezcla inicial, de lo cual se extrajo 1 ml, se colocó en una celda de cuarzo y se realizó la lectura de la Transmitancia a una longitud de onda de 425 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 5000, Germany).

**Tabla 5.** Diseño Experimental 3<sup>2</sup> para la formulación de la Nanoemulsión

<b>BLOQUE</b>	<b>Mezcla Extracto- Tween 80 (%)</b>	<b>Aceite (%)</b>
<b>1</b>	40	45
<b>1</b>	45	40
<b>1</b>	35	45
<b>1</b>	35	40
<b>1</b>	35	35
<b>1</b>	40	40
<b>1</b>	45	45
<b>1</b>	45	35
<b>1</b>	40	35
<b>2</b>	40	45
<b>2</b>	45	40
<b>2</b>	35	45
<b>2</b>	35	40
<b>2</b>	35	35
<b>2</b>	40	40
<b>2</b>	45	45
<b>2</b>	45	35
<b>2</b>	40	35
<b>3</b>	40	45
<b>3</b>	45	40
<b>3</b>	35	45
<b>3</b>	35	40
<b>3</b>	35	35
<b>3</b>	40	40
<b>3</b>	45	45
<b>3</b>	45	35
<b>3</b>	40	35

**Elaborado por:** Erika Vanessa Moya Castillo

### 3.5.6. Solubilización

La evaluación de la solubilización de la curcumina fue posible realizando mezclas entre un tensoactivo no iónico (Tween 80) y un emulsionante no iónico como el aceite de ricino hidrogenado (Eumulgin CO40) en las proporciones como lo muestra la Tabla 6, luego se aforó con agua destilada hasta llegar a un volumen de 10 ml y durante 1 minuto se homogenizó la mezcla en un vortex (Fisher Scientific, USA). Después se realizó una dilución 1/1000 de la primera mezcla, con una micropipeta se tomó un volumen de 1 ml, se colocó en una celda de cuarzo y se realizaron las mediciones de absorbancia a una longitud de onda de 425 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 5000, Germany).

**Tabla 6.** Diseño experimental  $3^2$  para determinación de solubilidad de la nanoemulsión

<b>Bloque</b>	<b>Tween 80</b>	<b>Eumulgin CO 40</b>
1	0,50	0,50
1	0,50	1,00
1	0,50	0,00
1	0,00	0,00
1	1,00	1,00
1	1,00	0,50
1	1,00	0,00
1	0,00	0,50
1	0,00	1,00
2	0,50	0,50
2	0,50	1,00
2	0,50	0,00
2	0,00	0,00
2	1,00	1,00
2	1,00	0,50
2	1,00	0,00
2	0,00	0,50
2	0,00	1,00
3	0,50	0,50
3	0,50	1,00

<b>3</b>	0,50	0,00
<b>3</b>	0,00	0,00
<b>3</b>	1,00	1,00
<b>3</b>	1,00	0,50
<b>3</b>	1,00	0,00
<b>3</b>	0,00	0,50
<b>3</b>	0,00	1,00

**Elaborado por:** Erika Vanessa Moya Castillo

### **3.5.7. Análisis Estadístico**

El software que se utilizó fue STATGRAPHICS porque es una herramienta que presenta resultados de una forma clara y entendible. La realización del análisis de datos experimentales de la investigación se realizó mediante un Diseño Factorial de Superficie  $3^k$  para optimizar la respuesta, la determinación del mejor tratamiento en la obtención de extractos de cúrcuma se obtuvo con la aplicación de un diseño de dos factores y tres niveles. La evaluación de la nanoemulsión y su solubilización fue posible realizarla con un diseño factorial de superficie de respuesta con dos factores experimentales y 1 respuesta, por ende, se realizó el análisis de varianza con una tabla ANOVA para evidenciar el resultado más óptimo.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados y Discusión

##### *Obtención de Extractos*

La obtención de extractos fitoquímicos con alta concentración de metabolitos es de gran importancia para la industria farmacéutica. La utilización de etanol como solvente para la extracción de la curcumina a partir de los rizomas de *Cúrcuma longa* L. se aplicó en la metodología de la presente investigación, además de la variación de parámetros como la temperatura a la que se lleva a cabo el proceso y la cantidad de materia prima. En la Tabla 7 se evidencian los tratamientos aplicados detallándose la cantidad de sólidos solubles totales (SST) para identificar las características de los extractos líquidos y así calcular el rendimiento alcanzado del proceso para cada muestra.

**Tabla 7.** Sólidos solubles totales (SST) y rendimiento de los sólidos extraídos

<b>Código</b>	<b>Concentración de disolvente (%)</b>	<b>Temperatura °C</b>	<b>Relación m/v</b>	<b>SST (%)</b>	<b>Rendimiento de sólidos extraídos (%)</b>
EMC55	95	60	1:8	0,66 ± 1,14	3,92±0,48
EMC58	95	60	1:12	0,64±0,23	5,48±1,77
EMC61	95	60	1:16	0,46±0,03	5,62±0,34
EMC64	95	70	1:8	0,88±0,23	4,43±0,01
EMC67	95	70	1:12	0,70±0,31	5,74±3,30
EMC70	95	70	1:16	1,06 ±0,88	6,05±0,95
EMC73	95	80	1:8	0,92 ±0,00	6,07±0,26
EMC76	95	80	1:12	0,54±0,14	5,88±0,37
EMC79	95	80	1:16	0,44±0,00	5,76±0,16

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

La extracción de los metabolitos secundarios de las plantas requiere un proceso de selección del disolvente que se va a emplear, porque debe tener afinidad química con los principios

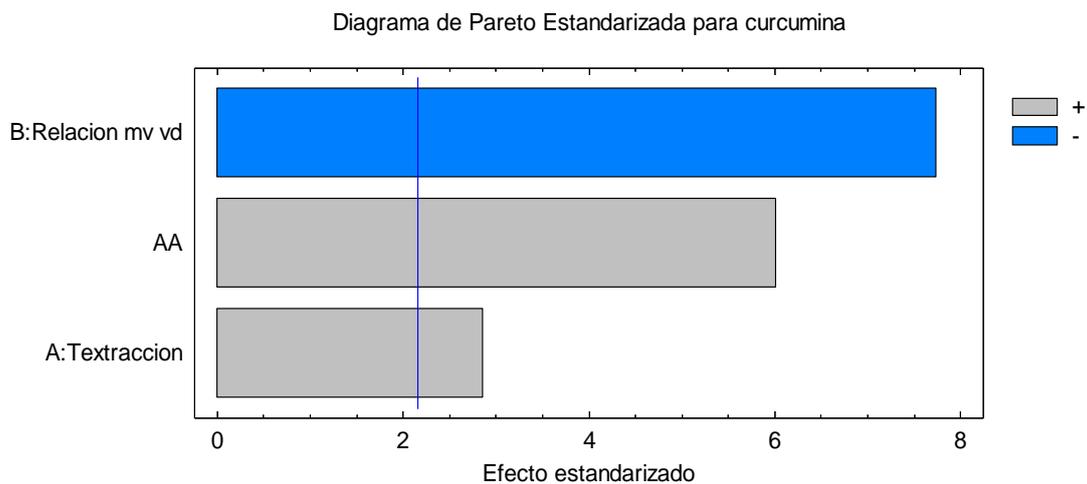
activos para que la extracción tenga un alto rendimiento. Gonzales y colaboradores realizaron una investigación sobre la cúrcuma en la que se detalla que los rizomas tienen 2,5 % de curcuminoides, cabe recalcar que la composición varía dependiendo de la región de origen [81]. La materia prima que se empleó para el proceso tuvo un pretratamiento adecuado como la limpieza, desinfección, corte, secado y pulverización en parámetros establecidos, para garantizar condiciones asépticas en el proceso de extracción; también con la pulverización se logró aumentar la superficie de contacto para facilitar la extracción del metabolito de interés. Resultó importante verificar la calidad de la cúrcuma en polvo identificando un color amarillo-anaranjado y un aroma intenso similar a la naranja y jengibre, esta propiedad física se debe a la presencia de oleorresina y aceites esenciales. La determinación del porcentaje de humedad de las muestras de extractos líquidos de *Cúrcuma longa* L fue indispensable para el cálculo de Sólidos Solubles Totales (SST) e identificar el extracto que contiene mayor cantidad de residuos sólidos orgánicos e inorgánicos, que se quedan en el recipiente después de la evaporación del disolvente y secado a una temperatura definida [82]. En la Tabla 7 se evidencia que la muestra EMC70 contiene  $1,06 \pm 0,88$  porcentaje de SST, sin embargo, el rendimiento de sólidos extraídos fue de  $6,05 \pm 0,95$  %. La muestra EMC73 alcanzó una concentración de SST de  $0,92 \pm 0,00$  % respecto a los demás tratamientos, por ende, el rendimiento de sólidos extraídos fue de  $6,07 \pm 0,26$  %. El análisis fisicoquímico efectuado permitió optimizar la obtención de extractos líquidos con etanol a partir de los rizomas de la cúrcuma, encontrándose que la muestra EMC73 presentó el más alto rendimiento de sólidos extraídos.

### ***Determinación de Curcumina en extractos líquidos***

La determinación de la concentración de curcumina en los extractos líquidos se realizó aplicando el método de Espectroscopía UV-Vis para determinar la absorbancia a una longitud de onda de 425 nm. Se utilizó en software Statgraphics para un Análisis de Varianza (ANOVA) a los datos obtenidos del porcentaje de curcumina en cada tratamiento, tomando en cuenta los factores temperatura (60, 70, 80 °C) y relación de materia vegetal con el solvente (1:8, 1:12, 1:16). La tabla ANOVA facilita información sobre los factores que intervienen en el proceso y mediante un análisis de las medias de la variable respuesta (curcumina) se consideran los niveles de cada factor. Además, con el análisis de varianza, el diseño factorial de superficie de respuesta, facilita la obtención de una respuesta a las interrogantes planteadas en las hipótesis nula y alternativa sobre los factores que inciden con mayor frecuencia en la extracción del principio activo. Una vez que se han analizado los datos registrados, se estableció la  $R^2 = 88,91$

%, media estadística que especifica que tan próximos están los datos de la línea de regresión ajustada, lo cual indica que el modelo expresa la variabilidad del porcentaje de curcumina obtenido en torno a su media, es decir, mientras más alta es la  $R^2$  mejor se ajusta el modelo a los datos. La muestra EMC73 alcanzó un 22,72% de concentración de curcumina, principio activo de interés, hay que considerar que las condiciones óptimas aplicadas para la obtención del extracto con mayor concentración de curcumina fueron la temperatura de 80 °C y la relación masa de la materia vegetal con respecto al volumen del disolvente en una proporción 1:8.

En la Figura 5 se observa el diagrama de Pareto, el cual resultó de fácil comprensión porque permitió organizar los valores de mayor a menor e identificó los factores en el proceso en la extracción de curcumina.

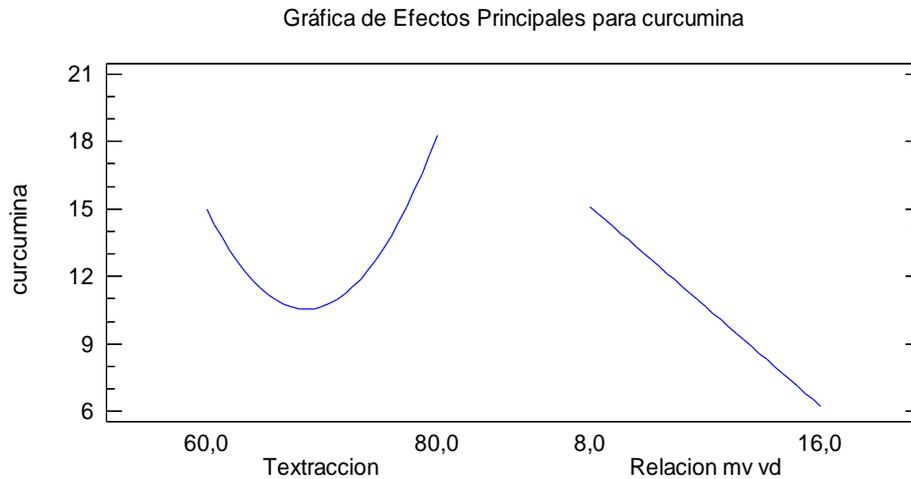


**Figura 5.** Diagrama de Pareto en la determinación de curcumina

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

El nivel de la relación de la materia vegetal con el volumen de solvente (1:8) y una temperatura de 80 °C presentaron influencia significativa sobre la variable de respuesta. El rendimiento cualitativo y cuantitativo de la extracción se ve directamente influenciado por la polaridad del solvente utilizado, por lo que se pueden mencionar al etanol, metanol, acetona como los solventes comúnmente utilizados. Principalmente la composición química de los principios activos a extraer, los grupos funcionales en su estructura, peso molecular, la concentración del disolvente, tiempo de contacto, temperatura, tamaño de la partícula y la relación masa disolvente son factores determinantes para extraer los principios activos de la materia prima [83].

La Figura 6 de efectos principales, se examinó la consecuencia principal de los niveles de cada factor sobre la variable respuesta, los factores que se analizaron para el proceso de extracción fueron la temperatura de extracción (60, 70, 80 °C) y la relación de la materia vegetal con respecto al volumen del disolvente (1:8, 1:12, 1:16).

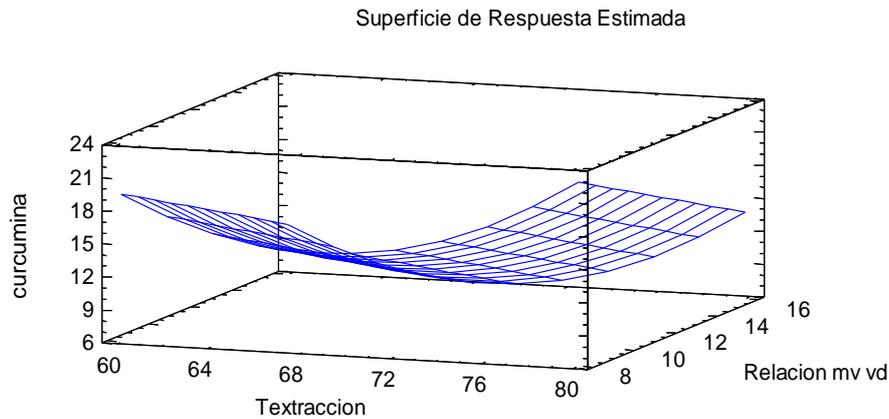


**Figura 6.** Gráfica de efectos principales en la extracción de curcumina

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

En la gráfica se observa que las líneas no son horizontales, lo que quiere decir que existió un efecto principal. Los niveles de cada factor influyeron de manera distinta sobre el porcentaje de curcumina extraída, por ende, se observa en la gráfica que el factor materia vegetal/ volumen de etanol tiene una pendiente más inclinada, lo que indica que tuvo un efecto mayor en el proceso de extracción de curcumina.

En la Figura 7 se evidencia la gráfica tridimensional de superficie de respuesta estimada, la misma que representa el porcentaje de curcumina extraída (variable de respuesta) en función de dos factores: Temperatura y Relación (m/v).



$$\text{Curcumina} = 305,448 - 8,20622 * \text{Textracción} - 1,11133 * \text{Relación mv/vd} + 0,0597917 * \text{Textracción}^2$$

**Figura 7.** Gráfico de superficie de respuesta en la determinación de curcumina

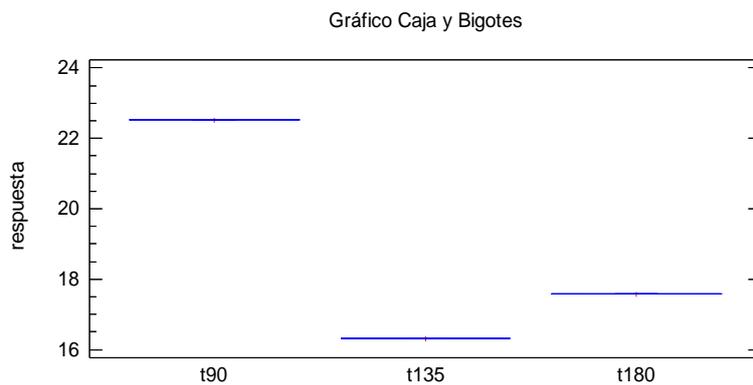
**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

El gráfico de contornos permitió visualizar la forma de esta relación, en donde cada línea de contorno representó una altura específica de la superficie de respuesta o la combinación de los niveles de los factores establecidos que provocaron la misma respuesta y nuevamente se comprobó que las condiciones óptimas para un mayor rendimiento en la extracción de curcumina son: relación m/v (1:8) y temperatura (80 °C). El aumento de la temperatura causó un efecto positivo sobre el rendimiento de extracción de curcumina porque a medida que se incrementó la temperatura del proceso simultáneamente el porcentaje de rendimiento también lo hizo, porque éste factor actúa en la tasa de transferencia de masa al interior del sistema de extracción [84].

### ***Tiempo Óptimo***

Para establecer el tiempo óptimo del proceso de extracción de la curcumina (principio activo) se evaluaron tres niveles de este factor: 90, 135, 180 minutos y los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA para establecer el mejor nivel del factor tiempo para ejecutar la operación y alcanzar un mejor desempeño en el proceso con la finalidad de optimizar la variable de respuesta. Después de haber realizado un análisis en cuanto a los resultados obtenidos, se determinó que el tiempo óptimo de extracción fueron 90 minutos, porque en ese nivel se alcanzaron resultados más homogéneos. Además, se observó que existe diferencia significativa entre los datos evaluados, por lo tanto, se concluye que el tiempo de extracción en el que se lleva a cabo el proceso, si influye en el rendimiento de extracción de curcumina.

En la Figura 8 “Cajas y Bigotes” se analizaron los niveles del factor tiempo de contacto de la materia prima con el disolvente etanol en el proceso de extracción de curcumina, para lo cual se tomaron en cuenta 90, 135 y 180 minutos.



**Figura 8.** Gráfica de cajas y bigotes para tiempo óptimo del proceso

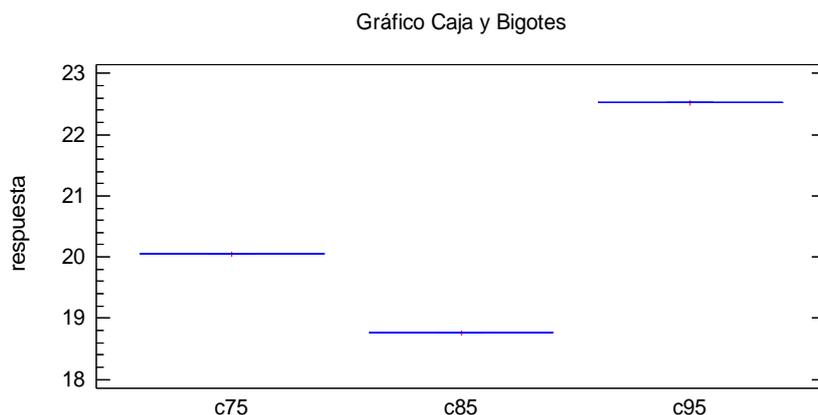
**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Se observa que el desplazamiento de las gráficas de caja hacia la izquierda, indica que el tiempo de extracción de 90 minutos ha dado el mejor resultado porque la interacción entre la materia vegetal y el disolvente en el tiempo establecido logró una mejor extracción de curcumina. Al analizar el factor tiempo de contacto se obtuvo un efecto positivo sobre el rendimiento de extracción, pues el contacto entre el etanol y cúrcuma pulverizada permitió la solubilización de la curcumina, lo cual conllevó que este compuesto se difundiera a través del etanol alcanzando una alta eficiencia en el proceso [85].

### ***Concentración Óptima de Etanol***

La concentración del etanol utilizado como solvente en el proceso de extracción, fue indispensable para determinar con cual nivel se alcanzó la mejor muestra con alta concentración de curcumina, es decir que de los niveles de concentración seleccionados fueron 75 %, 85 % y 95 %, El análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos permitió establecer la importancia de los niveles del factor seleccionado en la obtención de la variable de respuesta, además de determinar la existencia de diferencia significativa entre los valores, lo que indica que la concentración del disolvente en el proceso de extracción si incide directamente en el porcentaje de curcumina en los extractos líquidos y como resultado se consideró que el nivel óptimo es 95 % de concentración del disolvente, debido que se alcanzaron resultados más homogéneos en este nivel.

En la Figura 9 “Cajas y Bigotes” se tomó en cuenta la concentración del disolvente etanol para evidenciar como es su influencia en la extracción de curcumina.



**Figura 9.** Gráfico de cajas y bigotes para concentración óptima del disolvente

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Se observa que el desplazamiento de las gráficas de caja hacia derecha, indica que la concentración al 95 % de etanol facilitó la interacción con la materia vegetal, por ende, se alcanzaron niveles altos de curcumina en los extractos líquidos. Los compuestos curcuminoides, en especial la curcumina es soluble en el etanol y muy poco soluble en agua, lo cual explica que a mayor concentración de etanol se obtiene un mayor porcentaje de curcumina en el extracto líquido [84].

### ***Nanoemulsión***

La elaboración de la nanoemulsión de curcumina a partir de la extracción sólido-líquido de *Cúrcuma longa* L se llevó a cabo por mecanismos con efecto mecánico aplicando agitación a altas velocidades y efecto físico por la mezcla de componentes, además de la reducción de la tensión interfacial con tensoactivos. El diseño experimental que se aplicó para la obtención de la nano emulsión  $3^2$ , tomando en cuenta los factores como el porcentaje de mezcla del extracto etanólico con Tween 80 (35, 40, 45 %) y porcentaje de aceite vegetal (35, 40, 45 %) como es posible visualizar en la Tabla 8 la combinación de los tratamientos, además se registró su respectiva lectura de transmitancia de la curcumina en las soluciones a una longitud de onda de 425 nm.

**Tabla 8.** Porcentaje de Transmitancia de las mezclas de nanoemulsiones de curcumina

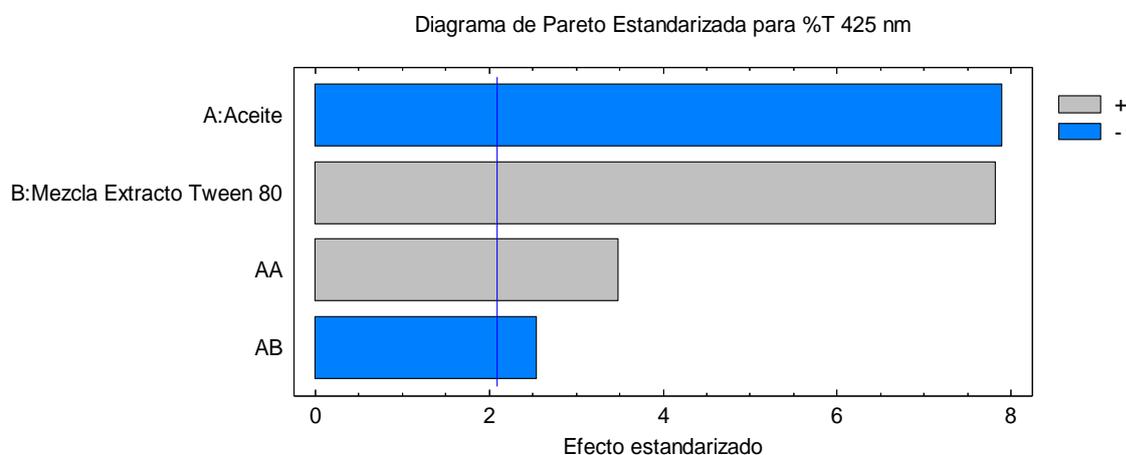
<b>BLOQUE</b>	<b>Mezcla Extracto Tween 80 (%)</b>	<b>Aceite (%)</b>	<b>%T 425 nm</b>
1	40	45	44,6
1	45	40	49,2
1	35	45	40,6
1	35	40	41,3
1	35	35	50,6
1	40	40	50,8
1	45	45	51,5
1	45	35	71,5
1	40	35	53,5
2	40	45	43,8
2	45	40	48,7
2	35	45	40,8
2	35	40	41,5
2	35	35	50,8
2	40	40	50,7
2	45	45	51,0
2	45	35	72,1
2	40	35	54,0
3	40	45	45,2
3	45	40	49,3
3	35	45	41,2
3	35	40	41,8
3	35	35	51,0
3	40	40	51,2
3	45	45	51,9
3	45	35	71,8
3	40	35	53,9

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

La transmitancia de las muestras de la nanoemulsión de curcumina fue inversamente proporcional a la densidad del sistema y el tamaño de las partículas que se encontraron

suspendidas, mientras el tamaño de las partículas disminuye la transmitancia se incrementó y viceversa [87]. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un diseño factorial de superficie de respuesta con una tabla ANOVA tomando en cuenta los factores establecidos para la formulación de la nanoemulsión, alcanzando un  $R^2=87,58\%$  lo cual indica una alta homogeneidad en los datos. La muestra que presentó alto porcentaje de transmitancia y mejor emulsificación resultó de la combinación de 45 % mezcla extracto de curcumina con Tween 80 y 35 % de aceite vegetal, debido a que el porcentaje de transmitancia de esa muestra fue 67,92 %, es decir, las condiciones de operación anteriormente mencionadas facilitan un mejor desempeño del proceso.

En la Figura 10 se observa el diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de transmitancia de curcumina y de esta manera es posible evaluar la influencia de los factores en la formulación de la nanoemulsión de curcumina a partir de rizomas de *Curcuma Longa L.*

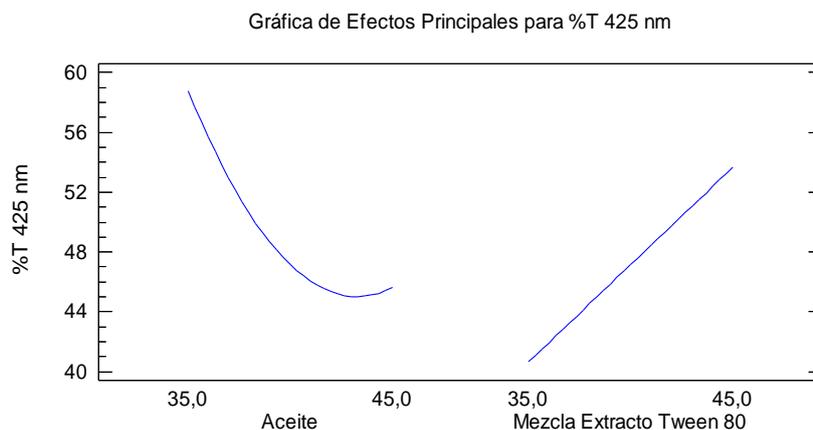


**Figura 10.** Diagrama de Pareto en determinación de Transmitancia de curcumina.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Es una gráfica de fácil comprensión que permitió organizar los valores de mayor a menor y especificar de qué forma incidieron los factores del proceso obtención de la nanoemulsión, es así que la concentración de aceite vegetal con su nivel bajo de 35 % y la cantidad de la mezcla extracto etanólico con Tween 80 considerando en nivel más alto de 45 % presentaron una influencia significativa sobre formulación de una nanoemulsión de curcumina a partir de *Curcuma longa L.*

La Figura 11 de efectos principales sobre el porcentaje de transmitancia de la curcumina se examinó el efecto principal de los niveles de cada factor sobre la variable respuesta,

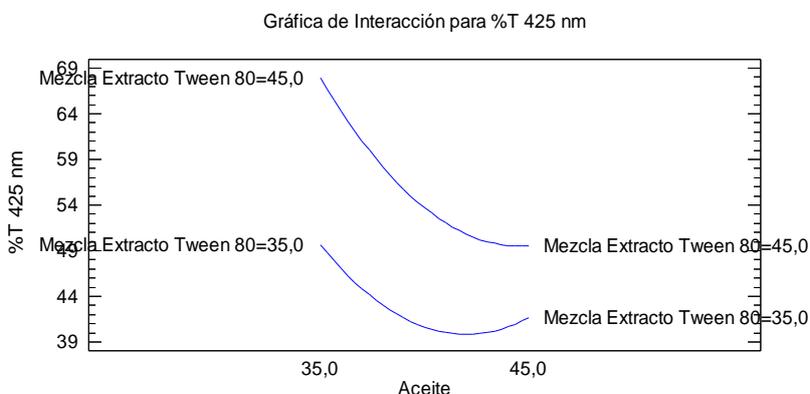


**Figura 11.** Gráfica de efectos principales en la formulación de nanoemulsión.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Los factores que se consideraron para el proceso de formulación de nanoemulsión fueron el porcentaje de mezcla de extracto etanólico con Tween 80 (35, 40, 45 %) y porcentaje de aceite vegetal (35, 40, 45%). En la gráfica se observa que las líneas no son horizontales, lo que indica que si existió un efecto principal. Los distintos niveles de cada factor influyeron de manera variable sobre la emulsificación de la nanoemulsión, por ende, se observa en la gráfica que el factor mezcla de extracto con Tween 80 tiene una pendiente más inclinada, lo que indica que tuvo un efecto mayor en el proceso obtención de la nanoemulsión de curcumina.

En la Figura 12 se observa la gráfica de interacción entre de la variable respuesta (% Transmitancia de la curcumina) y las categorías de los factores: concentración de aceite vegetal y mezcla de extracto con Tween 80.

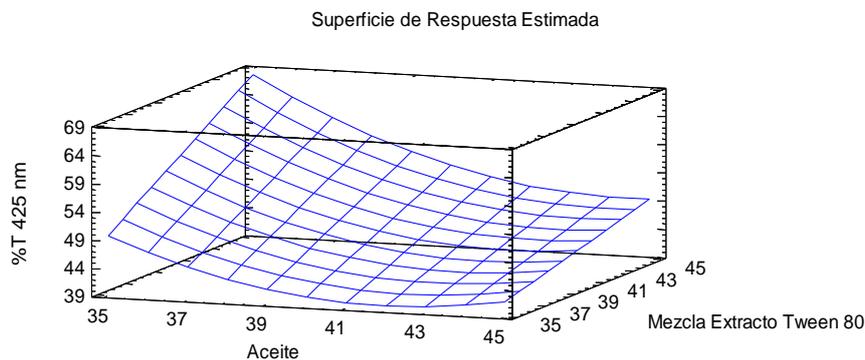


**Figura 12.** Gráfica de interacción de factores en la nanoemulsión

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Se evaluaron las líneas proyectadas para comprender como las interacciones de los niveles de cada factor inciden sobre la variable respuesta, la combinación de 35 % de aceite vegetal y el 45 % de mezcla Extracto-Tween 80 permitieron obtener una nanoemulsión con mayor porcentaje de transmitancia 67,92 %, lo que indica que mientras mayor es su transmitancia menor es el tamaño de partículas suspendidas. En la gráfica se evidencia la existencia de interacción, por lo tanto, el efecto de la concentración de aceite vegetal depende de la concentración de mezcla Extracto-Tween 80 y viceversa.

La Figura 13 representa la gráfica de superficie de respuesta estimada relacionando tres dimensiones, se evidencia la evolución de la respuesta en función de los factores que se consideraron la variación de la cantidad de mezcla de extracto con Tween 80 y concentración de aceite vegetal.



$$\%T_{425 \text{ nm}} = 204,144 - 13,3 * \text{Aceite} + 5,46444 * \text{Mezcla Extracto Tween 80} + 0,201778 * \text{Aceite}^2 - 0,104 * \text{Aceite} * \text{Mezcla Extracto Tween 80}$$

**Figura 13.** Diagrama de Pareto en formulación de la nanoemulsión

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

El gráfico de contornos permite visualizar la manera en que se establece esta relación, dónde cada línea de contorno representa una altura determinada de la superficie de respuesta o también se puede interpretar como las posibles combinaciones de los niveles de cada factor para provocar una misma respuesta. La validación experimental se la realizó a través de la medición de la variable respuesta alcanzando un porcentaje de transmitancia de la curcumina igual a 67,92 %, examinando los niveles óptimos del proceso como la concentración del aceite vegetal en 35% y la mezcla de extracto del extracto con Tween 80 en 45 %.

El método PIC (inversión de fases por composición) se aplicó en la parte experimental de la presente investigación para la obtención de una nanoemulsión de curcumina. Primero se

produjo una conversión de fase de agua en aceite (W/O) a aceite en agua (O/W) por la adición de agua en la mezcla constituida por agua, surfactante y aceite en condiciones ambientales y aplicando agitación durante 1 minuto en el vortex. La aplicación de este método de emulsificación espontánea comprende varias transiciones de fase con el objetivo de generar nanoemulsiones con gotas de tamaño pequeño y controlado, fue primordial el diseño experimental con la variación de concentración de los componentes para analizar el comportamiento fásico [88].

Al igual que todas las emulsiones, las nanoemulsiones tienen características particulares como el tamaño de las gotas en escala nanométrica (20-500 nm) [89], por lo que adquieren transparencia en consecuencia de la distribución de tamaño de la gota y la composición de la fase interna. Es posible que se produzca una desestabilización al existir una interacción entre la luz y el tamaño de la gota causando variaciones en su aspecto según se incremente la dimensión de la gota. Es importante considerar que una nanoemulsión es un sistema viscoso cuando tiene entre el 40-50 % de la fase interna. La composición de la nanoemulsión tiene fase dispersa (fase interna) y fase continua (fase externa).

El emulsionante permite que la nanoemulsión sea estable, por ende, la selección del emulgente es primordial para alcanzar una adecuada formación y estabilidad del producto. El emulgente es de naturaleza anfifílica porque posee una región apolar o lipofílica y otra región polar o hidrofílica, con lo anteriormente mencionado es posible que por acción de los surfactantes se disuelvan en agua, aceite y solventes orgánicos [90]. En presencia de agua y aceite, los surfactantes se encuentran en la región de interfase de una manera orientada la parte no polar hacia el aceite y la parte polar hacia el agua. La formación de una región interfacial se produce cuando dos sustancias de naturaleza química distinta son inmiscibles, se considera que es una zona de transición de las propiedades de cada fase, por lo tanto, las interacciones moleculares en esta fase son distintas a las existentes en el seno de las fases que lo componen [91]. Los emulgentes son tensoactivos que contribuyen en la disminución de la tensión interfacial entre la fase oleosa y la acuosa [92]. Adicionalmente las características más relevantes de los emulsificantes son: formación de una película no adherente que no disminuya su tamaño cuando dos gotas colisionen y no genere coalescencia [93]; la estructura molecular debe ser específica de tal manera que tenga terminación apolar para atraer el aceite y terminación polar para atraer al agua [94]; alta solubilidad en la fase continua para mejor adsorción alrededor de las gotas de una nanoemulsión [95]; alta potencial para emulsionar el sistema con bajas

concentraciones del emulsionante [96]; debe ser un reactivo no tóxico y de fácil acceso económico [97].

La tensión interfacial es la medida sobre la naturaleza de las fases que conforman la nanoemulsión en la interfase, debido a la diferencia de similitud de estos componentes. La adición del surfactante produce cambios en la tensión interfacial con la disminución de la cantidad de trabajo que se necesita para expandir la interfase [98]. Los tensoactivos no iónicos tienen la característica de no generar iones en la solución acuosa, lo cual les convierte en compatibles con distintos tipos, por lo tanto, su aplicabilidad es amplia en formulaciones complejas; cabe mencionar que este tipo de compuestos son poco sensibles a los electrolitos, se pueden emplear en condiciones de alta salinidad y tienen baja toxicidad [93]. En la formulación de la nanoemulsión de curcumina se emplearon los reactivos Tween 80 y Eumulgin CO 40 como surfactantes no iónicos y debido a su anfifilicidad se transfirieron a la región de interfase y se adsorbieron en ella, con la adsorción se generó una disminución de la tensión superficial. La adsorción fue posible por la fuerza que causó un movimiento de las moléculas del surfactante a absorberse como consecuencia de la presencia de cargas, formación de estructuras de poca energía y efecto hidrofóbico. La propiedad de asociación se debe a la formación de micelas provocada por la hidrofobicidad y de manera simultánea se da la sustracción de las colas hidrófobas cuando están en contacto con el agua [99].

### ***Solubilización***

En la evaluación de la solubilidad de las nanoemulsiones se aplicó un diseño factorial con superficie de respuesta con la utilización de los reactivos Tween 80 y Eumulgin CO 40 variando sus concentraciones respectivamente, la medición del porcentaje de absorbancia se determinó mediante la espectroscopia de UV-Vis a una longitud de onda de 425 nm. Los valores se registran en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Absorbancias de las nanoemulsiones de curcumina

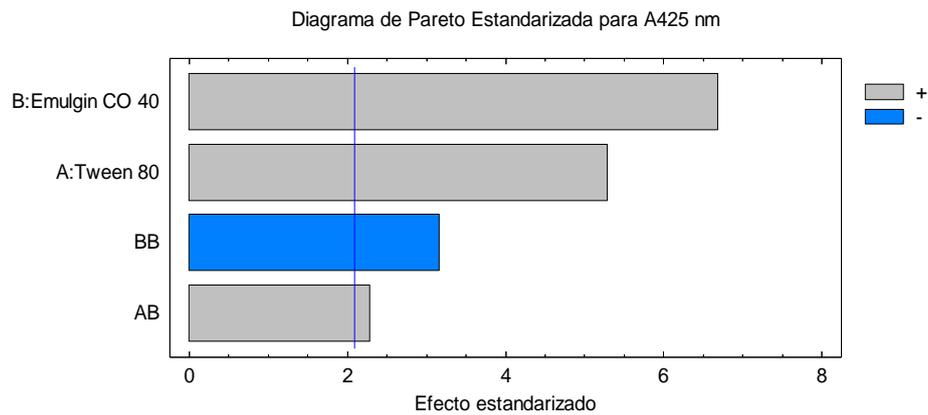
<b>BLOQUE</b>	<b>Tween 80</b>	<b>Eumulgin CO 40</b>	<b>A425 nm</b>
<b>1</b>	0,5	0,5	0,139
<b>1</b>	0,5	1,0	0,121
<b>1</b>	0,5	0,0	0,106
<b>1</b>	0,0	0,0	0,100
<b>1</b>	1,0	1,0	0,149

1	1,0	0,5	0,128
1	1,0	0,0	0,110
1	0,0	0,5	0,115
1	0,0	1,0	0,118
2	0,5	0,5	0,140
2	0,5	1,0	0,122
2	0,5	0,0	0,109
2	0,0	0,0	0,098
2	1,0	1,0	0,151
2	1,0	0,5	0,128
2	1,0	0,0	0,111
2	0,0	0,5	0,114
2	0,0	1,0	0,119
3	0,5	0,5	0,141
3	0,5	1,0	0,120
3	0,5	0,0	0,108
3	0,0	0,0	0,103
3	1,0	1,0	0,149
3	1,0	0,5	0,130
3	1,0	0,0	0,113
3	0,0	0,5	0,115
3	0,0	1,0	0,120

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

La absorbancia de las muestras de la nanoemulsión de curcumina fue proporcional a la concentración de la curcumina en la muestra. En la curva de calibración realizada se obtuvo la pendiente que corresponde al coeficiente de absortividad de la curcumina disuelta en el núcleo oleoso en el nanosistema y luego diluida en agua [100]. La muestra con mayor absorbancia fue elegida como el mejor tratamiento para incrementar la solubilidad de la curcumina mediante la formulación de una nanoemulsión.

En la Figura 14 se observa el diagrama de Pareto estandarizado sobre el porcentaje de absorbancia de curcumina, para determinar la influencia de la concentración de los emulgentes empleados en la formulación de la nanoemulsión.

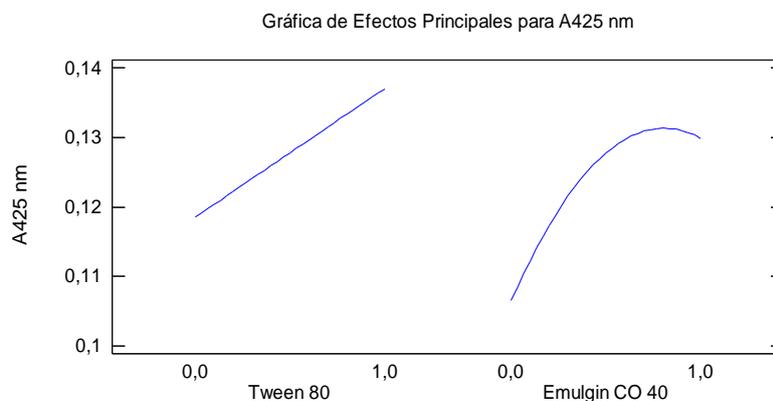


**Figura 14.** Diagrama de Pareto en determinación de solubilidad de la nanoemulsión

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Es una gráfica que verifica cuál es la mejor condición de operación para la solubilización de curcumina en la nanoemulsión, los valores registrados se organizaron en barras de mayor a menor, según las prioridades que se requieren. Además, con el diagrama de Pareto, se identificó que los niveles altos de los factores de concentración de emulgentes Tween 80 y Eumulgin CO 40 en una proporción (1:1) tienen influencia significativa sobre la variable respuesta.

La Figura 15 de efectos principales sobre el porcentaje de absorbancia de la curcumina examinó el efecto principal de la variación de la concentración de los emulgentes sobre la variable respuesta.

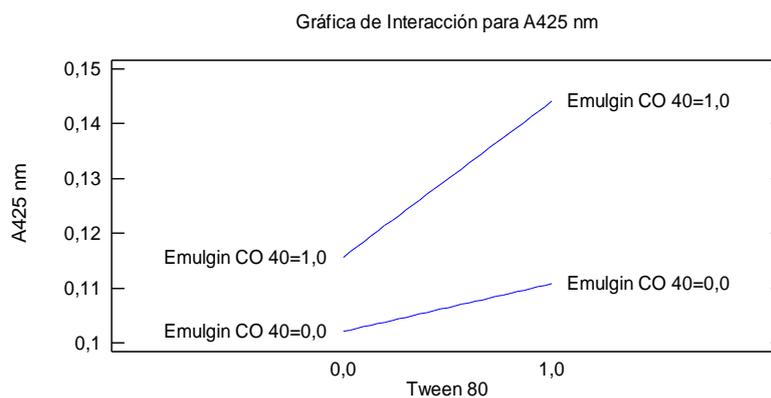


**Figura 15.** Gráfica de efectos principales en la solubilidad de la nanoemulsión.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Los factores que se consideraron para la evaluación de solubilización de nanoemulsión fueron la cantidad de Tween 80 (0,0; 0,5; 1,0 partes) y cantidad de Eumulgin CO 40 (0,0; 0,5; 1,0 partes). En la gráfica se observa que las líneas no son horizontales, lo que indica que si existe un efecto principal. Los distintos niveles de cada factor influyen de manera variable sobre la solubilidad de la nanoemulsión, por lo tanto, se evidenció en la gráfica que la cantidad de Eumulgin CO 40 tiene un efecto mayor en el proceso de solubilidad de la nanoemulsión de curcumina.

En la Figura 16 se observa la gráfica de interacción entre de la variable respuesta (absorbancia curcumina) y las categorías de los factores: concentración Tween 80 y Eumulgin CO 40.

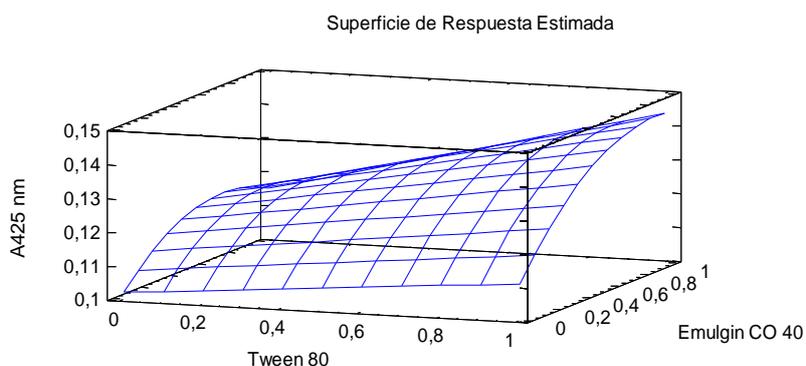


**Figura 16.** Gráfica de interacción de factores en la nanoemulsión.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

Se analizaron las líneas proyectadas con la finalidad de entender las interacciones que influyen las relaciones entre la respuesta y los factores que fueron evaluados, de tal manera, que cuando las líneas son menos paralelas existe mayor interacción. En la gráfica las líneas son poco paralelas, lo que se interpreta que los factores analizados en el proceso de la solubilización de la curcumina si tienen interacción, por lo tanto, el efecto de un factor si depende del nivel del otro factor considerado.

La Figura 17 muestra la gráfica de superficie de respuesta estimada representada en tres dimensiones, se evidencia la evolución de la repuesta en función de los factores que se consideraron la variación de las concentraciones de Tween 80 y Eumulgin CO 40.



$$A_{425 \text{ nm}} = 0,102083 + 0,00872222 * \text{Tween } 80 + 0,0520556 * \text{Emulgin CO } 40 + 0,0196667 * \text{Tween } 80 * \text{Emulgin CO } 40 - 0,0384444 * \text{Emulgin CO } 40^2$$

**Figura 17.** Gráfica de superficie de respuesta en la solubilidad de la nanoemulsión.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

En el gráfico de contornos se visualiza la manera en la que se establece esta relación, dónde cada línea de contorno representa una altura determinada de la superficie de respuesta o también se puede entender como las posibles combinaciones de los niveles de cada factor causó una misma respuesta. La validación experimental se la realizó a través de la medición de la variable respuesta alcanzando la absorbancia de la curcumina igual a 0,14 lo cual implica la respuesta más alta en cuanto a la solubilización, los niveles considerados como óptimos del proceso son concentración la concentración de Tween 80 y Eumulgin CO 40 en una proporción 1:1.

Se debe tomar en cuenta el Balance Hirdrofilico-Lipofílico (HLB) con el objetivo de medir la hidrofiliidad y lipofiliidad de los surfactantes utilizados, lo cual depende directamente del predominio de una de las partes de las moléculas, por lo tanto, el surfactante llega a tener características predominantes lipofílicas o hidrofílicas de tal manera que es posible conseguir mayor afinidad por los aceites o por el agua [90]. Mientras mayor sea el valor de HLB, mayor es su propiedad hidrofílica. El surfactante Tween 80 tienen valores altos de HLB (9,6-16,7) [101] y Eumulgin CO 40 (14-16) lo que contribuyó a obtener una nanoemulsión estable. Los tensoactivos Tween 80 y Eumulgin CO 40 por sus características fisicoquímicas y mínima capacidad micelar [102], fueron ideales para incrementar la solubilidad la curcumina en un 50 % en medio acuoso y de esa manera cumplir con el objetivo de la presente investigación. Al comparar los resultados obtenidos con trabajos de investigación similares sobre la solubilidad de la curcumina con la formulación de una nanoemulsión con metodología de

inversion de fases o formación espontánea, en estudios realizados por Hernández se incrementó la solubilidad de la curcumina en un 46 % utilizando como fase interna aceite de canola y fase externa surfactant Tween 80.

## CAPÍTULO V

### 5.1. Conclusiones

- Se incrementó la solubilidad de la curcumina extraída de la *Curcuma longa* L con mecanismos físicos y mecánicos que estaban involucrados en la metodología de inversión de fases por composición para la obtención de una nanoemulsión. El efecto físico se logró con la combinación de los componentes que fueron: extracto etanólico de curcumina, aceite vegetal, Tween 80 y Eumulgin CO 40, de manera especial tomando en cuenta estos dos últimos componentes como tensoactivos que permitieron la reducción de la región interfacial. Mientras que el efecto mecánico se aplicó mediante la agitación constante de las mezclas en el vortex de la manera que los componentes se incorporen completamente.
- Se optimizó el proceso de obtención de extractos líquidos de *Cúrcuma longa* L. mediante extracción sólida-líquida. Los factores considerados en el proceso fueron: la concentración del solvente (etanol), relación de materia vegetal con solvente (m/v), temperatura, tiempo de contacto. Fue indispensable analizar la influencia de cada factor con sus respectivos niveles y consideran los mejores niveles que contribuyan una optimización eficiente del proceso. Las concentraciones del solvente fueron de 75, 85, 95 %, con Figura 9 “gráfica de cajas y bigotes” se evidenció que el nivel de 95 % tiene mayor influencia en la extracción de curcumina. La determinación del tiempo de contacto óptimo se realizó con la interpretación de la Figura 8 que mostró que el nivel menor (90 minutos) permitió alcanzar una absorbancia mayor en las muestras y se conoce que la absorbancia es proporcional a la concentración del principio activo. El análisis de la interacción de los factores temperatura (60, 70, 80 °C) y relación de materia vegetal con disolvente (1:8, 1:12, 1:16) con sus respectivos niveles, se realizó mediante el diagrama de Pareto de la Figura 5, en el que fue factible establecer que la temperatura óptima de 80 °C y la relación (m/v) 1:8 tuvieron influencia significativa sobre el proceso. La muestra EMC73 presentó un alto rendimiento de sólidos solubles totales (SST)  $0,92 \pm 0,00$  % y el rendimiento de sólidos extraídos  $6,07 \pm 0,26$  %.
- Se determinó con espectroscopía UV-Vis la concentración de curcumina de los extractos líquidos, conociendo que la absorbancia es directamente proporcional a

compuesto de interés, es así que las muestras se analizaron a una longitud de onda de 425 nm (específico para curcumina). La muestra EMC73 obtuvo mayor porcentaje de curcumina 22,72 %, a su vez se confirmó que los parámetros considerados durante la extracción sólida- líquida fueron óptimos para alcanzar la eficacia del proceso.

- Se aplicaron mecanismos físicos y mecánicos para incrementar la solubilidad de la curcumina extraída a partir de *Curcuma longa* L, porque se empleó metodología de formación espontánea por inversión de fases para la obtención de una nanoemulsión, debido a que es una alternativa eficiente y además no requiere grandes inversiones económicas. Los factores que intervinieron directamente en la inversión de fases fueron: la agitación constante, el tipo tensoactivos y la concentración de los componentes. El mecanismo físico fue la mezcla en proporciones determinadas de los tensoactivos no iónicos Tween 80 y Eumulgin CO 40 con la finalidad de disminuir la tensión interfacial y garantizar la emulsificación. Mientras que la agitación (efecto mecánico) de la mezcla se realizó en un vortex durante 1 minuto, para que interactúen todos los componentes de la mezcla y favorecer la homogeneidad de la nanoemulsión.
- Se incrementó la solubilidad de la curcumina extraída de la *Curcuma longa* L mediante una nanoemulsión que resultó una alternativa eficiente para aumentar su solubilidad en medios acuosos, porque este principio activo tiene baja biodisponibilidad. En la formulación de la nanoemulsión, la composición y concentración de reactivos fueron relevantes para obtener un producto que cumpla con el objetivo de la investigación; es así que la mezcla de Tween 80 con extracto líquido y aceite vegetal se analizaron en distintas proporciones, resultando como óptima las concentraciones 45 % y 35 % respectivamente, pues se obtuvo una transmitancia de 67,92 %, consideradamente alta respecto a los demás tratamientos, lo cual indica que a mayor transmitancia menor es el tamaño de las partículas suspendidas en la nanoemulsión. La solubilidad se evaluó con la variación de las cantidades de tensoactivos no iónicos Tween 80 y Eumulgin CO 40, por lo tanto, la proporción óptima de los tensoactivos fue 1:1 porque cumplieron la función de estabilización y capacidad de absorción rápida en la fase dispersa evitando la coalescencia. Además, otro factor importante fue la solubilidad en la fase continua, lo cual facilita el efecto emulsificante en la mezcla en altas y bajas

concentraciones. La cuantificación de concentración de curcumina en la nanoemulsión se realizó con la medida de absorbancia de la muestra resultando 0,14 lo cual representa una relación directamente proporcional con la concentración del principio activo de interés, por lo tanto, se puede concluir que la nanoemulsión incrementó en un 50 % su solubilidad en medios acuosos.

## 5.2. Recomendaciones

- Con el objetivo de incrementar el rendimiento de extracción de la curcumina aplicar ultrasonido, pues esta metodología permite que se acoplen las ondas de ultrasonido de alta potencia y baja frecuencia en una mezcla de material vegetal con disolvente. Además, las ventajas de la extracción de compuestos fitoquímicos por ultrasonido garantizan mejor calidad de los extractos, escalabilidad lineal y es un método que tiene un mínimo de contaminación con el medio ambiente.
- Evaluar las actividades biológicas de la nanoemulsión de curcumina extraída a partir de *Curcuma longa* L. con experimentación *in vitro* e *in vivo*.
- Profundizar y determinar el mecanismo de acción de la curcumina como compuesto fitoquímico antiinflamatorio, citotóxico, quimiopreventivo.

### 5.3. Bibliografía:

- [1] P. Morales, M. C. Sánchez-Mata, and M. Cámara, “Importancia de la presencia de compuestos bioactivos en los vegetales - Poscosecha,” 2015. <https://www.interempresas.net/Poscosecha/Articulos/133699-Importancia-de-la-presencia-de-compuestos-bioactivos-en-los-vegetales.html> (accessed Feb. 21, 2020).
- [2] F. H. Chalé, D. B. Ancona, and M. R. S. Campos, “Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos,” *Nutricion Hospitalaria*, vol. 29, no. 1. Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE), pp. 10–20, 2014, doi: 10.3305/nh.2014.29.1.6990.
- [3] N. Martínez-Navarrete, M. del Mar Camacho Vidal, and J. José Martínez Lahuerta, “Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud,” *Actividad Dietetica*, vol. 12, no. 2. pp. 64–68, 2008, doi: 10.1016/S1138-0322(08)75623-2.
- [4] MAGAP, “Desde Taihsa transportan 5.152 kilogramos de cúrcuma y jengibre – Ministerio de Agricultura y Ganadería,” *Ministerio de Agricultura y Ganadería*, 2019. <https://www.agricultura.gob.ec/desde-taihsa-transportan-5-152-kilogramos-de-curcuma-y-jengibre/> (accessed Feb. 27, 2020).
- [5] R. A. Freire-González and M. Vistel-Vigo, “Caracterización fitoquímica de la Curcuma longa L.,” *Rev. Cuba. Química*, vol. 27, no. 1, pp. 9–18, 2015, Accessed: Feb. 22, 2020. [Online]. Available: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212015000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212015000100001).
- [6] L. L. García Ariza, J. H. O. Montes Quim, J. I. Sierra Acevedo, and L. Padilla Sanabria, “Biological activity of three curcuminoids from curcuma longa L. (Turmeric) grown in Quindío, Colombia.,” *Rev. Cuba. Plantas Med.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–14, 2017, [Online]. Available: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-85027966635&partnerID=MN8TOARS>.
- [7] P. Saiz De Cos, “Cúrcuma I (Curcuma longa L.),” *Reduca (Biología). Ser. Botánica*, vol. 7, no. 2, pp. 84–99, 2014, Accessed: Feb. 16, 2020. [Online]. Available: [https://eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA\\_Paula\\_Saiz.pdf](https://eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA_Paula_Saiz.pdf).
- [8] P. Saiz De Cos, “Cúrcuma I (Curcuma longa L.),” *Reduca (Biología). Ser. Botánica*, vol. 7, no. 2, pp. 84–99, 2014, Accessed: Apr. 24, 2021. [Online]. Available:

www.eol.org.

- [9] V. Mora Villagomez, “Elaboración de Crema Cosmética Anti-edad a Base de Cúrcuma Longa y sus Características Físico-Químico y análisis Sensorial,” 2014.
- [10] I. Chattopadhyay, K. Biswas, U. Bandyopadhyay, and R. Banerjee, “Turmeric and Curcumin: Biological actions and medicinal applications,” *Curr Sci*, vol. 87, 2003, Accessed: Feb. 16, 2020. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/237635269\\_Turmeric\\_and\\_Curcumin\\_Biological\\_actions\\_and\\_medicinal\\_applicationsnd\\_medicinal\\_applications](https://www.researchgate.net/publication/237635269_Turmeric_and_Curcumin_Biological_actions_and_medicinal_applicationsnd_medicinal_applications).
- [11] USDA, “National Nutrient Database for Standard Reference Release 1 April , 2018 Basic Report 11134 , Cassava , raw,” *Natl. Agric. Libr.*, p. 2, 2018, Accessed: May 02, 2021. [Online]. Available: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2311?manu=&fgcd=&ds=>.
- [12] N. Y. Qin, F. Q. Yang, Y. T. Wang, and S. P. Li, “Quantitative determination of eight components in rhizome (Jianghuang) and tuberous root (Yujin) of *Curcuma longa* using pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 43, no. 2, pp. 486–492, 2007, doi: 10.1016/j.jpba.2006.07.034.
- [13] E. Ríos, A. Duque, and D. León, “Caracterización espectroscópica y cromatográfica de curcumina extraída de los rizomas de Cúrcuma (cúrcuma longa l.) Cultivada en el departamento del Quindío,” *Rev. Investig. la Univ. del Quindío*, vol. 19, no. 18, pp. 18–22, 2009, [Online]. Available: [http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/76df\\_n1903.pdf](http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/76df_n1903.pdf).
- [14] L. Kao, C. R. Chen, and C. M. J. Chang, “Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of turmerones from turmeric and high-pressure phase equilibrium of CO<sub>2</sub> + turmerones,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 43, no. 2, pp. 276–282, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.supflu.2007.06.007.
- [15] R. A. Taylor and M. C. Leonard, “Curcumin for inflammatory bowel disease: A review of human studies,” *Alternative Medicine Review*, vol. 16, no. 2, pp. 152–156, Jun. 2011.
- [16] J. A. Casas, H. J. Castillo, J. M. Noy, A. N. Palomares, and R. L. Rodríguez, “Elaboración de papel indicador a base de extractos naturales: una alternativa fundamentada en experiencias de laboratorio para el aprendizaje del concepto de pH,”

- Rev. Eureka sobre enseñanza y Divulg. las ciencias*, vol. 6, no. 2, pp. 302–314, 2009, doi: 10.25267/rev\_eureka\_ensen\_divulg\_cienc.2009.v6.i2.09.
- [17] Y.-J. Wang *et al.*, “Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 15, no. 12, pp. 1867–1876, Aug. 1997, doi: 10.1016/S0731-7085(96)02024-9.
- [18] GenomeNet, “DBGET Search Result: REACTION NAD.” [https://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bfind\\_sub?mode=bfind&max\\_hit=1000&locale=en&serv=gn&dbkey=alldb&keywords=curcumina&page=1](https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bfind_sub?mode=bfind&max_hit=1000&locale=en&serv=gn&dbkey=alldb&keywords=curcumina&page=1) (accessed May 02, 2021).
- [19] J. Zhao, J. S. Zhang, B. Yang, G. P. Lv, and S. P. Li, “Free radical scavenging activity and characterization of sesquiterpenoids in four species of curcuma using a TLC bioautography assay and GC-MS analysis,” *Molecules*, vol. 15, no. 11, pp. 7547–7557, 2010, doi: 10.3390/molecules15117547.
- [20] Testex, “Teñido De Cúrcuma De Tela De Seda,” 2017. <https://www.testertextile.com/es/Tela-de-seda-de-teñido-de-cúrcuma/> (accessed May 11, 2021).
- [21] C. M. Salinas, “Teñido de textiles de algodón con tinte vegetal de cúrcuma,” 2018, Accessed: May 11, 2021. [Online]. Available: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/4315>.
- [22] E. Ríos, A. Duque, and D. León, “Caracterización espectroscópica y cromatográfica de curcumina extraída de los rizomas de Cúrcuma (cúrcuma longa L.) Cultivada en el departamento del Quindío,” *Rev. Investig. la Univ. del Quindio*, vol. 19, no. 18, pp. 18–22, 2009, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: [http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/76df\\_n1903.pdf](http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/76df_n1903.pdf).
- [23] G. K. Jayaprakasha, L. Jagan Mohan Rao, and K. K. Sakariah, “Chemistry and biological activities of *C. longa*,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 16, no. 12, pp. 533–548, Dec. 2005, doi: 10.1016/J.TIFS.2005.08.006.
- [24] A. Benavides Mendoza, A., Hernández Valencia, R. E., Rampirez Rodríguez, H., Sandoval Rangel, *Tratado de botánica económica moderna*. 2010.

- [25] A. Goel, A. B. Kunnumakkara, and B. B. Aggarwal, "Curcumin as 'Curecumin': From kitchen to clinic," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 75, no. 4, pp. 787–809, Feb. 2008, doi: 10.1016/j.bcp.2007.08.016.
- [26] R. Freire González and M. Vistel Vigo, "Caracterización fitoquímica de la *Curcuma longa* L.," *Rev. Cuba. Química*, vol. 27, no. 1, pp. 9–18, 2015, Accessed: Apr. 25, 2021. [Online]. Available: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212015000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212015000100001).
- [27] B. Chandran and A. Goel, "A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis," *Phyther. Res.*, vol. 26, no. 11, pp. 1719–1725, Nov. 2012, doi: 10.1002/ptr.4639.
- [28] R. A. Taylor and M. C. Leonard, "Curcumin for inflammatory bowel disease: A review of human studies," *Alternative Medicine Review*, vol. 16, no. 2, pp. 152–156, 2011, Accessed: Apr. 27, 2021. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21649456/>.
- [29] J. Witkin and X. Li, "Curcumin, an Active Constituent of the Ancient Medicinal Herb *Curcuma longa* L.: Some Uses and the Establishment and Biological Basis of Medical Efficacy," *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets*, vol. 12, no. 4, pp. 487–497, Jun. 2013, doi: 10.2174/1871527311312040007.
- [30] G. Dhar *et al.*, "Actin-curcumin interaction: Insights into the mechanism of actin polymerization inhibition," *Biochemistry*, vol. 54, no. 4, pp. 1132–1143, Feb. 2015, doi: 10.1021/bi5014408.
- [31] K. S. Bhullar, A. Jha, D. Youssef, and H. P. V. Rupasinghe, "Curcumin and its carbocyclic analogs: Structure-activity in relation to antioxidant and selected biological properties," *Molecules*, vol. 18, no. 5, pp. 5389–5404, May 2013, doi: 10.3390/molecules18055389.
- [32] A. K. Slavova-Kazakova *et al.*, "Antioxidant potential of curcumin-related compounds studied by chemiluminescence kinetics, chain-breaking efficiencies, scavenging activity (ORAC) and DFT calculations," *Beilstein J. Org. Chem.*, vol. 11, pp. 1398–1411, Aug. 2015, doi: 10.3762/bjoc.11.151.
- [33] M. Fiala, "Curcumin and omega-3 fatty acids enhance NK cell-induced apoptosis of

- pancreatic cancer cells but curcumin Inhibits Interferon- $\gamma$  production: Benefits of omega-3 with curcumin against cancer,” *Molecules*, vol. 20, no. 2. MDPI AG, pp. 3020–3026, Feb. 01, 2015, doi: 10.3390/molecules20023020.
- [34] O. Vajragupta, P. Boonchoong, G. M. Morris, and A. J. Olson, “Active site binding modes of curcumin in HIV-1 protease and integrase,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 15, no. 14, pp. 3364–3368, Jul. 2005, doi: 10.1016/J.BMCL.2005.05.032.
- [35] N. M. Álvarez, A. A. Ortíz, and O. C. Martínez, “Actividad antibacteriana in vitro de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia,” *Rev. Biol. Trop.*, vol. 64, no. 3, pp. 1201–1208, Sep. 2016, doi: 10.15517/rbt.v64i3.20848.
- [36] A. H. Cardona Echeverry, D. F. Uribe Yunda, and F. M. Cortés-Mancera, “Actividad antitumoral de la curcumina asociada a la regulación de mecanismos epigenéticos: implicaciones en la vía Wnt/-catenina,” *Rev. Cuba. Plantas Med.*, vol. 21, no. 4, pp. 0–0, 2016, Accessed: May 09, 2021. [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu>.
- [37] Y. Chen, W. Shu, W. Chen, Q. Wu, H. Liu, and G. Cui, “Curcumin, both histone deacetylase and p300/CBP-specific inhibitor, represses the activity of nuclear factor kappa B and Notch 1 in Raji cells,” *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 101, no. 6, pp. 427–433, Dec. 2007, doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00142.x.
- [38] C. Oneyda and A. Alfonso, “Avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal *Curcuma longa* Linn,” *Medisan*, vol. 16, no. 1, pp. 97–114, 2012, Accessed: May 09, 2021. [Online]. Available: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192012000100013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000100013).
- [39] A. Saha, T. Kuzuhara, N. Echigo, A. Fujii, M. Suganuma, and H. Fujiki, “Apoptosis of human lung cancer cells by curcumin mediated through up-regulation of ‘growth arrest and DNA damage inducible genes 45 and 153,’” *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 33, no. 8, pp. 1291–1299, 2010, doi: 10.1248/bpb.33.1291.
- [40] L. Non, D. Duong, and D. M. Peehl, “Chemopreventive anti-inflammatory activities of curcumin and other phytochemicals mediated by MAP kinase phosphatase-5 in prostate cells,” *Carcinogenesis*, vol. 28, no. 6, pp. 1188–1196, Jun. 2007, doi: 10.1093/carcin/bgl241.

- [41] E. Soria, “Modulación del efecto citotóxico del arsénico por moléculas bioactivas,” *Universidad Nacional de Cordoba*, 2009. <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/217> (accessed May 08, 2021).
- [42] C. Oneyda and A. Alfonso, “Avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal *Curcuma longa* Linn,” *Medisan*, vol. 16, no. 1, pp. 97–114, 2012, Accessed: May 08, 2021. [Online]. Available: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192012000100013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000100013).
- [43] E. O. Farombi, S. O. Abarikwu, I. A. Adedara, and M. O. Oyeyemi, “Curcumin and kolaviron ameliorate di-n-butylphthalate-induced testicular damage in rats,” *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 100, no. 1, pp. 43–48, Jan. 2007, doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00005.x.
- [44] J. Cao *et al.*, “Curcumin attenuates acrylamide-induced cytotoxicity and genotoxicity in HepG2 cells by ROS scavenging,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 24, pp. 12059–12063, Dec. 2008, doi: 10.1021/jf8026827.
- [45] E. Kheradpezhohu *et al.*, “Curcumin protects rats against acetaminophen-induced hepatorenal damages and shows synergistic activity with N-acetyl cysteine,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 628, no. 1–3, pp. 274–281, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.ejphar.2009.11.027.
- [46] C. F. Lima, C. Pereira-Wilson, and S. I. S. Rattan, “Curcumin induces heme oxygenase-1 in normal human skin fibroblasts through redox signaling: Relevance for anti-aging intervention,” *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 55, no. 3, pp. 430–442, Mar. 2011, doi: 10.1002/mnfr.201000221.
- [47] J. Bautista, *Obtención de extractos con propiedades antioxidante de Curcuma longa L.* 2017.
- [48] D. Oña and D. Molina, “Repositorio Digital: Diseño y construcción de un prototipo de un Espectrofotómetro,” Universidad Central del Ecuador, 2017.
- [49] Y. Choque, “Determinación de espectros de emisión de colorantes orgánicos: Cumarina, B-caroteno y Curcumina; mediante espectroscopía láser para potenciales aplicaciones biológicas y médicas,” *Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann*, 2018. <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3739> (accessed May 16, 2021).

- [50] A. Goel, A. B. Kunnumakkara, and B. B. Aggarwal, “Curcumin as ‘Curecumin’: From kitchen to clinic,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 75, no. 4, pp. 787–809, Feb. 2008, doi: 10.1016/j.bcp.2007.08.016.
- [51] J. Epstein, I. R. Sanderson, and T. T. MacDonald, “Curcumin as a therapeutic agent: The evidence from in vitro, animal and human studies,” *British Journal of Nutrition*, vol. 103, no. 11, pp. 1545–1557, Jun. 2010, doi: 10.1017/S0007114509993667.
- [52] C. Anandharamakrishnan, *Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients*. New York, NY: Springer New York, 2014.
- [53] D. J. McClements and J. Rao, “Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 51, no. 4, pp. 285–330, Apr. 2011, doi: 10.1080/10408398.2011.559558.
- [54] K. . Hernández, “Caracterización y digestión gastrointestinal de cápsulas líquidas de curcumina (*Curcuma longa* L.),” 2017.
- [55] M. Y. Koroleva and E. V Yurtov, “Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications,” *Russ. Chem. Rev.*, vol. 81, no. 1, pp. 21–43, Jan. 2012, doi: 10.1070/rc2012v081n01abeh004219.
- [56] M. M. Fryd and T. G. Mason, “Advanced Nanoemulsions,” *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 63, no. 1, pp. 493–518, May 2012, doi: 10.1146/annurev-physchem-032210-103436.
- [57] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans, “Formation and stability of nanoemulsions,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 108–109, pp. 303–318, May 2004, doi: 10.1016/J.CIS.2003.10.023.
- [58] N. Anton and T. F. Vandamme, “The universality of low-energy nano-emulsification,” *Int. J. Pharm.*, vol. 377, no. 1–2, pp. 142–147, Jul. 2009, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2009.05.014.
- [59] G. Mason, K. Meleson, J. Wiliking, and C. Chang, “(PDF) Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 18, no. 41, 2016, doi: 10.1088/0953-8984/18/41/R01.
- [60] J. Cannon and M. Long, “Emulsions, Microemulsions, and Lipid-Based Drug Delivery

- Systems for Drug Solubilization and Delivery—Part II,” in *Water-Insoluble Drug Formulation, Second Edition*, CRC Press, 2008, pp. 227–254.
- [61] L. Mao, D. Xu, J. Yang, F. Yuan, Y. Gao, and J. Zhao, “Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 47, no. 3, pp. 336–342, 2009, Accessed: May 22, 2021. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/237577307\\_Effects\\_of\\_Small\\_and\\_Large\\_Molecule\\_Emulsifiers\\_on\\_the\\_Characteristics\\_of\\_b-Carotene\\_Nanoemulsions\\_Prepared\\_by\\_High\\_Pressure\\_Homogenization](https://www.researchgate.net/publication/237577307_Effects_of_Small_and_Large_Molecule_Emulsifiers_on_the_Characteristics_of_b-Carotene_Nanoemulsions_Prepared_by_High_Pressure_Homogenization).
- [62] P. N. Ezhilarasi, P. Karthik, N. Chhanwal, and C. Anandharamakrishnan, “Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review,” *Food and Bioprocess Technology*, vol. 6, no. 3. Springer Science and Business Media, LLC, pp. 628–647, Mar. 01, 2013, doi: 10.1007/s11947-012-0944-0.
- [63] S. Abbas, K. Hayat, E. Karangwa, M. Bashari, and X. Zhang, “An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions,” *Food Engineering Reviews*, vol. 5, no. 3. Springer, pp. 139–157, Sep. 05, 2013, doi: 10.1007/s12393-013-9066-3.
- [64] F. Donsì, M. Sessa, H. Mediouni, A. Mgaidi, and G. Ferrari, “Encapsulation of bioactive compounds in nanoemulsion- based delivery systems,” *Procedia Food Sci.*, vol. 1, pp. 1666–1671, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.profoo.2011.09.246.
- [65] R. Liang, C. F. Shoemaker, X. Yang, F. Zhong, and Q. Huang, “Stability and bioaccessibility of  $\beta$ -carotene in nanoemulsions stabilized by modified starches,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, no. 6, pp. 1249–1257, Feb. 2013, doi: 10.1021/jf303967f.
- [66] S. Mahdi Jafari, Y. He, and B. Bhandari, “Nano-emulsion production by sonication and microfluidization - A comparison,” *Int. J. Food Prop.*, vol. 9, no. 3, pp. 475–485, Sep. 2006, doi: 10.1080/10942910600596464.
- [67] T. S. H. Leong, T. J. Wooster, S. E. Kentish, and M. Ashokkumar, “Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 16, no. 6, pp. 721–727, 2009, doi: 10.1016/j.ultsonch.2009.02.008.
- [68] S. Abbas, K. Hayat, E. Karangwa, M. Bashari, and X. Zhang, “An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions,” *Food Engineering Reviews*, vol. 5,

- no. 3. Springer, pp. 139–157, Sep. 05, 2013, doi: 10.1007/s12393-013-9066-3.
- [69] A. J. Choi, C. J. Kim, Y. J. Cho, J. K. Hwang, and C. T. Kim, “Characterization of Capsaicin-Loaded Nanoemulsions Stabilized with Alginate and Chitosan by Self-assembly,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 4, no. 6, pp. 1119–1126, Aug. 2011, doi: 10.1007/s11947-011-0568-9.
- [70] S. Sajjadi, F. Jahanzad, and M. Yianneskis, “Catastrophic phase inversion of abnormal emulsions in the vicinity of the locus of transitional inversion,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 240, no. 1–3, pp. 149–155, Jun. 2004, doi: 10.1016/j.colsurfa.2004.03.012.
- [71] V. Ghosh, A. Mukherjee, and N. Chandrasekaran, “Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 20, no. 1, pp. 338–344, 2013, doi: 10.1016/j.ultsonch.2012.08.010.
- [72] D. J. McClements, “Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance,” *Soft Matter*, vol. 7, no. 6. The Royal Society of Chemistry, pp. 2297–2316, Mar. 21, 2011, doi: 10.1039/c0sm00549e.
- [73] T. G. Mason, J. N. Wilking, K. Meleson, C. B. Chang, and S. M. Graves, “Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 18, no. 41, p. R635, Oct. 2006, doi: 10.1088/0953-8984/18/41/R01.
- [74] L. Salvia-Trujillo, R. Soliva-Fortuny, M. A. Rojas-Graü, D. J. McClements, and O. Martín-Belloso, “Edible Nanoemulsions as Carriers of Active Ingredients: A Review,” *Annual Review of Food Science and Technology*, vol. 8. Annual Reviews Inc., pp. 439–466, Feb. 28, 2017, doi: 10.1146/annurev-food-030216-025908.
- [75] H. Yu and Q. Huang, “Improving the oral bioavailability of curcumin using novel organogel-based nanoemulsions,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, no. 21, pp. 5373–5379, May 2012, doi: 10.1021/jf300609p.
- [76] E. V. Moya Castillo, “Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los extractos vegetales de Marco (*Ambrosia arborescens*) y Quishuar (*Buddleja incana*), obtenidos mediante secado por aspersion.” 2017.
- [77] G. I. Rosa A Freire and V. Ii, Marlén Vistel, “Caracterización Fitoquímica De La Curcuma,” *Rev. Cuba. Quim.*, vol. 27, no. 1, pp. 9–18, 2015.

- [78] J. A. Alzate Ceballos, A. López-Padilla, J. A. Caicedo, and J. A. Cano Salazar, “Obtención del complejo ciclodextrina-curcumina y su uso como reemplazante de tartrazina,” *Rev. Lasallista Investig.*, vol. 9, no. 2, pp. 75–86, 2013.
- [79] L. E. R. Robles, M. S. Domínguez, and F. G. Escobar, “Formulation and characterization of oil-in-water microemulsions for enhanced solubility and stability of curcumin,” in *Proceedings of the LACCEI international Multi-conference for Engineering, Education and Technology*, 2019, vol. 2019-July, doi: 10.18687/LACCEI2019.1.1.224.
- [80] G. . Cardoso and M. T. Jiménez, “Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones,” *Temas Sel. Ing. Aliment.*, vol. 9, pp. 15–24, 2015, [Online]. Available: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Cardoso-Ugarte-et-al-2015.pdf>.
- [81] J. González-Albadalejo, D. Sanz, R. M. Claramunt, J. L. Lavandera, I. Alkorta, and J. Elguero, “Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies and biological properties Title in Spanish: Curcumina y curcuminoides: química, estudios estructurales y propiedades biológicas ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA,” *An Real Acad Farm*, vol. 81, pp. 278–310, 2015.
- [82] F. Amaguaña and E. Churuchumbi, “Estandarización fitoquímica del extracto de Caléndula (*Calendula officinalis*),” 2018.
- [83] E. Amyrgialaki, D. P. Makris, A. Mauromoustakos, and P. Kefalas, “Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 59, pp. 216–222, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.05.011.
- [84] P. Deysi, S. Yamile, O. Susana, and O.-T. J. Felipe, “Obtención de extractos de cúrcuma (*Curcuma longa*) mediante extracción asistida por ultrasonido.”
- [85] J. F. Osorio-Tobón, P. I. N. Carvalho, M. A. Rostagno, A. J. Petenate, and M. A. A. Meireles, “Extraction of curcuminoids from deflavored turmeric (*Curcuma longa* L.) using pressurized liquids: Process integration and economic evaluation,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 95, pp. 167–174, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.supflu.2014.08.012.
- [86] A. Forgiarini, J. Esquena, C. González, and C. Solans, “Studies of the relation between phase behavior and emulsification methods with nanoemulsion formation,” *Prog. Colloid Polym. Sci.*, vol. 115, pp. 36–39, 2000, doi: 10.1007/3-540-46545-6\_8.

- [87] L. Farias and V. Merola, “Propiedades de los fluidos del yacimiento - Leopoldo Farías Rodríguez - Google Libros,” 2014. <https://books.google.com.ec/books?id=3VApEAAAQBAJ&pg=PA435&lpg=PA435&dq=que+tiene+que+ver+la+transmitanci+con+la+solubilidad&source=bl&ots=ltetuDd6-H&sig=ACfU3U1EdH2PArO9SkvSZ28pvG9E1Z0Uog&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiygoyXg6zxAhW1QzABHcaECvEQ6AEwDXoECBAQAw> (accessed Jun. 24, 2021).
- [88] P. Izquierdo *et al.*, “Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method,” *Langmuir*, vol. 18, no. 1, pp. 26–30, Jan. 2002, doi: 10.1021/la010808c.
- [89] D. J. McClements, “Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles,” *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, vol. 17, no. 5. Elsevier, pp. 235–245, Oct. 01, 2012, doi: 10.1016/j.cocis.2012.06.002.
- [90] M. Moreno, “DESARROLLO DE NANOEMULSIONES DE ACEITES ESENCIALES CÍTRICOS ESTABILIZADAS CON GOMAS DE ORIGEN NATURAL,” *Moreno, Maira.*, 2013.
- [91] C. Tejada, “EMULSIONANTES Y FABRICACIÓN DE COSMÉTICOS,” 2016.
- [92] C. Carrión, “Emulgentes tensioactivos – Instituto de Dermocosmética,” 2017. <https://www.institutodermocosmetica.com/fichas-tecnicas/emulgentes-tensioactivos/> (accessed Jun. 24, 2021).
- [93] I. Kobayashi, M. Yasuno, S. Iwamoto, A. Shono, K. Satoh, and M. Nakajima, “Microscopic observation of emulsion droplet formation from a polycarbonate membrane,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 207, no. 1–3, pp. 185–196, Jul. 2002, doi: 10.1016/S0927-7757(02)00093-6.
- [94] V. Schröder and H. Schubert, “Production of emulsions using microporous, ceramic membranes,” in *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Jul. 1999, vol. 152, no. 1–2, pp. 103–109, doi: 10.1016/S0927-7757(98)00688-8.
- [95] P. Walstra, “Emulsions (chapter 8) — Research@WUR,” 2005. <https://research.wur.nl/en/publications/emulsions-chapter-8> (accessed Jun. 25, 2021).
- [96] O. Sonneville-Aubrun, J. T. Simonnet, and F. L’Alloret, “Nanoemulsions: A new

- vehicle for skincare products,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 108–109, pp. 145–149, May 2004, doi: 10.1016/j.cis.2003.10.026.
- [97] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans, “Formation and stability of nano-emulsions,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 108–109, pp. 303–318, May 2004, doi: 10.1016/j.cis.2003.10.023.
- [98] M. J. Rosen and J. T. Kunjappu, *Surfactants and Interfacial Phenomena: Fourth Edition*. John Wiley and Sons, 2012.
- [99] J.-L. Salager, “LABORATORIO DE FORMULACION, INTERFASES REOLOGIA Y PROCESOS UNIVERSIDAD DE LOS ANDES FACULTAD DE INGENIERIA ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA Doble Capa Eléctrica Interfacial \*\*\*\*\* CUADERNO FIRP S610-A CUADERNO FIRP S610-A en español,” 1998.
- [100] M. Silva, “Estabilización de la curcumina mediante su encapsulación en nanosistemas O/W: estudio de la fotólisis y oxidación,” 2017.
- [101] S. K. Hait and S. P. Moulik, “Determination of Critical Micelle Concentration (CMC) of Nonionic Surfactants by Donor-Acceptor Interaction with Iodine and Correlation of CMC with Hydrophile-Lipophile Balance and Other Parameters of the Surfactants,” *J. Surfactants Deterg.*, vol. 4, no. 3, pp. 303–309, 2001, doi: 10.1007/s11743-001-0184-2.
- [102] C. U. Moreno-Medina, M. B. D. Luz De, E. Ríos-Leal, J. Barrera-Cortés, N. Rinderknecht-Seijas, and H. M. Poggi-Varaldo, “Incremento de la solubilización de percloroetileno con un tensoactivo no iónico,” in *Interciencia*, 2011, vol. 36, no. 3, pp. 224–228, Accessed: Jun. 25, 2021. [Online]. Available: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3580879>.

#### 5.4. Anexos



**Figura 18.** Rizomas de cúrcuma pulverizados

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 19.** Proceso de Extracción de curcumina en baño maría con agitación constante

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 20.** Extractos etanólicos filtrados.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 21.** Almacenamiento de extractos líquidos.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 22.** Determinación de humedad de los extractos líquidos de cúrcuma.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 23.** Preparación de muestras para determinación de curcumina por espectroscopía UV-Vis.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 24.** Preparación de curva patrón para determinación de curcumina.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 24.** Dilución de extractos líquidos para determinación de curcumina.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 25.** Preparación de Nanoemulsiones de curcumina

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



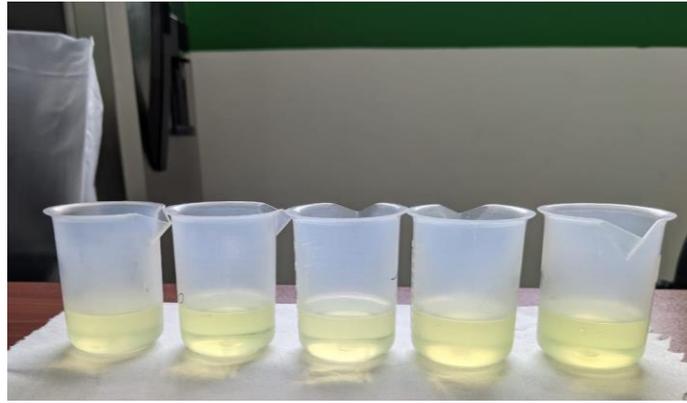
**Figura 26.** Dilución de las nanoemulsiones de curcumina

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 27.** Muestras diluidas de la nanoemulsión de curcumina en celdas de cuarzo

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo



**Figura 28.** Solubilización de las nanoemulsiones de curcumina

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

- Análisis de Varianza para porcentaje de curcumina**

**Tabla 10.** ANOVA-Curcumina

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Textraccion	32,5184	1	32,5184	8,21	0,0133
B:Relacion mv vd	237,132	1	237,132	59,88	0,0000
AA	143,002	1	143,002	36,11	0,0000
bloques	0,0000045	1	0,0000045	0,00	0,9992
Error total	51,4795	13	3,95996		
Total (corr.)	464,131	17			

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

R-cuadrada = 88,9084 por ciento  
 curcumina = 305,448 - 8,20622\*Textraccion - 1,11133\*Relacion mv vd +  
 0,0597917\*Textraccion<sup>2</sup>

**Optimizar Respuesta**

Meta: maximizar curcumina

Valor óptimo = 22,7265

**Tabla 11.** Factores considerados en la extracción de curcumina

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
---------------	-------------	-------------	---------------

Temperatura de extracción	60,0	80,0	80,0
Relación mv/vd	8,0	16,0	8,0

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

- **Análisis de Varianza para tiempo de extracción**

**Tabla 12.** ANOVA-Tiempo de extracción

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	42,9883	2	21,4942	42988348,00	0,0000
Intra grupos	0,0000015	3	5,E-7		
Total (Corr.)	42,9883	5			

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

**Tabla 13.** Pruebas de Múltiple Rangos de tiempo de extracción- Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
<b>t135</b>	2	16,3305	X
<b>t180</b>	2	17,5715	X
<b>t90</b>	2	22,5265	X

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

**Tabla 14.** Determinación de Diferencias significativas en niveles de tiempo del proceso de extracción

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
<b>t90 - t135</b>	*	6,196	0,00225033
<b>t90 - t180</b>	*	4,955	0,00225033
<b>t135 - t180</b>	*	-1,241	0,00225033

\* indica una diferencia significativa.

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

- **Análisis de Varianza para concentración de etanol**

**Tabla 15.** ANOVA-Concentración de solvente

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	14,6596	2	7,32978	14659561,33	0,0000
Intra grupos	0,0000015	3	5,E-7		
Total (Corr.)	14,6596	5			

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

**Tabla 16.** Pruebas de Múltiple Rangos de concentración del solvente- Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
<b>c85</b>	2	18,7605	X
<b>c75</b>	2	20,0455	X
<b>c95</b>	2	22,5265	X

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

**Tabla 17.** Determinación de Diferencias significativas entre los niveles de concentración de solvente

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
<b>c75 - c85</b>	*	1,285	0,00225033
<b>c75 - c95</b>	*	-2,481	0,00225033
<b>c85 - c95</b>	*	-3,766	0,00225033

\* indica una diferencia significativa.

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

- **Análisis de Varianza para nanoemulsión de curcumina**

**Tabla 18.** Factores considerados en la formulación de nanoemulsión

<i>Factores</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Unidades</i>	<i>Continuo</i>
Aceite	35	45	%	Sí

Mezcla Extracto Tween 80	35	45	%	Sí
--------------------------	----	----	---	----

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

<i>Respuestas</i>	<i>Unidades</i>
Separación	%
%T 425 nm	%

**Tabla 19.** Análisis de Varianza para %T 425 nm

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Aceite	781,442	1	781,442	62,45	0,0000
B:Mezcla Extracto Tween 80	765,709	1	765,709	61,19	0,0000
AA	152,679	1	152,679	12,20	0,0023
AB	81,12	1	81,12	6,48	0,0192
bloques	1,07185	2	0,535926	0,04	0,9582
Error total	250,275	20	12,5137		
Total (corr.)	2032,3	26			

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

R-cuadrada = 87,6851 porciento

$\%T\ 425\ nm = 204,144 - 13,3 * Aceite + 5,46444 * Mezcla\ Extracto\ Tween\ 80 + 0,201778 * Aceite^2 - 0,104 * Aceite * Mezcla\ Extracto\ Tween\ 80$

### Optimizar Respuesta

Meta: maximizar %T 425 nm

Valor óptimo = 67,9222

**Tabla 20.** Niveles óptimos en la formulación de la nanoemulsión

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Aceite	35,0	45,0	35,0

Mezcla Extracto Tween 80	35,0	45,0	45,0
--------------------------	------	------	------

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

- **Análisis de Varianza para solubilización de curcumina**

**Tabla 21.** Factores considerados en la solubilidad de la nanoemulsión

<i>Factores</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Unidades</i>	<i>Continuo</i>
Tween 80	0	1	-	Sí
Emulgin CO 40	0	1	-	Sí

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

<i>Respuestas</i>	<i>Unidades</i>
A425 nm	-

**Tabla 22.** Análisis de Varianza para A425 nm

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Tween 80	0,00154939	1	0,00154939	28,02	0,0000
B:Emulgin CO 40	0,00247339	1	0,00247339	44,74	0,0000
AB	0,000290083	1	0,000290083	5,25	0,0330
BB	0,000554241	1	0,000554241	10,02	0,0049
bloques	0,00000940741	2	0,0000047037	0,09	0,9188
Error total	0,00110579	20	0,0000552894		
Total (corr.)	0,0059823	26			

Fuente: Erika Vanessa Moya Castillo

R-cuadrada = 81,5157 por ciento

$A_{425\text{ nm}} = 0,102083 + 0,00872222 * \text{Tween 80} + 0,0520556 * \text{Emulgin CO 40} + 0,0196667 * \text{Tween 80} * \text{Emulgin CO 40} - 0,0384444 * \text{Emulgin CO 40}^2$

**Optimizar Respuesta**

Meta: maximizar A425 nm

Valor óptimo = 0,144257

**Tabla 23.** Niveles óptimos en la solubilidad de la nanoemulsión

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Tween 80	0,0	1,0	1,0
Emulgin CO 40	0,0	1,0	0,932876

**Fuente:** Erika Vanessa Moya Castillo

