

## Use of liposome technology in the encapsulation of bioactive compounds – Review Uso da tecnologia de lipossomas no encapsulamento de compostos bioativos - Revisão

Article Info:

Article history: Received 2021-08-01 / Accepted 2021-10-15 / Available online 2021-10-18

doi: 10.18540/jcecv17iss4pp13295-01-20e

**Mateus Tomaz Neves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3910-5593>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [mateustneves@gmail.com](mailto:mateustneves@gmail.com)

**Fábio Ribeiro dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8822-9421>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [fabiorids2009@gmail.com](mailto:fabiorids2009@gmail.com)

**Daniele Juliana Rodrigues Gonçalves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1200-7800>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [daniele.goncalves@ufv.br](mailto:daniele.goncalves@ufv.br)

**Janaina Gonçalves Fernandes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2779-4624>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [janaina.fernandes@ufv.br](mailto:janaina.fernandes@ufv.br)

**Heloisa de Fátima Mendes Justino**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9575-9460>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [heloisa.mendes3@gmail.com](mailto:heloisa.mendes3@gmail.com)

**Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9030-2819>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [bruno.leitejr@ufv.br](mailto:bruno.leitejr@ufv.br)

**Érica Nascif Rufino Vieira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2052-7120>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: [erica.vieira@ufv.br](mailto:erica.vieira@ufv.br)

### Resumo

Compostos como polifenóis, flavonóides e vitaminas são boas opções de compostos bioativos que podem ser usados para fortificar produtos alimentícios, aumentando a sua funcionalidade. Porém, a baixa estabilidade e biodisponibilidade desses bioativos dentro da microestrutura heterogênea do alimento e no trato gastrointestinal, dificulta a ação benéfica aos consumidores. Os lipossomas podem ser usados para encapsular compostos bioativos, uma vez que são capazes de encapsular moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas ou ambas, simultaneamente. São amplamente usados como veículos de entrega para a incorporação de compostos bioativos lipofílicos em produtos alimentares, aumentando a sua estabilidade e biodisponibilidade. Além disso, pode ser usado para promover uma aplicação eficaz em alimentos funcionais e nutracêuticos. Na presente revisão, são abordadas as aplicações, preparação, classificação e encapsulamento de compostos bioativos utilizando o método de lipossomas.

**Palavras-chave:** Bioativos. Estabilidade. Encapsulação. Lipossomas.

## Abstract

Compounds such as polyphenols, flavonoids and vitamins are good choices for bioactive compounds that can be used to fortify food products, increasing their functionality. However, due to the low stability and bioavailability of these bioactives within the heterogeneous microstructure of the food and in the gastrointestinal tract, it is difficult to transmit the benefits to consumers. Liposomes can be used to encapsulate bioactive compounds as they are capable of encapsulating hydrophilic, hydrophobic or both molecules simultaneously. They are widely used as deliveries vehicles for the incorporation of lipophilic bioactive compounds in food products, increasing their stability and bioavailability. Furthermore, it can be used to promote effective application in functional foods and nutraceuticals. In this review, the applications, preparation, classification and encapsulation of bioactive compounds using the liposome method are addressed.

**Keywords:** Bioactives. Stability. Encapsulation. Liposomes.

## 1. Introdução

A escolha dos alimentos pelos consumidores vem mudando ao longo dos séculos: antigamente, eles eram vistos apenas como fonte de energia e nutrientes para o corpo; atualmente, os alimentos são escolhidos visando saúde, bem-estar e como fator chave na prevenção de doenças (POGORZELSKA-NOWICKA et al., 2018).

Uma gama de alimentos contém compostos bioativos essenciais à saúde humana, como vitaminas, compostos fenólicos, ácidos graxos essenciais, óleos essenciais, entre outros. Grande parte desses compostos são hidrofóbicos ou pouco solúveis em água e apresentam baixa estabilidade, devido à sensibilidade frente a temperatura, oxigênio, luz, entre outros fatores (REZAEI; FATHI; JAFARI, 2019).

No processamento de alimentos, diferentes tecnologias são utilizadas para produzir alimentos com distintas características sensoriais, nutricionais e físico-químicas. Para garantir a qualidade microbiológica desses produtos, tradicionalmente, os tratamentos térmicos são os mais utilizados para aumentar a vida de prateleira e conservar os alimentos (AL-JUHAIMI et al., 2018). Entretanto, o processamento em alta temperatura pode afetar o conteúdo e a disponibilidade dos compostos bioativos dos alimentos, diminuindo, por exemplo, a atividade antioxidante e o seu potencial biológico (ARRIBAS et al., 2020).

Nesse sentido, vem se buscando estratégias que permitam a manutenção desses compostos bioativos ao longo da cadeia de processamento dos alimentos. Dentre essas estratégias, as tecnologias de encapsulação têm se mostrado promissoras para contornar os problemas supracitados.

A microencapsulação é uma tecnologia que consiste em envolver materiais sólidos, líquidos ou gasosos em pequenas cápsulas. As técnicas de microencapsulação são classificadas em três grupos: (i) métodos físicos, como secagem por spray, liofilização, precipitação de fluido supercrítico e evaporação de solvente; (ii) métodos físico-químicos, incluindo coacervação, lipossomas e gelificação iônica; (iii) métodos químicos, como polimerização interfacial e complexação de inclusão molecular (OZKAN et al., 2019). As cápsulas formadas geralmente possuem o formato esférico, porém sua forma irá variar de acordo com a estrutura do material encapsulado e dos ingredientes a partir dos quais elas são feitas (MOZAFARI et al., 2008). Essas características também irão influenciar no tamanho da partícula formada, podendo ser classificadas como: macrocápsulas, microcápsulas ou nanocápsulas (MAFTOONAZAD; RAMASWAMY, 2018)

A técnica de encapsulação em lipossomas vem sendo muito utilizada em estudos com compostos bioativos de alimentos (CHEN et al., 2019; GONZÁLEZ-ORTEGA et al., 2021; PETTINATO et al., 2020; SARKAR et al., 2019), uma vez que os lipossomas são capazes de encapsular moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas ou ambas, simultaneamente (MAURYA; BASHIR; AGGARWAL, 2020). Além disso, oferecem alta flexibilidade na composição e tamanho, e

prometem alta compatibilidade com tecidos animais, uma vez que sua estrutura imita a membrana plasmática natural (DING et al., 2017).

Nesse sentido, o presente artigo de revisão visa discorrer sobre a técnica de encapsulação de compostos bioativos utilizando o método físico-químico de envolvimento em lipossomas.

## 2. Microencapsulação pela técnica de lipossomas

A tecnologia de alimentos é uma área em crescente expansão buscando constantemente desenvolver métodos que permitam a produção de alimentos e/ou ingredientes diferenciados, capazes de nutrir e ao mesmo tempo fornecer bem-estar e saúde (BARRETO et al., 2015; SILVA et al., 2014). Uma técnica já bastante utilizada e em constante desenvolvimento é a microencapsulação.

A microencapsulação consiste em aprisionar o material de interesse em uma casca polimérica. O material a ser encapsulado pode ser referido como a fase interna, material de núcleo, enchimento, fase de carga útil ou agente ativo, enquanto o material de encapsulamento pode ser referido como veículo de transporte, membrana, material transportador, revestimento, invólucro, matriz, fase externa ou material de parede (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Segundo Almond Ab (2003), quando acontece o processo de microencapsulação ocorre a formação de partícula, onde um ingrediente ativo é coberto por uma fina camada de outro material, que possibilita o isolamento e a manutenção das características ideais de uma substância e com isso, protege o ativo de meios adversos, estabilizando o produto e aumentando sua vida útil.

Na área de alimentos, os primeiros registros sobre microencapsulação aconteceram nos EUA, relacionados à microencapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e perda de substâncias voláteis, além de preservar o aroma (RE, 2000). Na indústria farmacêutica, os primeiros estudos começaram na década de 50 e tinham, como propósito principal, liberar os compostos necessários apenas nos órgãos que deveriam realmente receber o composto (SANTOS et al., 2000).

Uma das grandes vantagens da tecnologia de microencapsulação é a liberação controlada de determinado princípio ativo, cuja técnica permite ampliar a gama de aplicações de ingredientes em alimentos, sendo considerada não apenas um adicional, mas também uma fonte de novos ingredientes com propriedades incomparáveis (GOUIN, 2004).

Algumas técnicas podem ser empregadas na elaboração de microcápsulas, como spray drying, spray cooling, extrusão, coacervação, recobrimento em leite fluidizado, extrusão centrífuga, complexação por inclusão e lipossomas. A seleção do método irá depender do tamanho desejado da cápsula e da aplicação que será dada à mesma, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante (COOK et al., 2012; ASSUNÇÃO et al., 2014).

Lipossomas são vesículas microscópicas de membrana composta de lipídios com fases hidrofóbicas e hidrofílicas utilizadas na liberação ecológica e estabilidade de compostos bioativos (BACs) basicamente em alimentos funcionais, cosméticos, nutracêuticos e práticas médicas (GULZAR e BENJAKUL, 2020; KHANNIRI et al., 2016; SHERRY et al., 2013).

A composição da parede dos lipossomas é similar à das membranas celulares, o que faz com que estes compostos sejam carreadores altamente biocompatíveis, biodegradáveis, atóxicos e não imunogênicos (ZHAO; TEMELLI; CHEN, 2017). Além disso, a estrutura dos lipossomas (núcleo hidrofílico e bicamada lipídica) permite não apenas fornecer proteção a compostos ativos instáveis contra condições do ambiente, como também promove melhorias na sua absorção e biodisponibilidade (LEE; NA, 2020). São amplamente usados como veículos de entrega para a incorporação de compostos bioativos lipofílicos em produtos alimentares, aumentando a sua estabilidade e biodisponibilidade (FRENZEL et al., 2015, LEE; NA, 2020, FAN et al., 2021, SHISHIR et al., 2020).

Alguns fatores limitam o uso de lipossomas na indústria de alimentos, um deles é a instabilidade. Os fosfolipídios são propensos à oxidação e hidrólise, bem como sensíveis ao baixo

ou alto pH e calor (MIRAFZALI et al., 2014). Com isso, devem ser armazenados em temperatura mais baixas (SEBAALY et al., 2015), e o processamento deve ser um ponto crítico de controle, visto que a estabilidade é difícil ser mantida. No entanto, isso pode ser melhorado com a incorporação de revestimentos adicionais, como a pectina (LOPES; PINILLA; BRANDELLI, 2017)

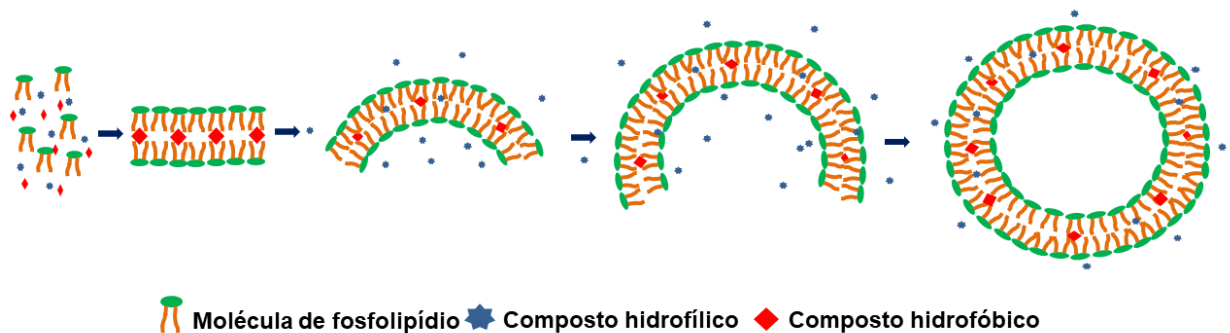
Os principais materiais de paredes dos lipossomas são fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS) e fosfatidilglicerol (PG). Os fosfolipídios naturais, como PC (também conhecido como lecitina), são mais comumente usados para formar lipossomas do que os fosfolipídios sintéticos (PIERRE; COSTA, 2011).

### 2.1 Princípios gerais da preparação e classificação de lipossomas

Os lipossomas podem ser preparados usando uma ampla gama de métodos que envolvem a combinação de lipídios e meio aquoso. O método utilizado irá influenciar nas características dos lipossomas, como tamanho, lamelaridade e eficiência da encapsulação (NKANGA et al., 2019). A preparação convencional para aplicação em alimentos funcionais envolve quatro princípios básicos: secagem de lipídios dissolvidos no solvente orgânico (1), exposição do lipídio ao meio aquoso (2), purificação do lipossoma gerado (3) e análise do produto final (4).

A etapa de secagem de lipídios dissolvidos em solvente orgânico utiliza um solvente ou uma mistura de solventes para dissolver os fosfolipídios, garantindo uma distribuição uniforme de lipídios na mistura. Um fato a ser levado em consideração é a natureza do composto bioativo, se for de natureza lipofílica, o solvente pode ser adicionado e subsequentemente seco, porém, se for de natureza hidrofílica, pode ser incorporado aos lipídios secos durante a hidratação com fase aquosa (ALAVI et al., 2017; NKANGA et al., 2019).

O lipídio será exposto ao meio aquoso, sendo que nesse processo as moléculas de fosfolipídios formam uma estrutura de duas camadas, na qual os grupos polares se alinham para formar uma estrutura hidrofílica na parte externa e as cadeias lipofílicas se agrupam internamente para formar uma zona livre de água (Figura 1) (NKANGA et al., 2019).



**Figura 1 - Estrutura da molécula de lipossomas.**

Fonte: Autores (2021)

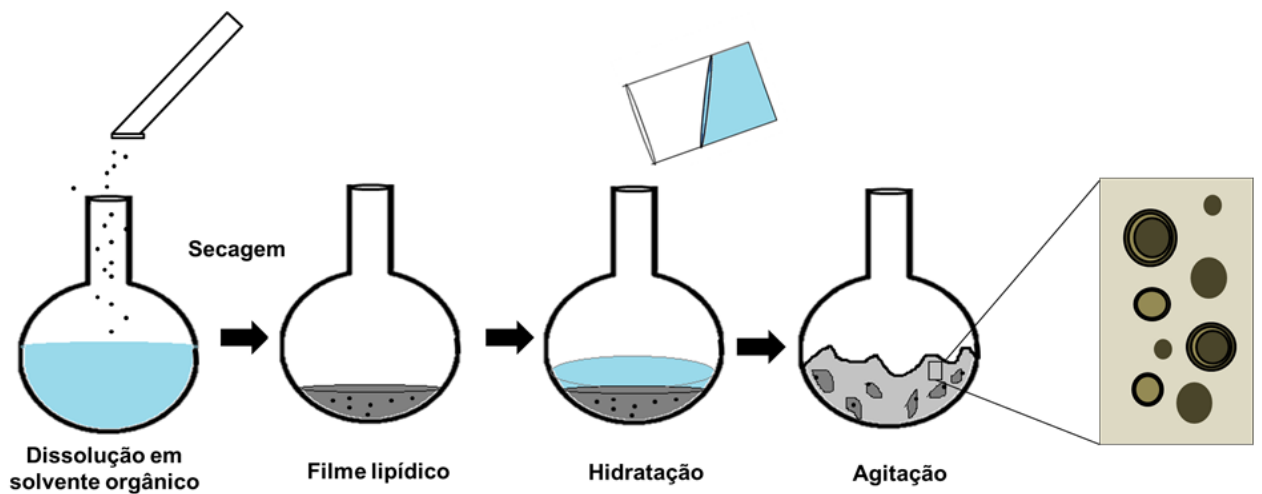
Compostos de natureza hidrofílica são inseridos na fase aquosa para serem encapsulados por ligação com a porção hidrofílica dos fosfolipídios. Já os compostos bioativos hidrofóbicos, devido sua natureza, podem ser aprisionados na bicamada fosfolipídica (Figura 1) (ALAVI et al., 2017).

Na purificação do lipossoma comumente são empregados os métodos de diálise, cromatografia em coluna, centrifugação, cromatografia de troca iônica ou método de ultrafiltração.

Esta etapa tem por objetivo remover compostos indesejáveis, incluindo compostos não encapsulados e resíduos de solvente (ALAVI et al., 2017; DIMOV et al., 2017; LIN; QI, 2019).

Devido a aplicação da técnica de lipossomas para diversos fins surgiu a necessidade de aprimorar e adaptar métodos já existentes, com o intuito de favorecer uma preparação mais simples e de fácil reprodução laboratorial e industrial. Nesse âmbito, diferentes métodos são descritos para a preparação de lipossomas, como por exemplo, o método de hidratação do filme, método de evaporação em fase reversa e método por injeção de etanol.

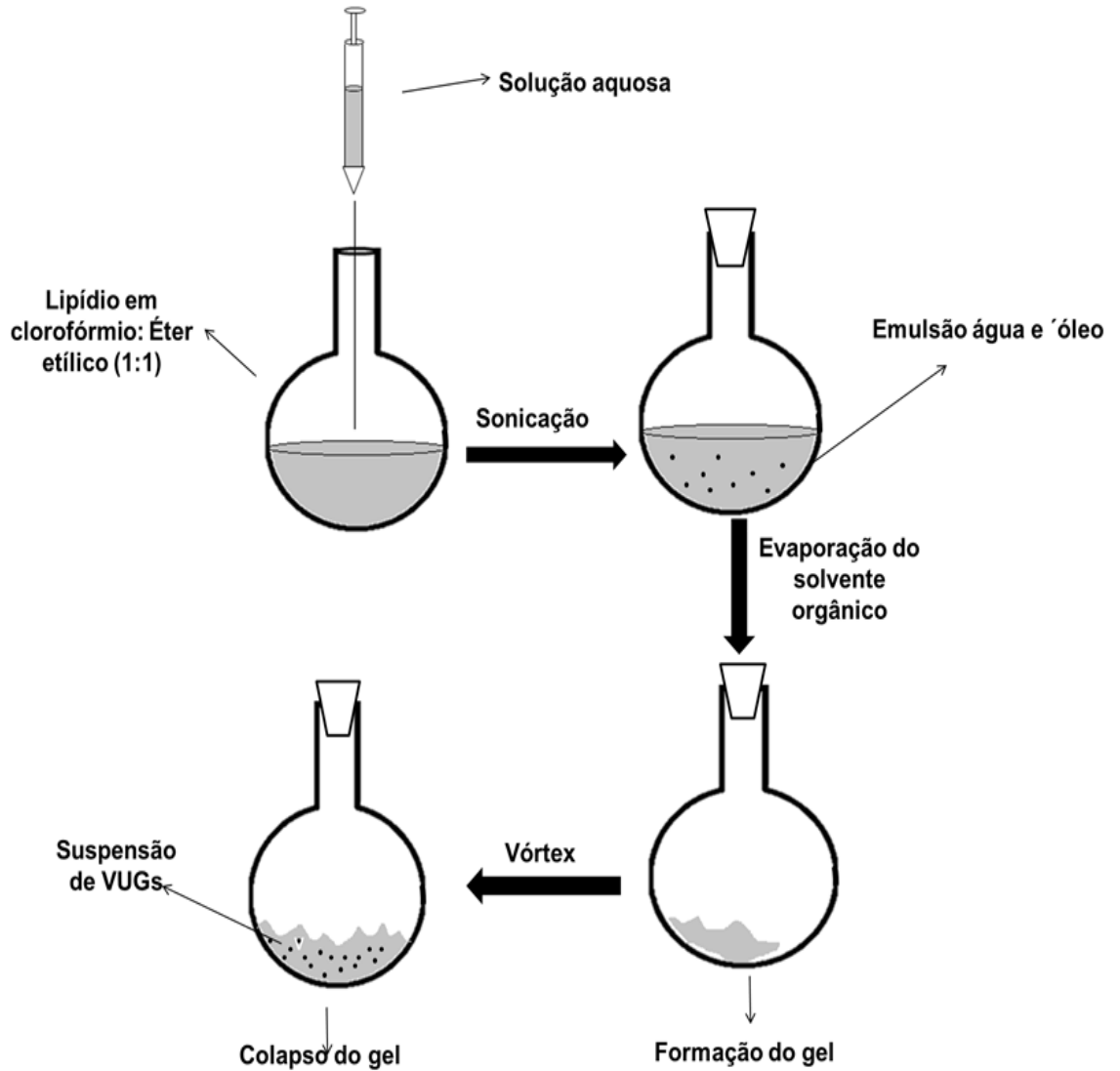
O método de hidratação do filme consiste na dissolução dos lipídios em solvente orgânico, com posterior evaporação deste. Com a evaporação do solvente, forma-se um filme lipídico, que é hidratado com água ou solução tampão, sob agitação magnética vigorosa, promovendo a formação da dispersão de lipossomas (Figura 2). A substância a ser encapsulada pode ser incorporada na solução tampão, quando for de caráter hidrofílico ou dissolvida na mistura lipídica, quando for lipofílica (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).



**Figura 2 - Método de preparação de lipossomas baseado no processo de hidratação do filme lipídico**

**Fonte: Adaptada de Sousa (2007)**

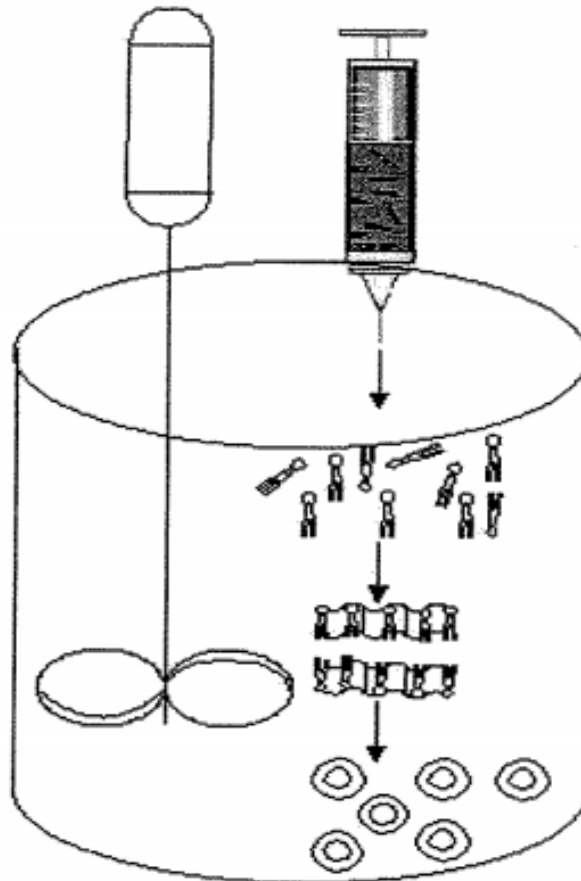
O processo de preparo utilizando o método de evaporação em fase reversa inicia com a dissolução dos fosfolipídeos em solvente orgânico. O material a ser encapsulado é injetado nessa solução que contém fosfolipídios e solvente orgânico e passa por um banho ultrassônico com o objetivo de formar uma emulsão homogênea. Depois desse processo, o solvente é removido em evaporador rotatório com baixo vácuo, formando um gel. Esse gel é submetido à agitação por vórtex para que sofra colapso, levando à formação da suspensão de lipossomas, conforme ilustrado na figura 3 (COSTA, 2000).



**Figura 3 - Método de preparação de lipossomas baseado no processo de evaporação em fase reversa**

**Fonte: Adaptada de Costa (2000)**

O método de injeção de etanol é um método mais simples, fácil e rápido de ser executado, consistindo no preparo de uma solução etanólica com os lipídeos. Estes são dissolvidos em solvente orgânico e então a solução é injetada de forma rápida e direta com o auxílio de uma agulha fina, sob constante agitação. A força da injeção é capaz de proporcionar uma mistura homogênea, diluindo totalmente o etanol e favorecendo a organização das moléculas de lipídeos em formas de vesículas (Figura 4) (BRESCANSIN, 2006).

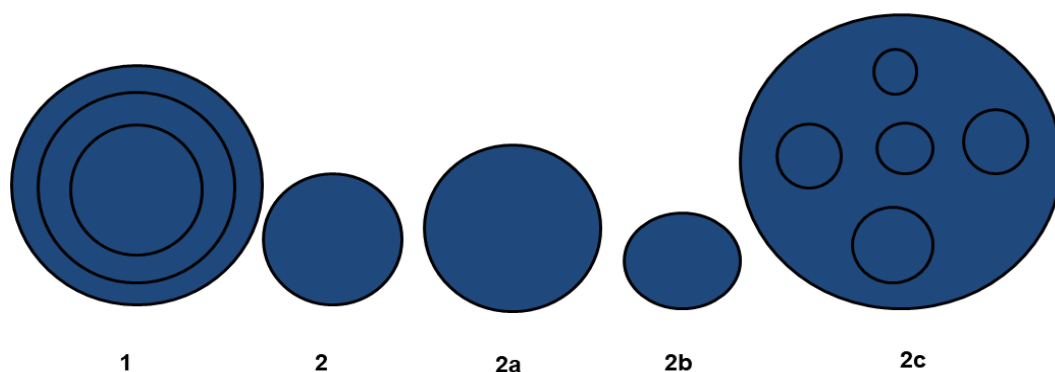


**Figura 4 - Método de preparação de lipossomas baseado no processo de injeção de etanol**

**Fonte: Justos (2003)**

As principais análises realizadas no produto final são a eficiência de encapsulação (EE), distribuição de tamanho, potencial zeta, índice polidispersivo (PDI) e aparência visual (PANAHI et al., 2017). A eficiência de encapsulação pode ser entendida como o percentual de compostos bioativos aprisionado nos lipossomas em comparação com a quantidade inicial desses compostos. O tamanho e o potencial zeta podem ser estabelecidos por espalhamento de luz dinâmica e espalhamento de luz eletroforética. O resultado do potencial zeta irá indicar a carga superficial efetiva no lipossoma que afeta o agrupamento e estabilidade (AMIN et al., 2018; SHAO et al., 2017). Mudanças que ocorrem no tamanho do lipossoma após a inserção dos compostos bioativos podem ser verificada pelo índice polidispersivo (PDI), que mede a distribuição de tamanho e uniformidade (AMIN et al., 2018; PATEL & PATEL, 2020).

Os lipossomas podem ser classificados com base no tamanho, que pode variar de vesículas muito pequenas (25 nm) a grandes (5000 nm). Também podem ser classificados em relação ao número de camadas, podendo ser unilamelares, quando possuir apenas uma membrana de bicamada ou multilamelares, quando possuir múltiplas bicamadas lipídicas. Além disso, as vesículas unilamelares (ULV) podem ser classificadas em três categorias: vesículas unilamelares gigantes, que são um tipo de ULV com bicamada lipídica única de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro, vesículas unilamelares pequenas, com tamanho na faixa de 20 a 200 nm e vesículas multivesiculares, que contém várias vesículas com menos de 1  $\mu\text{m}$  de tamanho (SHARMA; SHARMA, 1997; SUBRAMANI; GANAPATHYSWAMY, 2020) (Figura 5).



**1** Vesículas multilamelares (MLVs). **2** Vesículas unilamelares (ULVs). **2a** Vesículas unilamelares gigante (GUV). **2b**. Vesículas unilamelares pequena. **2c** Vesículas multivesiculares (MVV).

**Figura 5 - Classificação das lipossomas em relação ao número de camadas**  
**Fonte: Autores (2021)**

## 2.2 Veículos de transporte do material ativo

A escolha do sistema de transporte do material ativo é um parâmetro fundamental para que o processo tenha uma boa eficiência. Essa escolha irá depender de diversos fatores, dentre eles, destaca-se o conhecimento das características físico-químicas do composto bioativo de interesse, como por exemplo, a sua vida útil, solubilidade, interação química, dentre outros. Além disso, alguns outros parâmetros devem ser definidos de forma minuciosa, a depender da aplicação desejada no produto final. Por exemplo, a quantidade do composto bioativo e do veículo de carregamento utilizado, uma vez que as características sensoriais serão diretamente afetadas de acordo com essa relação, assim como as condições de processamento, armazenamento e prazo de validade do produto final (ADITYA; ESPINOSA; NORTON, 2017).

Os mais populares veículos de carregamento, utilizados na produção de lipossomas, são os lipídios, pois possuem estruturas macromoleculares únicas. Eles possuem frações polares e não polares específicas, de modo que podem ser utilizados no encapsulamento de compostos hidrofóbicos e hidrofílicos em diversas arquiteturas, como géis e microemulsões, partículas em micro ou nanoescala. Os fosfolipídios, em especial, são amplamente empregados em sistemas de liberação nas indústrias de alimentos e farmacêuticas. Eles possuem forte anfifilidade, são naturais e biocompatíveis (BAYER et al., 2021).

Os fosfolipídios são lipídios de membrana abundantes que ocorrem naturalmente em células animais, o que potencialmente deu ao lipossoma outra vantagem na biocompatibilidade. Devido a esta vantagem, o lipossoma tornou-se um sistema de entrega útil para drogas, compostos bioativos, dentre outros (LI et al., 2019).

Dentre os lipídios mais utilizados para encapsulação por lipossomas, destaca-se a lecitina. De modo geral, a lecitina é uma mistura de fosfatídeos, podendo ser obtida de alimentos de origem vegetal ou de origem animal, utilizando-se procedimentos físicos. O principal componente da lecitina (~50%) são os fosfolipídios e o perfil específico desses componentes irá variar de acordo com diversos fatores, como por exemplo: a fonte de obtenção, fonte botânica, características climáticas, processo de extração e armazenamento, dentre outros (BOT; COSSUTA; O'MAHONY, 2021). O perfil fosfolipídico específico da lecitina obtida de diferentes fontes vegetais está apresentado na Tabela 1.



**Tabela 1:** Perfil dos fosfolipídios de diferentes fontes de lecitina.

Fosfolipídios	Lecitina de soja	Lecitina de girassol	Lecitina de colza
Teor de fosfatidilcolina (%)	15	16	17
Teor de fosfatidilinositol (%)	10	8	9
Teor de fosfatidiletanolamina (%)	11	14	10
Teor de ácido fosfatídico (%)	4	3	6

**Fonte:** adaptada de (VAN NIEUWENHUYZEN; SZUHAJ, 1999).

Além desses compostos presentes em maior quantidade, também estão presentes, na lecitina, algumas substâncias em menores proporções, como glicolipídios, esteróis, tocoferóis, ácidos graxos livres, proteínas, carotenóides, produtos de reação de Maillard e minerais (BOT; COSSUTA; O'MAHONY, 2021). Vale ainda ressaltar que os lipossomas produzidos se utilizando esse material, fornece também uma contribuição nutricional à formulação, uma vez que a lecitina é rica em ácidos graxos poli-insaturados e compostos antioxidantes (SEPÚLVEDA et al., 2021).

Por outro lado, os fosfolipídios apresentam baixa estabilidade e elevada taxa de liberação em fluídos biológicos. Com o intuito de melhorar essa problemática, utiliza-se a sua combinação com o colesterol. Ainda assim, encontrar a concentração ideal de colesterol tem sido um desafio, pois irá depender de diversos fatores, como as propriedades lipídicas, concentração, temperatura, pressão e características do material ativo (LIM; HAAM; LEE, 2021). O uso do colesterol tem por objetivo garantir um melhor empacotamento da estrutura da bicamada, minimizando problemas de vazamento do conteúdo empacotado (LIMA et al., 2021). Entretanto, apesar de o colesterol apresentar diversas vantagens em relação a estabilidade e ser amplamente utilizado na liberação de medicamentos, eles não são muito bem aceitos nos produtos alimentícios. O colesterol é geralmente associado a um estilo de vida não saudável, relacionado a doenças cardiovasculares e à obesidade. Sendo assim, uma alternativa é o uso dos fitosteróis, que incorporados aos fosfolipídios mostraram elevar a eficiência de encapsulação dos lipossomas (ADITYA; ESPINOSA; NORTON, 2017).

### 2.3 Encapsulamento de compostos bioativos em Lipossomas

Muitos compostos de origem natural, extraídos principalmente de plantas, apresentam propriedades funcionais benéficas à saúde humana, que vão além das suas características intrínsecas. De forma geral, alguns compostos bioativos (CBA) podem estar presentes naturalmente em pequenas quantidades nas plantas e nos alimentos como frutas, vegetais, sementes e grãos e que, quando ingeridos em quantidades significativas, são capazes de regular as funções metabólicas, resultando em efeitos benéficos (PATEIRO et al., 2020). Por existirem na natureza em grande número, com ampla variação em estrutura química, os CBA são divididos em diversas classes, sendo os polifenóis, carotenoides e glicosinolatos os três principais grandes grupos de CBA presentes na dieta humana habitual (HORST; CRUZ; LAJOLO, 2016).

Apesar dos benefícios, a utilização dos CBA em produtos alimentares é condicionada à sua baixa solubilidade em água, alta perecibilidade durante o processamento e armazenamento e à sua degradação após ingestão. Ademais, a incorporação de alguns CBA em alimentos pode levar a alterações sensoriais indesejáveis, como sabor adstringente e podem também atuar como substratos em reações de escurecimento ou degradação (CODEVILLA et al., 2015).

Torna-se necessário, portanto, o desenvolvimento de métodos seguros que garantam a proteção desses compostos, promovendo o aumento de sua estabilidade, possibilitando a manutenção de sua estrutura e propriedades até que atinjam um determinado alvo, de forma a aumentar a sua eficácia.

Os sistemas lipídicos de microencapsulação têm sua utilização devido às vantagens que podem ter quando se trata de bioativos hidrofóbicos. Dentre tais vantagens, estão o aumento da solubilidade do bioativo em meio aquoso, aumento da estabilidade, melhoria da atividade biológica, liberação controlada, redução da degradação por influência de fatores físico-químicos e aumento da bioacessibilidade e da biodisponibilidade (CORTÉS-ROJAS, 2015).

A tecnologia de encapsulamento em lipossoma vem sendo amplamente utilizada para desenvolver sistemas de liberação de compostos bioativos (CBA) que melhoram sua estabilidade frente a fatores como pH, temperatura, luz e oxigênio, além de promover melhorias na bioacessibilidade e biodisponibilidade desses compostos (AJEESHKUMAR et al., 2021). A Tabela 2 apresenta dados referentes a trabalhos que utilizaram a tecnologia de lipossomas para encapsulamento de compostos bioativos.

Extrato de borra de café contendo cafeína e compostos fenólicos (ácido clorogênico, principalmente) foram encapsulados por meio da formação de lipossomas assistida por fluido supercrítico por Pettinato et al. (2020). Os compostos extraídos foram encapsulados em fosfatidilcolina de soja (PC) a pressões de 100 bar e 200 bar, variando também a proporção extrato:PC. Os lipossomas carregados produzidos apresentaram pequenos diâmetros médios (168-191 nm), potencial zeta entre -12.7 mV e -5.42 mV, alta eficiência de encapsulação (26-100%) e pouca ou nenhuma redução da atividade antioxidante (1-17%), quando comparado ao extrato puro.

Antocianinas são pigmentos vegetais, pertencentes à classe dos compostos fenólicos, que conferem a flores e frutos uma grande variedade de cores. São estabelecidos como compostos bioativos e amplamente estudados por seus benefícios à saúde, incluindo propriedades anti-inflamatórias, antidiabéticas, antioxidante e anticâncer (AJEESHKUMAR et al., 2021). A encapsulação em lipossomas de antocianinas extraídas de arônia se provou eficiente para aumentar a estabilidade, atividade antioxidante e permeabilidade na pele (LEE; NA, 2020). Lipossomas compostos de lecitina de colza foram utilizados para encapsular antocianinas extraídas de *Berberis vulgaris*, formando nanopartículas compatíveis com células mesenquimais humanas e fibroblastos (HOMAYOONFAL et al., 2021). Outros trabalhos reportam melhoria da estabilidade e capacidade antioxidante de antocianina após passagem por fluido gastrointestinal simulado (FAN et al., 2021; SHISHIR et al., 2020; ZHAO; TEMELLI; CHEN, 2017).

Epigallocatequina-3-galato (EGCG) e quercetina são polifenóis naturais abundantes na dieta humana com diversas atividades biológicas. Estes compostos foram co-encapsulados com sucesso em lipossomas por Chen et al. (2019), tendo-se observado aumento na estabilidade após 30 dias de armazenamento refrigerado e efeito sinérgico nos resultados de atividade antioxidante. Cheng et al. (2021) demonstraram que EGCG encapsulada em lipossomas é um candidato potencial para o tratamento de doenças neurodegenerativas (como a doença de Parkinson), devido ao aumento de biodisponibilidade e por apresentarem atividade neuroprotetiva em modelos *in vitro* e *in vivo*. Ramli, Ali e Hamzah (2020) avaliaram as características físico-químicas de quercetina encapsulada em lipossomas preparadas com auxílio de ultrassom, obtendo vesículas esféricas pequenas (289.5 a 406.4 nm), carga de alta magnitude de potencial zeta (-50.4 mV a -46.2 mV) e alta eficiência de encapsulação (86.5 a 91.5%), o que torna esses sistemas uma interessante alternativa na entrega não só de quercetina, mas também de outros compostos bioativos que possuam efeitos terapêuticos para a saúde humana.

Extrato de folha de oliveira rico em compostos fenólicos, majoritariamente oleuropeína, foi encapsulado em lipossomas e incorporado em um drink comercial de limonada e dois “drinks modelo” por González-Ortega et al. (2021). Oleuropeína apresentou boa estabilidade nas formulações, tendo sido detectado um teor remanescente do composto entre 83% e 90%, após 47 dias de armazenamento a 5°C.

Carotenoides são pigmentos lipofílicos encontrados nos tecidos das bactérias, plantas e animais. Não são sintetizados pelos mamíferos portanto devem ser adquiridos por meio da alimentação (BHAT et al., 2021). Quando incluídos na dieta, desempenham um importante papel como antioxidantes e na prevenção de doenças como câncer, doenças cardiovasculares, da visão ou da pele (BHAT et al., 2021; LAURORA et al., 2021; SWAPNIL et al., 2021). A técnica de encapsulação em lipossomas vem sendo utilizada para encapsular moléculas de diferentes carotenoides como  $\beta$ -caroteno (ELKHOLY; SHAFAA; MOHAMMED, 2020; HASSANE HAMADOU et al., 2020; TANAKA et al., 2020), luteína (ELKHOLY; SHAFAA; MOHAMMED, 2020; ZHAO et al., 2017), licopeno (JHAN; PETHE, 2020; ZHAO et al., 2018) e astaxantina (PAN; WANG; GU, 2018; QIANG et al., 2020; SANGSURIYAWONG et al., 2019).

**Tabela 2- Compostos bioativos encapsulados por lipossomas**

Material encapsulado	Fase lipídica	Eficiência de encapsulação (%)	Diâmetro médio	Potencial zeta (mV)	Principais resultados	Referência
Extrato de borra de café rico em cafeína e ácido clorogênico	Fosfatidilcolina de soja	26-100	168 a 191 nm	-12.7 a 5.42	Manutenção da atividade antioxidante.	(PETTINATO <i>et al.</i> , 2020)
Extrato de aronia rico em antocianinas	Fosfatidilcolina de soja e Tween 80	71.15	122.8 nm	-25.7	Antocianinas encapsuladas em lipossomas com maior estabilidade, manutenção da capacidade antioxidante e ausência de citotoxicidade.	(LEE; NA, 2020)
Extrato de <i>Berberis vulgaris</i> rico em antocianinas	Lecitina de colza	40.18-47.19	166.21 a 194.67 nm	-45.55 a -42.58	Antocianinas encapsuladas compatíveis com células mesenquimais humanas e fibroblastos.	(HOMAYOONFAL <i>et al.</i> , 2021)

Cianidina-3-glucosídeo	Fosfatidilcolina de ovo e manosileritritol lipídios (MEL)	54.9	<500 nm	N/A	Capacidade antioxidante 3-3.5 vezes maior que antocianinas não encapsuladas, após passagem por fluido gastrointestinal simulado.	(FAN <i>et al.</i> , 2021)
Extrato de bilberry rico em antocianinas	Lecitina de soja e colesterol	50.6	159.02 nm	-40.2	Antocianinas liberadas dos lipossomas lentamente no fluido gástrico simulado e rapidamente no fluido intestinal simulado.	(ZHAO; TEMELLI; CHEN, 2017)
Perlagonidina-3-glicosídeo	Lecitina de soja, colesterol, quitosana e pectina	N/A	89.94 a 444.77 $\mu$ m	-31.40 a 23.00	Lipossomas funcionalizados apresentaram resistência aos fluidos simulados da boca, estômago e intestino, se mostrando transportador adequado para entrega no cólon.	(SHISHIR <i>et al.</i> , 2020)
Epigallocatequina-3-galato e quercetina	Lecitina e Tween 80	>60	111.10 nm	-19.83	Efeito antioxidante sinérgico, alta estabilidade após armazenamento refrigerado (30 dias).	(CHEN <i>et al.</i> , 2019)
Epigallocatequina-3-galato	Fosfatidilcolina, Fosfatidilserina e Vitamina E	55.4-76.8	132.86 a 161.5 nm	N/A	Aumento de biodisponibilidade e atividade neuroprotetiva em modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	(CHENG <i>et al.</i> , 2021)
Quercetina	Fosfatidilcolina de soja e colesterol	86,5-91,5	289,5 a 406,4 nm	-50.4 a -46.2	Alta eficiência de encapsulamento, vesículas esféricas pequenas, carga de alta magnitude de potencial zeta	(RAMLI; ALI; HAMZAH, 2020)

Extrato de folhas de oliveira	1,2-Dipalmitoil-sn-glicero-3-Fosfatidilcolina (DPPC)	33.8-75.0	405 nm	-24.8 a 31.5	Incorporação em drinks, com alta estabilidade de armazenamento.	(GONZÁLEZ-ORTEGA <i>et al.</i> , 2021)
$\beta$ -caroteno	Fosfolipídios marinhos e de ovo	96.53-99.06	162.86–365.81 nm	-64.46 a -42.58	Melhoria da estabilidade após armazenamento refrigerado (4°C, 70 dias), melhoria na resistência térmica (300°C).	(HASSANE HAMADOU <i>et al.</i> , 2020)
$\beta$ -caroteno	Fosfatidilcolina de soja hidrogenada	N/A	90-150 nm	-53 a -46	Formação de lipossomas sem a utilização de solventes com boa estabilidade, sem floculação.	(TANAKA <i>et al.</i> , 2020)
$\beta$ -caroteno e luteína	1,2-Dipalmitoil-sn-glicero-3-Fosfatidilcolina (DPPC)	87-98.8	155.31-225.54 nm	34.4 a 38.03	Alta eficiência de encapsulamento e boa estabilidade de liberação <i>in vitro</i> para lipossomas catiônicos.	(ELKHOLY; SHAFAA; MOHAMMED, 2020)
Luteína	Lecitina de soja	56.7-97.0	147.6-195.4 nm	-54.5 a -61.7	Formação de lipossomas sem a utilização de solventes com alta eficiência de encapsulamento.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2017)
Licopeno	Lecitina e colesterol	N/A	< 100 nm	-32.5	Redução do dano cerebral isquêmico em roedores.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2018)
Licopeno e $\beta$ -ciclodextrina	Fosfatidilcolina de soja e colesterol	78.9	255.15 nm	-32.6	Formulação que garantiu a liberação em até 49,5% em 12h. Atividade cardioprotetora significativa em estudo <i>in vivo</i> .	(JHAN; PETHE, 2020)

Astaxantina	Fosfatidilcolina de soja	97.49	80.31 nm	N/A	Alta eficiência de encapsulamento, melhoria na estabilidade térmica, melhoria na dispersibilidade em água.	(PAN; WANG; GU, 2018)
Astaxantina	Fosfatidilcolina de soja	87.38-97.13	N/A	N/A	Formação de lipossomas não tóxicos, com manutenção da atividade antioxidante de astaxantina.	(SANGSURIYAWONG <i>et al.</i> , 2019)
Astaxantina	Lecitina de ovo, colesterol, lactoferrina e quitosana	71-88	191.5 nm	-34 a +60	Produção de lipossomas com superfície modificada por quitosana e lactoferrina, com estabilidade melhorada.	(QIANG <i>et al.</i> , 2020)
Hidrolisados de soja	Fosfolipídios	10-19	310 nm	N/A	Formulações de lipossomas fornecem enfraquecimento prolongado do hidrolisado em relação ao hidrolisado não encapsulado e indicou maior estabilidade dos lipossomas com hidrolisado encapsulado.	(PAVLOVIĆ <i>et al.</i> , 2020)
Peptídeos obtidos a partir de hidrolisados de soro de leite de ovelha	Fosfatidilcolina	48	166 nm	-17	Os lipossomas apresentaram valores constantes nos parâmetros físico-químico durante 30 dias e apresentaram atividade antioxidantes e inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA-1).	(CORRÊA <i>et al.</i> , 2019)

Extrato de açafraão	Óleo de lecitinae glicerol	66	100 nm	N/A	A preparação de nanolipossomas com a lecitina em sua formulação apresenta uma alta estabilidade e eficiência de encapsulação além da aceitabilidade da cor.	(HADAVI; JAFARI; KATOUZIAN, 2020)
Procianidinas oligoméricas (OPC) do pericarpo de lichia	Colesterol e lecitina de gema	90,92 ± 0,47	80-100 nm	34.48 ± 0.65	Os lipossomas OPC aumentaram a capacidade antioxidante e valores de redução de íon férrico poder antioxidante (FRAP), capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC) e atividade antioxidante celular (CAA).	(LUO <i>et al.</i> , 2020)

N/A: Não avaliado

Fonte: Autores (2021)

### 3. Conclusão

O método de encapsulamento de compostos bioativos em lipossomas se mostra como uma abordagem viável e eficiente. Os lipossomas são capazes de encapsular moléculas hidrofóbicas, hidrofílicas ou ambas ao mesmo tempo. Além disso, a estrutura dos lipossomas proporciona proteção a compostos ativos instáveis contra condições do ambiente, como também pode promover melhorias na sua biodisponibilidade e absorção. Além de ser amplamente usados para aumentar a biodisponibilidade e estabilidade dos compostos bioativos. Diante disso, a tecnologia de lipossomas tem sido aplicada à maioria dos produtos alimentícios funcionais. Além das aplicações convencionais de alimentos como o transportador de conservante e corante natural, atualmente essa tecnologia está ganhando grande atenção na fortificação de alimentos, a fim de acrescentar constituintes nutricionais, em especial na liberação controlada e estabilidade aprimorada de compostos bioativos alvo.

### Referências

Aditya, n. P.; espinosa, y. G.; norton, i. T. (2017). Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: Food application. *Biotechnology Advances*, 35(4), 450–457. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.012>

- Ajeeshkumar, K. K., Aneesh, P. A., Raju, N., Suseela, M., Ravishankar, C. N., & Benjakul, S. (2021). Advancements in liposome technology: Preparation techniques and applications in food, functional foods, and bioactive delivery: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1280–1306. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12725>
- Alavi, M., Karimi, N., & Safaei, M. (2017). Advanced Pharmaceutical Bulletin Application of Various Types of Liposomes in Drug Delivery Systems. *Adv Pharm Bull*, 7(1), 3–9. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.002>
- Al-Juhaimi, F., Kashif Ghafoor, Musa, M., Zcan, O., Jahurul, M H A, Elfadil, Babiker, E., Jinap, S, Sahena, F., Sharifudin, M.S., & Zaidul, I. S. M. (2018). Effect of various food processing and handling methods on preservation of natural antioxidants in fruits and vegetables. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3872-3880. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3370-0>
- Almond, B. A., Hadba, A. R., Freeman, S. T., Cuevas, B. J., York, A. M., Detrisac, C. J., & Goldberg, E. P. (2003). Efficacy of mitoxantrone-loaded albumin microspheres for intratumoral chemotherapy of breast cancer. *Journal of Controlled Release*, 91(1–2), 147–155. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(03\)00214-1](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(03)00214-1)
- Amin, S. G., Shah, D. A., & Dave, R. H. (2018). Formulation and Evaluation of Liposomes of Fenofibrate Prepared By Thin Film Hydration Technique. *Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(9), 3621. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(9\).3621-37](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(9).3621-37)
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2020). Cooking Effect on the Bioactive Compounds, Texture, and Color Properties of Cold-Extruded Rice/Bean-Based Pasta Supplemented with Whole Carob Fruit. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(415). <https://doi.org/10.3390/FOODS9040415>
- Assunção, L. S., Ferreira, C. D., Conceição, E. J. L., & Nunes, I. L. (2015). Estudo Prospectivo Sobre Encapsulamento De Compostos Bioativos. *GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias*, 4(4), 1382–1391. <https://doi.org/10.7198/s2318-3403201400020025>
- Barreto, A. R., Ramírez-Mérida, L. G., Etchepare, M. D. A., Jacob-Lopes, E., & De Menezes, C. R. (2015). Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos Coating materials used in the microencapsulation of probiotics. *Ciência e Natura, Dez*, 164–174. <https://doi.org/10.5902/2179-460X19747>
- Batista, C. M., De Carvalho, C. M. B., Stela, N., Magalhães, S., & Magalhães, N. S. S. (2007). Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43(2), 167–179. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000200003>
- Bayer, G., Grasselli, S., Malchiodi, A., & Bayer, I. S. (2021). Antiseptic povidone-iodine encapsulating edible phospholipid gels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 619, 126537. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2021.126537>
- Bot, F., Cossuta, D., & O'Mahony, J. A. (2021). Inter-relationships between composition, physicochemical properties and functionality of lecithin ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 261–270. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.02.028>
- Brescansin, E. G. (2006) *Desenvolvimento e caracterização de formulações lipossomais contendo o fármaco nistatina*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Chen, W., Zou, M., Ma, X., Lv, R., Ding, T., Liu, D. Co-Encapsulation of EGCG and Quercetin in Liposomes for Optimum Antioxidant Activity. *Journal of Food Science*, 84(1), 111–120. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14405>
- Cheng, C.-Y., Barro, L., Tsai, S.-T., Feng, T.-W., Wu, X.-Y., Chao, C.-W., Yu, R.-S., Chin, T.-Y., & Hsieh, M. F. (2021). Epigallocatechin-3-Gallate-Loaded Liposomes Favor Anti-Inflammation of Microglia Cells and Promote Neuroprotection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3037), 1-15. <https://doi.org/10.3390/IJMS22063037>



- Codevilla, C. F., Bazana, M. T., Silva, C. de B. da, Barin, J. S., & Menezes, C. R. de. (2015). Nanoestruturas Contendo Compostos Bioativos Extraídos de Plantas. *Ciência e Natura*, 37(0), 142–151. <https://doi.org/10.5902/2179-460X19743>
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162(1), 56–67. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2012.06.003>
- Corrêa, A. P. F., Bertolini, D., Lopes, N. A., Veras, F. F., Gregory, G., & Brandelli, A. (2019). Characterization of nanoliposomes containing bioactive peptides obtained from sheep whey hydrolysates. *LWT*, 101, 107–112. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.11.036>
- Cortés-Rojas, D. F. (2015). *Encapsulação de compostos bioativos de Syzygium aromaticum em carreadores lipídicos sólidos*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Costa, A. M. C. (2000) Preparação e Caracterização de Lipossomas Encapsulando ácido Azelaico, Bleomicina e 5-Fluoruracil para a Aplicação na Terapia de Melanomas. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Dimov, N., Kastner, E., Hussain, M., Perrie, Y., & Szita, N. (2017). Formation and purification of tailored liposomes for drug delivery using a module-based micro continuous-flow system OPEN. *Scientific Reports*, 7(12045), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11533-1>
- Ding, Y., Cui, W., Sun, D., Wang, G.-L., Hei, Y., Meng, S., Chen, J., Xie, Y., & Wang, Z.-Q. (2017). In vivo study of doxorubicin-loaded cell-penetrating peptide-modified pH-sensitive liposomes: biocompatibility, bio-distribution, and pharmacodynamics in BalB/c nude mice bearing human breast tumors. *Drug Design, Development and Therapy*, 11, 3105–3117. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S149814>
- Elkholy, N. S., Shafaa, M. W., & Mohammed, H. S. (2020). Biophysical characterization of lutein or beta carotene-loaded cationic liposomes. *RSC Advances*, 10, 32409–32422. <https://doi.org/10.1039/d0ra05683a>
- Fan, L., Chen, Q., Mairiyangu, Y., Wang, Y., & Liu, X. (2021). Stable vesicle self-assembled from phospholipid and mannosylerythritol lipid and its application in encapsulating anthocyanins. *Food Chemistry*, 344(128649). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128649>
- Frenzel, M., Krolak, E., Wagner, A. E., & Steffen-Heins, A. (2015). Physicochemical properties of WPI coated liposomes serving as stable transporters in a real food matrix. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 527–534. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.03.055>
- González-Ortega, R., Šturm, L., Skrt, M., Daniela, C., Mattia, D., Pittia, P., & Ulrih, N. P. (2021). Liposomal Encapsulation of Oleuropein and an Olive Leaf Extract: Molecular Interactions, Antioxidant Effects and Applications in Model Food Systems. *Food Biophysics*, 16, 84–97. <https://doi.org/10.1007/s11483-020-09650-y>
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7–8), 330–347. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2003.10.005>
- Gulzar, S., & Benjakul, S. (2020). Characteristics and storage stability of nanoliposomes loaded with shrimp oil as affected by ultrasonication and microfluidization. *Food Chemistry*, 310, 125916. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125916>
- Hadavi, R., Jafari, S. M., & Katouzian, I. (2020). Nanoliposomal encapsulation of saffron bioactive compounds; characterization and optimization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 4046–4053. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.09.028>
- Hassane Hamadou, A., Huang, W. C., Xue, C., & Mao, X. (2020). Comparison of  $\beta$ -carotene loaded marine and egg phospholipids nanoliposomes. *Journal of Food Engineering*, 283, 110055. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.110055>
- Homayoonfal, M., Mousavi, S. M., Kiani, H., Askari, G., Desobry, S., Arab-Tehrany, E., Perego, P., & Campardelli, R. (2021). Encapsulation of Berberis vulgaris Anthocyanins into Nanoliposome Composed of Rapeseed Lecithin: A Comprehensive Study on Physicochemical

- Characteristics and Biocompatibility. *Foods*, 10(492), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods10030492>
- Horst, M. A., Cruz, A. de C., & Lajolo, F. M. (2016). Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In *Biodisponibilidade de Nutrientes*. Barueri: Manole.
- Jhan, S., & Pethe, A. M. (2020). Double-loaded liposomes encapsulating lycopene  $\beta$ -cyclodextrin complexes: preparation, optimization, and evaluation. *Journal of Liposome Research*, 30(1), 80–92. <https://doi.org/10.1080/08982104.2019.1593450>
- Justos, O. R. (2003) *Produção de lipossomas pelo método de injeção de etanol encapsulando agentes tuberculostáticos e avaliação do potencial de escalonamento do processo*. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Khanniri, E., Bagheripoor-Fallah, N., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Khosravi-Darani, K., & Mohammad, R. (2016). Application of Liposomes in Some Dairy Products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(3), 484–493. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.779571>
- Lee, C., & Na, K. (2019). Anthocyanin-Loaded Liposomes Prepared by the pH-Gradient Loading Method to Enhance the Anthocyanin Stability, Antioxidation Effect and Skin Permeability. *Macromolecular Research*, 28(3), 289–297. <https://doi.org/10.1007/S13233-020-8039-7>
- Li, M., Du, C., Guo, N., Teng, Y., Meng, X., Sun, H., Li, S., Yu, P., & Galons, H. (2019). Composition design and medical application of liposomes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 164, 640–653. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2019.01.007>
- Lim, E. B., Haam, S., & Lee, S. W. (2021). Sphingomyelin-based liposomes with different cholesterol contents and polydopamine coating as a controlled delivery system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 618, 126447. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2021.126447>
- Lima, P. H. C. de, Butera, A. P., Cabeça, L. F., & Ribeiro-Viana, R. M. (2021). Liposome surface modification by phospholipid chemical reactions. *Chemistry and Physics of Lipids*, 237, 105084. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMPHYSLIP.2021.105084>
- Lin M., Qi XR. (2021) Purification Method of Drug-Loaded Liposome. In: Lu WL., Qi XR. (eds) *Liposome-Based Drug Delivery Systems*. Biomaterial Engineering. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-49320-5\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-662-49320-5_24)
- Lopes, N. A., Pinilla, C. M. B., & Brandelli, A. (2017). Pectin and polygalacturonic acid-coated liposomes as novel delivery system for nisin: Preparation, characterization and release behavior. *Food Hydrocolloids*, 70, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.03.016>
- Luo, M., Zhang, R., Liu, L., Chi, J., Huang, F., Dong, L., Ma, Q., Jia, X., & Zhang, M. (2020). Preparation, stability and antioxidant capacity of nano liposomes loaded with procyanidins from lychee pericarp. *Journal of Food Engineering*, 284, 110065. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.110065>
- Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. (2018). Novel techniques in food processing: bionanocomposites. *Current Opinion in Food Science*, 23, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.010>
- Maurya, V. K., Bashir, K., & Aggarwal, M. (2020). Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 196, 105489. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105489>
- Mirafzali, Z., Thomas, C. S., & Tallua, K. (2014). Application of liposomes in the food industry. In A. Gaonkar, N. Vasisht, A. R. Khare, & R. Sobel (Eds.), *Microencapsulation in the food industry: a practical implementation guide* (pp. 139-150). San Diego, US: Elsevier Science & Technology.
- Mozafari, M. R., Khosravi-Darani, K., Gokce Borazan, G., & Cui, J. (2008). Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology. *International Journal of Food Properties*, 11(4), 833–844. <https://doi.org/10.1080/10942910701648115>
- Nkanga, C. I., Bapolisi, A. M., Okafor, N. I., & Krause, R. W. M. (2019). General Perception of Liposomes: Formation, Manufacturing and Applications. In *Liposomes - Advances and Perspectives*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.84255>

- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272, 494–506. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.07.205>
- Pan, L., Wang, H., & Gu, K. (2018). Nanoliposomes as Vehicles for Astaxanthin: Characterization, In Vitro Release Evaluation and Structure. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(11), 2822. <https://doi.org/10.3390/molecules23112822>
- Panahi, Y., Farshbaf, M., Mohammadhosseini, M., Mirahadi, M., Khalilov, R., Saghfi, S., & Akbarzadeh, A. (2017). Recent advances on liposomal nanoparticles: synthesis, characterization and biomedical applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(4), 788–799. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1282496>
- Pateiro, M., Munekata, P., Tsatsanis, C., Domínguez, R., Zhang, W., Barba, F. J., & Lorenzo, J. M. (2020). Evaluation of the protein and bioactive compound bioaccessibility/bioavailability and cytotoxicity of the extracts obtained from aquaculture and fisheries by-products. *Advances in food and nutrition research*, 92, 97–125. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.12.002>
- Patel, D., & Patel, N. (2020). Fabrication and characterization of sterically stabilized liposomes of topotecan. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(79), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00089-z>
- Pavlović, N. V., Jovanović, J. R., Đorđević, V. B., Balanč, B. D., Bugarski, B. M., & Knežević-Jugović, Z. D. (2020). Priprema i karakterizacija lipozoma sa inkapsuliranim bioaktivnim hidrolizatom proteina soje. *Hem. Ind*, 74(5), 327–339. <https://doi.org/10.2298/HEMIND200530030P>
- Pettinato, M., Trucillo, P., Campardelli, R., Perego, P., & Reverchon, E. (2020). Bioactives extraction from spent coffee grounds and liposome encapsulation by a combination of green technologies. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 151, 107911. <https://doi.org/10.1016/J.CEP.2020.107911>
- Pierre, M. B. R., & dos Santos Miranda Costa, I. (2011). Liposomal systems as drug delivery vehicles for dermal and transdermal applications. *Archives of Dermatological Research*, 303(9), 607–621. <https://doi.org/10.1007/S00403-011-1166-4>
- Pogorzelska-Nowicka, E., Atanasov, A. G., Horbańczuk, J., & Wierzbicka, A. (2018). Bioactive Compounds in Functional Meat Products. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(2), 307. <https://doi.org/10.3390/molecules23020307>
- Qiang, M., Pang, X., Ma, D., Ma, C., & Liu, F. (2020). Effect of Membrane Surface Modification Using Chitosan Hydrochloride and Lactoferrin on the Properties of Astaxanthin-Loaded Liposomes. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 610. <https://doi.org/10.3390/molecules25030610>
- Ramli, N. A., Nora'Aini, A., & Hamzah, S. (2020). Physicochemical characterization of quercetin-loaded liposomes prepared by sonication for functional food application. *Journal of Sustainability Science and Management*, 15(6), 15–27. <https://doi.org/10.46754/jssm.2020.08.002>
- Rezaei, A., Fathi, M., & Jafari, S. M. (2019). Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. *Food Hydrocolloids*, 88, 146–162. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.10.003>
- Sangsuriyawong, A., Limpawattana, M., Siriwan, D., & Klaypradit, W. (2019). Properties and bioavailability assessment of shrimp astaxanthin loaded liposomes. *Food science and biotechnology*, 28(2), 529–537. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0495-x>
- Santos, A.B., Ferreira, V.P., & Grosso, C.R.F. (2000). Microcápsulas – uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis a oxidação: óleo-resina de páprica. *Bioteecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 16, 26–30.
- Sarkar, A., Carvalho, E., D'souza, A. A., & Banerjee, R. (2019). Liposome-encapsulated fish oil protein-tagged gold nanoparticles for intra-articular therapy in osteoarthritis. *Nanomedicine (London, England)*, 14(7), 871–887. <https://doi.org/10.2217/nmm-2018-0221>

- Sebaaly, C., Jraij, A., Fessi, H., Charcosset, C., & Greige-Gerges, H. (2015). Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. *Food chemistry*, *178*, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.067>
- Sepúlveda, C. T., Alemán, A., Zapata, J. E., Montero, M. P., & Gómez-Guillén, M. C. (2021). Characterization and storage stability of spray dried soy-rape seed lecithin/trehalose liposomes loaded with a tilapia viscera hydrolysate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *71*, 102708. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2021.102708>
- Shao, X.-R., Wei, X.-Q., Zhang, S., Fu, N., Lin, Y.-F., Cai, X.-X., & Peng, Q. (2017). Effects of Micro-environmental pH of Liposome on Chemical Stability of Loaded Drug. *Nanoscale Research Letters*, *12*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S11671-017-2256-9>
- Sharma, A., & Sharma, U. S. (1997). Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*, *154*, 123–140.
- Sherry, M., Charcosset, C., Fessi, H., & Greige-Gerges, H. (2013). Essential oils encapsulated in liposomes: a review. *Journal of liposome research*, *23*(4), 268–275. <https://doi.org/10.3109/08982104.2013.819888>
- Shishir, M., Karim, N., Xie, J., Rashwan, A. K., & Chen, W. (2020). Colonic delivery of pelargonidin-3-O-glucoside using pectin-chitosan-nanoliposome: Transport mechanism and bioactivity retention. *International journal of biological macromolecules*, *159*, 341–355. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.076>
- Silva, P. T. da, Fries, L. L. M., Menezes, C. R. de, Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., Bastos, J. de O., & Silva, C. de B. da. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, *44*(7), 1304–1311. <https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20130971>
- Sousa, I. C. S. C. (2007) *Interação da Enrofloxacin com modelos biomembranares: Influência das suas propriedades físico-químicas*. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Cidade do Porto, Portugal.
- Subramani, T., & Ganapathyswamy, H. (2020). An overview of liposomal nano-encapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *Journal of food science and technology*, *57*(10), 3545–3555. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04360-2>
- Tanaka, Y., Uemori, C., Kon, T., Honda, M., Wahyudiono, Machmudah, S., Kanda, H., & Goto, M. (2020). Preparation of liposomes encapsulating  $\beta$ -carotene using supercritical carbon dioxide with ultrasonication. *The Journal of Supercritical Fluids*, *161*, 104848. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2020.104848>
- Van Nieuwenhuyzen, W.; Szuhaj, B. F. (1999). Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *100*(7), 282–291. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4133\(199807\)100:7%3C282::AID-LIPI282%3E3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4133(199807)100:7%3C282::AID-LIPI282%3E3.0.CO;2-W)
- Zhao, L., Temelli, F., & Chen, L. (2017). Encapsulation of anthocyanin in liposomes using supercritical carbon dioxide: Effects of anthocyanin and sterol concentrations. *Journal of Functional Foods*, *34*, 159–167. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.04.021>
- Zhao, L., Temelli, F., Curtis, J. M., & Chen, L. (2017). Encapsulation of lutein in liposomes using supercritical carbon dioxide. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, *100*(Pt 1), 168–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.055>
- Zhao, Y., Xin, Z., Li, N., Chang, S., Chen, Y., Geng, L., Chang, H., Shi, H., & Chang, Y. Z. (2018). Nano-liposomes of lycopene reduces ischemic brain damage in rodents by regulating iron metabolism. *Free radical biology & medicine*, *124*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.082>
- Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* (pp. 3–29). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_2)