



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS
LIPÍDICAS SÓLIDAS SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y
MECÁNICAS DE RECUBRIMIENTOS “*IN VITRO*”.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

MARÍA DEL CARMEN PETRÓN MUÑOZ

DIRECTORA DE TESIS:

M. EN C. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

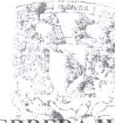
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

D. N. A. E.
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
CUAUTITLAN

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Efecto de la concentración de nanopartículas lipídicas sólidas sobre las
propiedades ópticas y mecánicas de recubrimientos "In Vitro"

Que presenta la pasante María del Carmen Petrón Muñoz

Con número de cuenta: 405094253 para obtener el título de:

Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlan Izcalli, Mex. a 26 de abril de 2011

| | | |
|--------------|---|---------------------------------|
| PRESIDENTE | <u>Dra. María Elena Vargas Ugalde</u> | <u>Ma Elena Vargas Ugalde</u> |
| VOCAL | <u>Dr. David Quintanar Guerrero</u> | <u>DM</u> |
| SECRETARIO | <u>M.C. María de la Luz Zambrano Zaragoza</u> | <u>M. de la Luz Zambrano</u> |
| 1er SUPLENTE | <u>M.C. Julieta González Sánchez</u> | <u>Julieta González Sánchez</u> |
| 2º SUPLENTE | <u>Dra. María Guadalupe Sosa Herrera</u> | <u>MG</u> |

AGRADECIMIENTOS

Cuando alguien evoluciona, también evoluciona todo a su alrededor. Cuando tratamos de ser mejores de lo que somos, todo a nuestro alrededor también se vuelve mejor.

Eres libre de elegir, para tomar decisiones, aunque solo tú las entiendas. Toma tus decisiones con coraje, desprendimiento y a veces con cierta dosis de locura.

P. Coelho

Son muchas las personas especiales a las cuales me gustaría agradecer su amistad, ánimo, apoyo, y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón sin importar en donde están o si alguna vez leen estos agradecimientos quiero darles las gracias por formar parte de mi vida, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

A Dios porque me dio la oportunidad de vivir y por regalarme una familia maravillosa y sobre todo por darme fortaleza espiritual.

A mi papá porque siempre me brindo su apoyo, gracias por tu comprensión y tus palabras de aliento, por demostrarme que estas orgulloso de mí a pesar de que cometí muchos errores y sobre todo gracias porque sacrificaste tu vida y tus sueños por sacarnos adelante a mis hermanos y a mí, este logro lo quiero compartir contigo, gracias por creer en mí, quiero que sepas que ocupas un lugar muy especial en mi vida.

Mami, no me equivoco si digo que eres las mejor mamá del mundo, gracias por todo tu esfuerzo y tu apoyo. Gracias por que aunque lejos, siempre has estado a mi lado y sobre todo gracias por cuidar a mi bebe cuando el necesitaba más cuidados y por demostrarme que se puede seguir adelante a pesar de las adversidades.

Gracias a los dos porque me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

A mi hermanos Diana, Luisa, Luciano, Liz y Vane, por regalarme toda una vida de alegría, aunque también de muchos disgustos, todo esto que estoy haciendo es para ustedes, para demostrarles que se puede lograr todo lo que uno se propone, gracias por quererme tanto y sobre todo a ti Güera porque siempre me diste ánimos para seguir adelante, por tu apoyo y por todas tus palabras de aliento. Los quiero mucho.

A mi hermano Tñoito (Q.e.p.d.), por que durante el tiempo que estuviste con nosotros nos enseñaste muchas cosas y sobre todo a luchar por la vida, gracias por todo y que Dios te tenga en su gloria. Cuidanos siempre y no olvides que te queremos mucho y nunca te olvidaremos.

A mis amigas Bere, Claus, Cris, Irene, Kika, Licha, Lupita, Magas y Viris por todo su apoyo y comprensión, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por hacerme sentir que nunca estuve sola, gracias por todo lo que vivimos en estos 5 años, por los momentos de alegría y tristeza que pasamos juntas y sobre todo gracias por ser mis amigas y recuerden que las llevaré en mi corazón.

A mi flaquito, por su paciencia y comprensión, por su empeño y sobre todo por ser como es. Gracias por que tú eres la persona que más ha sufrido las consecuencias del trabajo realizado. Gracias por tus palabras de aliento y sobre todo por apoyarme y animarme cuando quería darme por vencida.

A mi hijo Tñoito, a quien con el corazón llenos de tristeza tuve que robarle horas de convivencia, cuidados y juegos para poder terminar mi carrera, agradeciéndole que a cambio al verme, brille su mirada y corra con alegría hacia mí, brindándome sonrisas y mil besos, demostrándome así su gran cariño.

Para ti hijo que desde que naciste eres mi mayor ilusión, mi valentía, mi fuerza, mi alegría...la razón de mi vida. Te amo.

A mi prima Mari que más que ser eso parecía mi mamá, porque siempre estaba regañándome porque no me apuraba a escribir la tesis y porque siempre estuvo a mi lado apoyándome. Gracias por todo.

A mi padrino que nunca perdió la fe en mí y porque siempre estuvo pendiente de mí. Gracias por estar a mi lado y por toda tu comprensión y repetirme a cada momento que debía echarle ganas a la tesis ya que era mi último escalón.

A la maestra Luz por brindarnos su apoyo en el proyecto, por toda su paciencia y comprensión, por ser una persona con una calidad humana admirable y sobre todo por ayudarnos a tener fe en nosotras mismas y levantarnos las moral (a Irene y a mí), gracias por todo el cariño y buenos ejemplos que nos brindó. La quiero mucho.

Al Dr. Quintanar por defendernos de sus alumnos y por permitirnos trabajar en su laboratorio.

Al I .A. Alfredo Álvarez, por su apoyo en el préstamo de material, para la realización del proyecto, gracias por que durante el tiempo que nos dio clase, se mostro como una persona íntegra, pero fuera de clase es una persona excepcional, gracias por todo el apoyo y cariño que nos demostró.

A la UNAM por permitirme ser parte de esta gran institución y permitirme ser una profesionista.

Y no me puedo ir sin antes decirles, que sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado, tantas desveladas sirvieron de algo y aquí está el fruto. Les agradezco a todos ustedes el haber llegado a mi vida y el compartir momentos agradables y momentos tristes, pero esos momentos son los que nos hacen crecer y valorar a las personas que nos rodean.

ÍNDICE

| | | |
|----------|--|----|
| I. | RESUMEN DEL TRABAJO | 1 |
| II. | INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1. | MARCO TEÓRICO | 4 |
| 1.1. | Generalidades sobre recubrimientos comestibles | 4 |
| 1.2. | Propiedades de los recubrimientos comestibles | 7 |
| 1.2.1. | Propiedades físicas | 7 |
| 1.2.1.1. | Solubilidad | 7 |
| 1.2.1.2. | Opacidad | 7 |
| 1.2.1.3. | Espesor | 8 |
| 1.2.2. | Propiedades de barrera | 8 |
| 1.2.2.1. | Permeabilidad al vapor de agua | 8 |
| 1.2.2.2. | Permeabilidad a los gases | 9 |
| 1.2.3. | Propiedades mecánicas | 10 |
| 1.2.4. | Propiedades ópticas | 11 |
| 1.3. | Goma xantana | 12 |
| 1.3.1. | Aplicaciones de la goma xantana en la industria de alimentos | 13 |
| 1.3.2. | Propiedades de los recubrimientos con base xantana | 15 |
| 1.4. | Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) | 16 |
| 1.4.1. | Generalidades | 16 |
| 1.4.2. | Métodos de preparación de las NLS | 18 |
| 1.4.2.1. | Homogeneización a alta presión (PHP) | 18 |
| 1.4.2.2. | Homogeneización a alta presión en caliente | 18 |
| 1.4.2.3. | Homogeneización a alta presión en frío | 19 |
| 1.4.2.4. | Técnica de microemulsión | 20 |
| 1.4.2.5. | Método de emulsificación-evaporación y emulsificación-difusión de soluciones lipídicas | 21 |
| 1.4.2.6. | Método de microemulsificación | 24 |
| 1.4.2.7. | Método de emulsificación mediante membrana de contacto | 25 |
| 1.4.3. | Características de las NLS | 26 |
| 2. | METODOLOGÍA EXPERIMENTAL | 28 |

| | |
|--|----|
| 2.1. Objetivos | 28 |
| 2.2. Metodología de investigación experimental | 29 |
| 2.2.1. Materiales | 29 |
| 2.3. Preparación de la goma xantana | 29 |
| 2.4. Preparación de Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) | 29 |
| 2.4.1. Determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión | 30 |
| 2.4.2. Determinación de potencial zeta (ξ) | 30 |
| 2.5. Formación de recubrimientos “In Vitro” | 31 |
| 2.6. Acondicionamiento de las películas | 32 |
| 2.7. Espesor de las películas | 32 |
| 2.8. Determinación de propiedades mecánicas y ópticas | 33 |
| 2.9. Microscopia electrónica de barrido (MEB) | 34 |
| 2.10. Microscopía óptica | 34 |
| 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS | 35 |
| 3.1. Espesor de las películas | 35 |
| 3.2. Tamaño de partícula | 36 |
| 3.3. Potencial zeta (ξ) | 38 |
| 3.4. Índice de polidispersión (IPD) | 39 |
| 3.5. Propiedades ópticas | 40 |
| 3.5.1. Luminosidad (L^*) | 40 |
| 3.5.2. Índice de blancura (IB) | 43 |
| 3.5.3. Diferencia total de color (ΔE) | 45 |
| 3.6. Propiedades mecánicas | 47 |
| 3.6.1. Resistencia a la tracción (RT) | 47 |
| 3.6.2. Elongación en el punto de ruptura (E) | 50 |
| 3.6.3. Módulo de elasticidad (ME) | 53 |
| 3.7. Microscopía óptica | 55 |
| 3.8. Microscopía electrónica de barrido (MEB) | 57 |
| 4. CONCLUSIONES | 59 |
| 5. BIBLIOGRAFÍA | 61 |

I. RESUMEN DEL TRABAJO

La nanotecnología representa un campo de aplicación actual en la conservación de alimentos mostrando ventajas con respecto a los sistemas formulados a tamaño micrométrico, las nanopartículas coloidales se definen como estructuras de forma esférica, capaces de contener agentes activos que pueden ser liberados de manera controlada y que contribuyen a modificar las propiedades de transporte de recubrimientos y otros sistemas de liberación que permitan incrementar la vida útil de productos alimenticios.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la humedad relativa y temperatura sobre las propiedades mecánicas y ópticas en recubrimientos “*in vitro*” con base en diferentes proporciones de nanopartículas lípidicas sólidas (NLS) y 0.4 % de goma xantana. Las NLS fueron preparadas por el método de emulsificación de alta energía utilizando un sistema de homogenización rotor-stator; las NLS obtenidas se sometieron a caracterización por dispersión de luz en cuanto a tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta con la finalidad de inferir sobre su estabilidad al almacenamiento. Las películas se formaron en placas de teflón a temperatura de 25 °C y H.R. de 50 %, para posteriormente someterlas a HR constante de entre 60 a 90 % y temperatura de 25 °C y 4 °C, con la finalidad de inferir sobre su comportamiento en refrigeración evaluando su espesor, resistencia a la tensión, elongación en el punto de ruptura y módulo de elasticidad. Además de medir los cambios en propiedades ópticas por efecto de la concentración y humedad relativa mediante ensayos colorimétricos y reportando los cambios en luminosidad en las muestras tratadas. Se encontró que las muestras fueron más estables durante las 6 semanas de almacenamiento. El espesor, la luminosidad y el índice de blancura de las películas dependen de la concentración de NLS ya que aumentaban conforme incrementaba dicha concentración. Para la resistencia a la tracción (RT) a temperatura ambiente se observó que aumentó al incrementar la concentración de NLS y en las películas almacenadas en refrigeración las de 60 y 80% de HR, RT disminuyó al aumentar dicha concentración, lo que indica que en estos casos las películas se hicieron más flexibles, la elongación en el punto de ruptura y el módulo de elasticidad también dependieron de la concentración de NLS, lo cual es favorable ya que las películas se vuelven más elásticas. En cuanto a la microscopía óptica y MEB se demostró que las películas fueron uniformes y no presentaron ninguna alteración en su estructura.

II. INTRODUCCIÓN

La investigación sobre recubrimientos comestibles y películas ha sido intensa en los últimos años. Los intentos por disminuir las pérdidas poscosecha y mantener la calidad de la fruta fresca durante más tiempo es una prioridad para todos los productores (Ribeiro *et al.*, 2007).

El desarrollo de películas y recubrimientos comestibles ha recibido mayor atención porque conduce a la extensión de la vida de anaquel de los alimentos además de representar una alternativa amigable con el medio ambiente a diferencia de los recubrimientos sintéticos (Villagómez-Zavala *et al.*, 2008).

Un recubrimiento comestible se define como una barrera delgada de material polimérico formado sobre un alimento como una cubierta, para extender la vida útil del producto; pueden ser usadas para controlar la transferencia de humedad, el intercambio gaseoso y los procesos de oxidación, realzan los atributos sensoriales y nutricionales y actúan como barrera al vapor de agua y gas creando una atmósfera interna en el producto que retrasa su degradación y senescencia (Pavlath y Orts, 2009; Rojas-Graü *et al.*, 2009).

Los materiales que pueden ser usados para hacer películas comestibles incluyen polisacáridos, lípidos y proteínas entre otros materiales, la composición del recubrimiento contribuye a modificar las propiedades mecánicas y de transporte de gases (Parra *et al.*, 2004; Ozdemir y Floros, 2008).

De esta manera, las películas compuestas con la combinación de proteínas o polisacáridos con emulsiones grasas pueden ser de particular interés ya que los lípidos ayudan a disminuir la transmisión de vapor de agua y las proteínas o polisacáridos dan a la película la fuerza e integridad estructural (Kristo *et al.*, 2007).

Otro aspecto importante a considerar son las propiedades ópticas como el brillo y la transparencia ya que son funciones relevantes que se esperan de las películas por su gran impacto sobre la apariencia de los productos cubiertos (Fabra *et al.*, 2010).

Existen gran variedad de métodos para la obtención de recubrimientos comestibles entre los cuales se encuentra la emulsificación en caliente, que consiste en calentar la mezcla de lípido y principio activo de 5 °C - 10 °C por arriba del punto de fusión del lípido y adicionarla mediante agitación mecánica a alta velocidad a una disolución acuosa de surfactante que se mantiene a la misma temperatura obteniéndose así nanopartículas lipídicas sólidas, entre los materiales utilizados para su producción se encuentran lípidos como los triglicéridos, acilglicéridos, ácidos grasos, ceras y complejos cíclicos (Garzón *et al.*, 2008; Villafuerte *et al.*, 2008).

Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) son sistemas de transporte coloidal que se han desarrollado para encapsular y proteger componentes lipofílicos funcionales, tales como lípidos bioactivos y principio activos, la media de tamaño de partícula es de 80 hasta 1000 nanómetros (nm) obteniéndose estas tallas en función a la presión hidrostática aplicada, temperatura de proceso de formación y el número de ciclos de agitación utilizados (Helgason *et al.*, 2009; Freitas y Müller, 1998).

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Generalidades sobre películas y recubrimientos comestibles

El uso de películas y recubrimientos comestibles en la protección y conservación de alimentos ha ido en constante aumento en la industria alimentaria debido a que satisface muchos retos relacionados con el almacenamiento y comercialización de productos alimenticios, además de que ofrecen ventajas sobre los materiales sintéticos, como ser biodegradables y amigables con el medio ambiente (Rodríguez *et al.*, 2006; Ponce *et al.*, 2008).

Una película comestible se define como una capa delgada de material polimérico formado sobre un alimento como una cubierta o colocada sobre o entre componentes alimenticios para producir una atmósfera modificada, extender la vida útil del producto, reducir la descomposición, retrasar la maduración, prevenir los cambios de aroma, color sabor y textura y mejorar la apariencia; pueden ser usadas para inhibir la migración de humedad, el intercambio de gases y los procesos de oxidación, entre otros; mejoran las propiedades mecánicas y texturales, tienen un alto potencial para transportar ingredientes activos como agentes anti-oscurecimiento, colorantes, saborizantes, nutrimentos, especias y componentes antimicrobianos que pueden extender la vida útil del producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos sobre la superficie del alimento y evitan las pérdidas de aromas y sabores volátiles, (Villagómez-Zavala *et al.*, 2008; Olivas *et al.*, 2007; Sothornvit y Rodsamran, 2008; Pavlath y Orts, 2009; Rojas-Graü *et al.*, 2009; Tapia *et al.*, 2008; Rojas-Graü *et al.*, 2007a; Bravin *et al.*, 2006).

Algunos recubrimientos agregan brillo y lustre a los productos básicos, lo que los hace más atractivos y captan la atención de los consumidores (Fisk *et al.*, 2008).

La eliminación del recubrimiento puede ser posible; sin embargo, no están normalmente destinados a su eliminación por separado del material de revestimiento. Por lo tanto, son considerados como una parte del producto final (Han y Gennadios, 2005).

Tradicionalmente los recubrimientos comestibles se han utilizado en la industria para la conservación de fruta fresca como una estrategia para reducir su deterioro y retardar los efectos negativos que son de gran interés para todos los factores involucrados en la producción y distribución de frutas (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

Las películas y cubiertas comestibles han sido aplicadas en carnes y productos cárnicos, pescado, frutas y vegetales, granos, dulces, alimentos frescos, curados, congelados y procesados, manzanas, fresas, mangos, tomate, kiwi y plátano (Rojas-Graü *et al.*, 2007b; Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009; Chien *et al.*, 2007; Casariego *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2001; Sothornvit y Pitak, 2007).

Los recubrimientos comestibles pueden contribuir a incrementar la vida útil de frutas frescas o cortadas por la reducción de la humedad y la migración de sólidos, el intercambio de gases, la respiración y oxidación, así como la reducción o la supresión de desórdenes fisiológicos (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

La composición del recubrimiento contribuye a modificar las propiedades mecánicas y de transporte de gases y a pesar de que son más débiles que las de polímeros sintéticos, proporcionan la biodegradación y puede ser aceptables para el consumo humano y la aplicación farmacéutica (Parra *et al.*, 2004; Ozdemir y Floros, 2008; Bravin *et al.*, 2006; Sothornvit y Pitak, 2007).

Entre las proteínas usadas para las películas se encuentran el gluten de trigo, proteína de soya, proteína de arroz, albúmina de huevo, proteínas de la leche y de la gelatina. Los lípidos también incluyen ceras, acilgliceroles y ácidos grasos, los polisacáridos incluyen la celulosa y derivados, alginatos, pectinas, almidón y derivados y otros (Sobral *et al.*, 2001; Falcão-Rodrigues *et al.*, 2006).

Los recubrimientos hechos a base de polisacáridos son incoloros, tienen un aspecto aceitoso y de bajo contenido calórico; se puede utilizar para aumentar la vida útil de frutas, verduras, mariscos o productos cárnicos para evitar o reducir significativamente la deshidratación,

rancidez oxidativa y oscurecimiento de la superficie; siendo importante resaltar que este tipo de recubrimientos son una pobre barrera al vapor de agua (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009; Bosquez-Molina *et al.*, 2003).

Sin embargo, combinando las ventajas de los polisacáridos, proteínas y/o lípidos se obtienen películas y recubrimientos comestibles multicomponentes con buenas propiedades de barrera y mecánicas, además de buena apariencia (Yi Wu *et al.*, 2002; Villalobos-Carvajal, 2009).

El uso de sistemas multicomponentes, donde las proteínas y/o polisacáridos forman una red continua y cohesiva junto con un material lipídico disperso que mejoran las propiedades de barrera contra la humedad, es una alternativa al diseño de las películas apropiadas para controlar el balance de humedad en el producto (Fabra *et al.*, 2008).

La mayor parte de las películas hidrofílicas (películas a base de polisacáridos o proteínas) proporcionan buenas propiedades mecánicas y organolépticas y son excelentes barreras efectivas a los compuestos de aroma y gases ligeros como el oxígeno y el dióxido de carbono, pero pobres barreras a la humedad, se pueden mejorar mediante la incorporación de materiales hidrofóbicos como las ceras, ácidos grasos saturados de cadena larga, a través de la tecnología de emulsión o laminación. Por otro lado, las películas hidrofóbica (a base de lípidos) tienen propiedades mecánicas pobres, pero de alta resistencia a la humedad pese a que forman películas frágiles además de que se obtienen propiedades sensoriales indeseables y son propensas a la oxidación (Fabra *et al.*, 2008; Yang y Paulson, 2000; Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008; Fabra *et al.*, 2009; Bosquez-Molina *et al.*, 2003; Fisk *et al.*, 2008).

Las propiedades funcionales de las películas comestibles son influidas por parámetros tales como la formulación, la tecnología para la formación de la película, las características de los disolventes, y los aditivos utilizados (Bravin *et al.*, 2006).

Los resultados de las películas comestibles dependen de su composición y las condiciones que se utilizan. Por ejemplo, la humedad relativa (HR) de los alrededores de una película puede afectar su funcionamiento. A medida que aumenta de humedad relativa, la capacidad de las películas para que funcionen como barreras al vapor de agua y los gases se reduce (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008).

1.2. Propiedades de los recubrimientos comestibles

1.2.1. Propiedades físicas

Entre las propiedades físicas más importantes para las películas y cubiertas comestibles se encuentran: color, opacidad aparente, transparencia, solubilidad, y aquellas relacionadas con la resistencia mecánica (Han y Gennadios, 2005).

1.2.1.1. Solubilidad.

La solubilidad es una medida de la integridad de las películas en un medio acuoso y se define como el porcentaje de materia seca total solubilizada después de 24 h de inmersión en agua destilada. Generalmente, mayor solubilidad indica menor resistencia al agua. Esta propiedad afecta la futura aplicación de las películas; por ejemplo, las cubiertas aplicadas sobre los alimentos de alta humedad deben ser insolubles (Sothornvit y Krochta, 2000; Flores *et al.*, 2007).

1.2.1.2. Opacidad

La opacidad, de una dispersión es una medida de la capacidad para enmascarar completamente el sustrato subyacente. A medida que el tamaño de las partículas dentro de la dispersión se reduce, la opacidad se incrementará en relación con el poder de dispersión (Kippax, 2005).

1.2.1.3. Espesor

El espesor de las películas influye significativamente sobre las propiedades de éstas. Sin embargo, esto no ha sido extensamente estudiado a pesar de que se plantea que el control del mismo es necesario por su influencia sobre las propiedades de transporte, y mecánicas de las películas (Cuq *et al.*, 1996; McHugh *et al.*, 1993).

El espesor influye sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas y cubiertas biodegradables hidrofílicas, sin que las causas reales de este fenómeno estén totalmente esclarecidas (Butler *et al.*, 1996).

1.2.1.4. Propiedades de barrera

Las propiedades de barrera de películas comestibles incluyen permeabilidad al vapor de agua, permeabilidad a los gases (O_2 y CO_2) y permeabilidad a los solutos volátiles. La permeabilidad al O_2 y CO_2 son importantes cuando las reacciones de respiración u oxidación puedan afectar la calidad de los alimentos (Lacroix, 2009).

La permeabilidad de solutos volátiles es una propiedad importante para el control cuando la difusión de un compuesto es limitada. Las propiedades de barrera de las películas alimenticias preparadas a partir de polímeros polares (por ejemplo, los polisacáridos) son sensibles a la humedad (Lacroix, 2009).

1.2.1.5. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua está influenciada por el área del material extendido, el espesor inducido y por la diferencia de presión de vapor de agua entre las dos superficies bajo condiciones específicas de temperatura y humedad y el transporte de gases puede ocurrir por dos mecanismos: difusión capilar y difusión activa (Bosquez *et al.*, 2000).

La permeabilidad al vapor de agua se supone que es independiente del gradiente de presión de vapor de agua aplicada a través de las películas. Sin embargo, los materiales hidrofílicos, tales como películas de polisacáridos, se desvían de este comportamiento ideal debido a las interacciones de las moléculas de agua que impregna con grupos polares en la estructura de la película (Rao *et al.*, 2010).

Entre los factores que afectan la permeabilidad de las películas biodegradables se encuentran la propia estructura de la película, (por ejemplo, su porosidad), los aditivos empleados, las condiciones de fabricación, el tiempo y condiciones de almacenamiento, así como la temperatura a la cual se realiza el proceso (McHugh *et al.*, 1996; Butler *et al.*, 1996; Gennadios *et al.*, 1994; Bravin *et al.*, 2006).

La permeabilidad al vapor de agua se puede reducir por la pérdida de peso y la degradación microbiana de los frutos. El conocimiento de la humectabilidad de los recubrimientos también es de particular importancia, ya que es un parámetro que define el capacidad de un recubrimiento para ser distribuida uniformemente en la superficie de las frutas, con lo que afectan directamente a su desempeño como un agente de conservación (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009).

1.2.1.6. Permeabilidad a los gases

Muchos alimentos requieren determinadas condiciones atmosféricas para sostener su frescura y la calidad durante el almacenamiento. El embalaje de un producto alimenticio en una mezcla específica de gases, conocidos como envasado en atmósfera modificada (MAP) puede ayudar a mantener la calidad y seguridad de dichos productos. Para garantizar una composición constante de los gases dentro del envase, se necesita exhibir cierta especificidad al gas. En la mayoría de las aplicaciones MAP, la mezcla de gases en el interior del paquete se compone de dióxido de carbono, oxígeno o nitrógeno, o alguna combinación de estos gases (Lacroix, 2009).

Las propiedades de permeabilidad a los gases de las películas son el resultado deseable en atmósferas modificadas, lo que aumenta la vida útil del producto, sin crear condiciones anaeróbicas. La adición de un ácido graso a través de una emulsión con las proteínas puede aumentar la permeabilidad al O₂ y CO₂ de la película resultante, mientras que la adición de monoglicéridos acetilados proporciona el efecto contrario (Lacroix, 2009).

1.2.2. Propiedades mecánicas

Desde el punto de vista de su comportamiento mecánico, las películas son quebradizas, frágiles y poco elásticas, lo que da origen a la aparición de grietas y agujeros en su superficie que impiden sus propiedades reguladoras de transporte de gases y vapores, mejorándose esto con la adición de sustancias plastificantes para disminuir la fragilidad y aumentar la elasticidad ya que su propósito principal es modificar las propiedades mecánicas. El mecanismo por el cual el plastificante logra estos efectos, involucra alguna interacción entre el polímero y el plastificante que produce una reducción de las fuerzas acumulativas intermoleculares a lo largo de las cadenas poliméricas, conduciendo a una estructura más suave (Cuq *et al.*, 1996; Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008; Gennadios *et al.*, 1996).

Un plastificante es una sustancia de bajo peso molecular no volátil, que es usado en la película para reducir la interacción del biopolímero cadena a cadena y que puede ayudar a aumentar la flexibilidad y extensibilidad de los recubrimientos debido a que reduce las fuerzas intermoleculares mejorando así las propiedades mecánicas y aumenta la movilidad de las cadenas del polímero, disminuye su fragilidad, mediante la reducción de los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas de polímero y el aumento de los espacios intermoleculares y debido a su naturaleza hidrofílica. La incorporación de una sustancia lipídica a la mezcla de revestimiento puede ser necesaria para mejorar las propiedades barrera al vapor de agua (Sothornvit y Pitak, 2007; Srinivasa *et al.*, 2007; Chien-Hsien y Lih-Shiuh, 2008; Tapia *et al.*, 2008; Yang y Paulson, 2000).

Sin embargo, la adición de plastificantes también aumenta la permeabilidad a los gases y al vapor de agua de la película en general y, posiblemente, podría disminuir la resistencia mecánica de la película (Chien-Hsien y Lih-Shiuh, 2008).

La combinación de plastificantes con los componentes principales de las películas, intercalados entre las cadenas poliméricas, son las causas de que las cadenas se separen y haya una rigidez reducida de las estructuras, lo que aumenta la flexibilidad de la película (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008).

Las propiedades mecánicas y de barrera de una película depende de la estructura del polisacárido, la humedad relativa (HR), la composición de la película (por ejemplo, los solutos, lípidos), plastificantes, y otras condiciones ambientales (temperatura, velocidad del secado, la película métodos de formación) (Yang *et al.*, 2010).

La resistencia a la tracción, elongación y módulo de elasticidad son parámetros que se relacionan con las propiedades mecánicas de las películas a sus estructuras químicas. La resistencia a la tracción expresa el esfuerzo máximo desarrollado en una película durante la prueba de tracción. La elongación en el punto de ruptura es una medida de la capacidad de estiramiento de la película antes de la ruptura (Rojas-Graü *et al.*, 2007a).

1.2.3. Propiedades ópticas

En el aspecto sensorial, y en sentido amplio, se pueden considerar como propiedades ópticas todas aquellas que se perciben con el sentido de la vista, así mismo pueden incluirse la forma, el tamaño y las características de superficie (rugosidad, manchas y defectos).

Sin duda, el color es la propiedad óptica más importante. El color sensorial viene determinado por tres atributos psicológicos: tono, saturación y claridad, cuyos estímulos físicos están bien definidos (Villalobos-Carvajal *et al.*, 2009).

1.3. Goma xantana

La goma xantana se descubrió a finales de 1950 en los Laboratorios de Investigación Regional del Norte (NRRL) del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (García-Ochoa *et al.*, 2000).

La goma xantana se produce por fermentación aeróbica de *Xanthomonas campestris*, es un heteropolisacárido con una estructura primaria que consiste en repetidas unidades de pentasacárido formado por dos unidades de glucosa, dos unidades de manosa, y una unidad de ácido glucurónico, en la proporción molar de 2.8:2.0:2.0 (Figura 1).

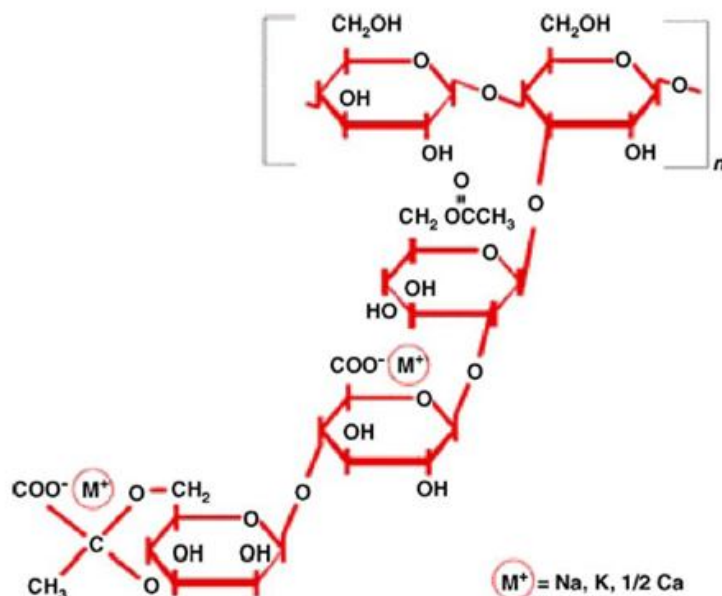


Figura 1. Estructura de la unidad de goma xantana (Rosalam y England, 2006).

Su cadena principal se compone de unidades de β -D glucosa en las posiciones 1 y 4. La estructura química de la cadena de manosa es idéntica la de la celulosa (García-Ochoa *et al.*, 2000; Psomas *et al.*, 2007).

1.3.1. Aplicaciones de la goma xantana en la industria alimentaria

La goma xantana es utilizada en una amplia gama de industrias, como en los alimentos, artículos de tocador, la recuperación de petróleo, los cosméticos, las pinturas a base de agua, etc., debido a sus propiedades reológicas se utiliza como agente de control reológico en medios acuosos (Rosalam y England, 2006).

La goma xantana es altamente soluble tanto en agua fría como en agua caliente, y este comportamiento se relaciona con la naturaleza polielectrolito de la molécula de xantana. Las soluciones de xantana son altamente viscosas, incluso en concentraciones bajas de polímero. Estas propiedades son útiles en muchas aplicaciones industriales, especialmente en la industria alimenticia donde la xantana se usa como espesante, estabilizante de suspensiones y emulsiones, y controla la reología y textura de los sistemas acuosos (García-Ochoa *et al.*, 2000; Simsek, 2009; Veiga-Santos, 2005a).

La goma xantana es capaz de formar soluciones de alta viscosidad, es altamente pseudoplástica, y es estable en un amplio intervalo de concentraciones de sal (hasta 150 g/l de NaCl, temperaturas hasta de 90 °C y pH de 2-11 (Pasquel, 2001).

Se ha utilizado junto con emulsionantes en la preparación de pan sin gluten, pan de alto valor proteínico, rellenos de panadería y jarabes glaseados, pasteles y rellenos para tartas, además de proporcionar una mejora de la estabilidad a la masa de trigo y mejora de cohesión entre los gránulos de almidón, contribuye a la estructura y aumenta la vida útil debido a la retención de humedad. También mejora el procesamiento y el almacenamiento de masa y mezclas, y se ha sugerido que se puede utilizar como un sustituto del gluten en la elaboración de panes. En estos casos, la xantana se usa para mejorar la elasticidad de las mezclas y la masa, y por lo tanto, mejorar la retención de gas durante las fases de entrada y salida (Simsek, 2009; Morris, 2006).

Los alimentos congelados pueden mostrar sinéresis después de uno o dos ciclos de congelación y descongelación. La goma xantana puede mejorar la estabilidad del producto

por el agua libre vinculante. Esto limita el crecimiento de cristales de hielo y proporciona la textura deseada (Katzbauer, 1998).

Cuando se añade a los alimentos líquidos, aumenta la viscosidad a baja velocidad de corte, mientras que tiene poco efecto en la viscosidad de los alimentos a velocidad de corte alta, de este comportamiento se obtienen varias ventajas: la viscosidad disminuye con el aumento velocidad de corte, el producto se vuelve fácil de verter o mezclar y las propiedades organolépticas de los productos alimenticios también se afectan favorablemente (Kim y Yoo, 2006).

Las preparaciones acuosas de xantana son fluidificantes, es decir, que exhiben altas viscosidades a bajas tasas de corte y un adelgazamiento reversible al corte a bajas concentraciones de polímero. Estos efectos forman la base del uso generalizado de xantana como un agente espesante y estabilizador de espumas y emulsiones, y para controlar procesos de difusión, bombeo, vertido y pulverización (Morris, 2006).

Cuadro 1. Aplicaciones de la goma xantana en la industria de alimentos.

| Industria | Aplicaciones |
|------------------|--|
| Lácteos | Leche y crema batida, nata, natillas, pudines, yogurt, helados, sorbetes. |
| Panadería | Mejoradores de masa, rellenos de pastelería |
| Carne y pescado | Alimentos enlatados, patés. |
| Condimentos | Mayonesa, aderezos para ensalada, salsas, sopas, congelados, y alimentos listos para comer, mermeladas, postres. |
| Bebidas | Suspensiones de pulpa, bebidas energetizantes. |

Fuente: Morris, 2006; Katzbauer, 1998.

La goma xantana tiene una amplia variedad de aplicaciones en los alimentos como se muestra en el Cuadro 1. La tixotropía de las dispersiones de xantana ha llevado al desarrollo de una serie de formulaciones de compuestos secos, tales como salsas y postres, que pueden ser calentados o refrigerados sin perder sus características de textura deseable (Morris, 2006).

1.3.2. Propiedades de los recubrimientos con base xantana

Cuando los polisacáridos se utilizan como agentes espesantes y estabilizadores en la formulación de alimentos, reducen la liberación de sabor debido a un aumento de la viscosidad y/o por la interacción molecular con compuestos de sabor (Jouquand *et al.*, 2008).

Cuando se agrega goma xantana diacetilada a los recubrimientos comestibles da como resultado un incremento en la elongación a la ruptura en comparación con recubrimientos hechos a base de goma xantana acetilada (Veiga-Santos *et al.*, 2005b).

Cuando se elaboran películas a base de goma xantana combinada con almidón se modifica la resistencia mecánica del material debido a que su interacción presenta sinergismo con el almidón (Veiga-Santos *et al.*, 2005a).

Chen y Nussinovitch (2000) realizaron estudios con cítricos pequeños, los cuales recubrieron con goma xantana y encontraron que eran los que tenían más brillo comparados con otros recubrimientos a base de hidrocoloides no gelificantes.

En solución acuosa, este polisacárido adopta una conformación helicoidal favorecida a baja temperatura y/o cuando la concentración iónica aumenta. De esta secuencia conformacional se obtiene una macromolécula más rígida que juega un papel importante en la viscosidad de la solución y se ha demostrado que tiene gran impacto en la retención de aromas. Además

de que se considera un polisacárido microbiano que se utiliza para controlar la textura o la consistencia en la preparación de alimentos (Jouquand *et al.*, 2008).

1.4. Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)

1.4.1. Generalidades

Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) ofrecen un medio atractivo para la administración de sustancias activas, en particular para aquellas poco solubles en agua; son la nueva generación de vehículos de sustancia activa y están atrayendo mayor atención como transportadores coloidales de principio activos para uso tópico, consisten en lípidos sólidos puros a temperatura ambiente y al mismo tiempo a la temperatura corporal con un diámetro medio de 80 a 1000 nm que se pueden producir en función de la presión aplicada, la temperatura y el número de ciclos utilizados durante la homogeneización (Subedi *et al.*, 2009; Kheradmandnia *et al.*, 2010; Fang *et al.*, 2008; Hong *et al.*, 2008; Freitas y Müller, 1998; Müller *et al.*, 2006).

Los compuestos de NLS poseen una estabilidad física a largo plazo de al menos 3 años, entre los factores que determinan su estabilidad se encuentran las condiciones de almacenamiento, tales como luz, temperatura y el material de empaque (Freitas y Müller, 1998).

Se desarrollaron a principios de 1990, como una alternativa a sistemas de fármacos como las emulsiones, liposomas y a las nanopartículas poliméricas, las ventajas de la utilización de las NLS como transportadores incluyen la utilización de lípidos fisiológicamente aceptables para su preparación, una buena tolerancia, baja filtración de activos, una alta biodisponibilidad oral, liberación controlada de fármacos de bajo costo, facilidad de producción, protección de los compuestos activos inestables a la degradación, estabilidad física mejorada, combinan ventajas tales como el vertido controlado y la protección de los

compuestos activos (Villafuerte *et al.*, 2008; Hong *et al.*, 2008; Wissing y Müller, 2003; Shah *et al.*, 2007; Weyenberg *et al.*, 2007, Souto *et al.*, 2004).

Las NLS poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar principios activos lipofílicos. El núcleo lipídico se estabiliza con tensoactivos o emulsificantes (Figura 2), para su utilización todos los excipientes utilizados en su preparación deben ser generalmente reconocidos como materiales seguros (GRAS- Generally Recognized as Safe) (Villafuerte *et al.*, 2008).

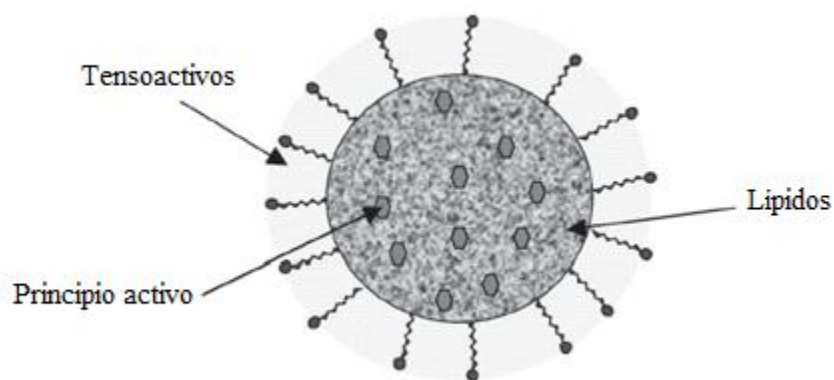


Figura 2. Representación esquemática de las NLS. (Villafuerte *et al.*, 2008)

Las ventajas de la utilización de las nanopartículas lipídicas como transportadores incluyen: la utilización de lípidos fisiológicos en su formulación, evitar el uso de disolventes orgánicos en su preparación y la posibilidad de ser utilizadas en un espectro amplio para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa, entre sus desventajas estarían el posible crecimiento de las partículas durante su almacenamiento, la tendencia hacia una gelificación impredecible, la existencia de cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de principios activos limitada por la estructura cristalina del lípido sólido (Jores *et al.*, 2004; Shegokar *et al.*, 2010).

Entre los materiales utilizados en la producción de NLS se encuentran lípidos, acilgliceroles, ácidos grasos, ceras y complejos cíclicos (Villafuerte *et al.*, 2008).

El uso de lípidos sólidos en lugar de aceites líquidos es una idea muy atractiva para lograr la liberación controlada de fármacos, porque la movilidad de drogas en un sólido es considerablemente menor en comparación con los aceites líquidos (D'oria *et al.*, 2009).

Los objetivos de la capa de cera son mejorar la apariencia, reducir la pérdida de peso y ofrecer un soporte de fungicidas, su principal desventaja es el desarrollo de sabores desagradables, que se atribuyen a la inhibición del intercambio de O₂ y CO₂, lo que lleva a la respiración anaeróbica y a contenidos de etanol y acetaldehído elevados (Chen y Nussinovitch, 2001).

1.4.2. Métodos de preparación de las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS).

1.4.2.1. Homogenización a alta presión (HPH)

La homogeneización a alta presión (HPH) ha surgido como una técnica fiable y potente para la preparación de las NLS. La HPH se ha utilizado durante años para la producción de nanoemulsiones de nutrición parenteral. Los homogeneizadores de alta presión empujan un líquido con alta presión (100-2000 bar) a través de un espacio muy pequeño (en el rango de unas pocas micras). El líquido se acelera a muy alta velocidad en una distancia muy corta (más de 1000 km/h) de esta forma, altas fuerzas de rupturas y cavitación rompen las partículas en el rango de submicrones, el contenido típico de lípidos se encuentran en el rango de 5-10% y no representan ningún problema para el homogeneizador (Mäder y Mehnert, 2005; Charcosset *et al.*, 2005).

1.4.2.2. Homogeneización a alta presión en caliente.

Esta técnica se utiliza desde la década de 1950 para la producción de emulsiones parentales, sin embargo las primeras publicaciones sobre su uso para la producción a gran escala de NLS fue alrededor del año 2000. En la HAP en caliente, los lípidos y principios activos se

funden (aproximadamente 5 °C por encima del punto de fusión de los lípidos) y se combina con una solución acuosa de surfactante que tiene la misma temperatura. Una pre-emulsión del lípido fundido (conteniendo el principio activa cargado) en la fase acuosa continua se obtiene utilizando técnicas de homogenización a altas revoluciones (High-shear mixing device: Ultra-Turrax). La calidad de esta pre-emulsión afecta la calidad del producto final significativamente y es deseable obtener gotas en el rango de nanómetros (Shegokar *et al.*, 2010; Wissing *et al.*, 2004; Jennings *et al.*, 2000; Souto *et al.*, 2005).

En general, mayores temperaturas resultan en menores tamaños de partícula debido a la disminución de la viscosidad de la fase interna (lípido fundido). Sin embargo, las altas temperaturas pueden producir la degradación del lípido y el principio activo. Generalmente, el paso de HAP se repite varias veces (ciclos). Este proceso aumenta la temperatura de la muestra (aproximadamente 10 °C para 500 bar). En la mayoría de los casos entre 3 y 5 ciclos a 500-1500 bar son suficientes para obtener buenos resultados (Müller *et al.*, 2000, Müller *et al.*, 2002).

El producto primario obtenido de la HAP en caliente es una nanoemulsión debido al estado líquido del lípido. Las partículas sólidas se formarán como consecuencia del enfriamiento de la muestra a temperatura ambiente o menor (Palma y Allemandi, 2007; Mäder y Mehnert, 2005).

1.4.2.3. Homogeneización a alta presión en frío

Ha sido desarrollado para superar los siguientes problemas del método en caliente:

1. Posible degradación debido a altas temperaturas de trabajo.
2. Distribución del principio activo en la fase acuosa durante la homogenización.
3. Complejidad del paso de cristalización de la nanoemulsión llevando a modificaciones y/o lípidos fundidos súper enfriados (Mehnert y Mäder 2001).

En el primer paso se efectúa la disolución o dispersión de la sustancia activa en el lípido fundido, el cual contiene el principio activo y es enfriado rápidamente (hielo seco o nitrógeno líquido). Una rápida velocidad de enfriamiento favorece una distribución homogénea del principio activo en la matriz lipídica (soluciones sólidas); el sólido así obtenido se muele para obtener micropartículas en el rango de 20-100 micras, las condiciones de homogeneización son generalmente cinco ciclos a 500 bar (Wissing *et al.*, 2004).

Las micropartículas se dispersan luego en la fase acuosa conteniendo emulsificantes. Esta pre-suspensión se somete a HAP a temperatura ambiente o menor, en este proceso se obtienen un tamaño y dispersión de tamaño mayor que en la HAP en caliente. La técnica de HAP en frío se recomienda para los compuestos extremadamente sensibles a la temperatura y para compuestos hidrofílicos (Müller *et al.*, 2002).

1.4.2.4. Técnica de microemulsión

La técnica de microemulsión la describieron Gasco y colaboradores por primera vez en 1993. Las microemulsiones son soluciones claras o levemente azuladas siendo compuestas de una fase lipofílica, de un tensioactivo y en la mayoría de los casos también de un co-tensioactivo y de agua, por un lado el lípido se funde y la sustancia activa disuelto/dispersado, por el otro, una solución conteniendo el surfactantes y co-surfactante se calienta a una temperatura superior al punto de fusión del lípido y se adiciona al primero bajo agitación moderada. Se forma un sistema transparente y termodinámicamente estable ya que no se requiere energía mecánica para iniciar su formación. La dispersión obtenida dispersa en un medio acuoso frío (2-3 °C) con agitación moderada, se asegura así que el tamaño pequeño de las partículas se debe a la solidificación de la gota de la microemulsión y no es inducida por la agitación. La relación de volúmenes entre la microemulsión caliente y el agua fría está entre 1:25 y 1:50. La cristalización rápida de las gotitas de aceite en el medio acuoso produce las NLS (Müller *et al.*, 2000; Weiss *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008).

1.4.2.5. Método de emulsificación- evaporación y emulsificación-difusión de disoluciones lipídicas

La emulsificación- evaporación consiste en la disolución del polímero y el compuesto en un disolvente orgánico, la emulsión se prepara mediante la adición de agua y un surfactante a la solución de lípidos (Figura 3). La emulsión es obtenida por sonicación y a continuación el disolvente orgánico se evapora a presión reducida, induciendo la precipitación del lípido y la formación de suspensiones casi transparentes, conteniendo NLS cercanas a 100 nm, con un intervalo de dispersión estrecho (Llabot *et al.*, 2008; Del Pozo-Rodriguez *et al.*, 2007).

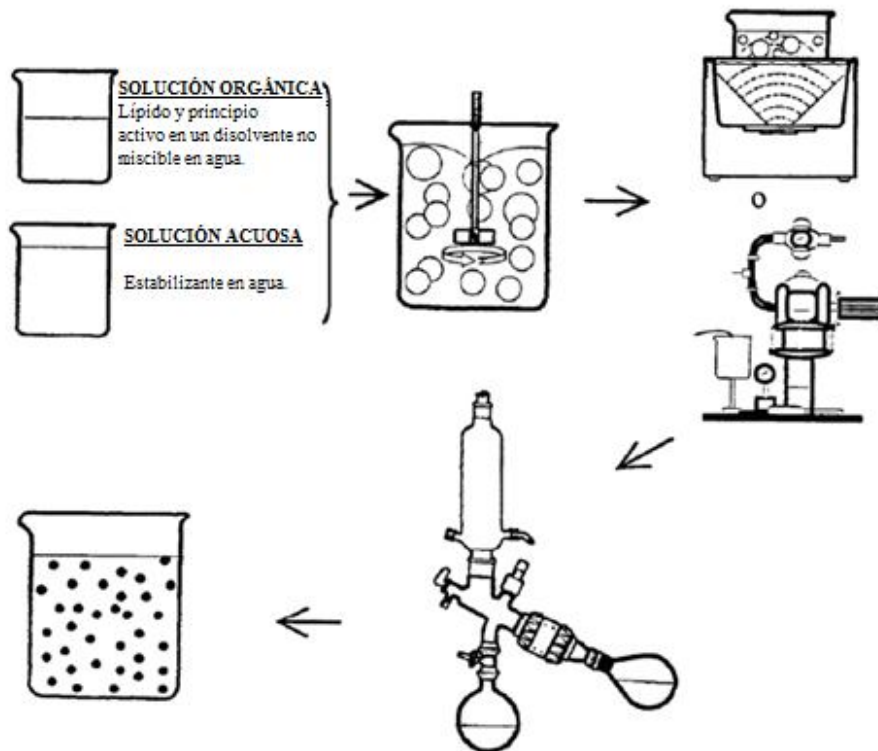


Figura 3. Representación esquemática de la técnica de emulsificación- evaporación (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997).

Una ventaja importante de este método es que al evitar el calor durante la preparación, lo hace adecuado para la incorporación de principios activos termolábiles, sus principales desventajas son: la posible retención de residuos del disolvente, la producción de

dispersiones muy diluidas debido a la limitada solubilidad del lípido en el material orgánico, así como la dificultad de recuperación de los disolventes durante el proceso de escalamiento (Wissing *et al.*, 2004; Garzón *et al.*, 2008).

En el método de emulsificación-difusión (Figura 4) se utilizan disolventes con alta miscibilidad en agua como el alcohol bencílico y el lactato de butilo. El carácter anfifílico del disolvente empleado en la preparación de NLS favorece su difusión en un menor volumen de medio acuoso y limita la capacidad de solubilización de los lípidos comúnmente usados, dando lugar a la rápida precipitación de las gotas y a la obtención de suspensiones más concentradas; generalmente también provocan cambios en la conformación de las cadenas de las macromoléculas de los emulsificantes, lo que altera su interacción con la interfase, modificando la capa estabilizante y el potencial zeta de las partículas (Trotta *et al.*, 2003).

Esta técnica tiene dos fases: la fase orgánica en donde se tiene el disolvente saturado de agua, en el cual se encuentra el principio activo a encapsular y el polímero y la fase acuosa, compuesta por agua saturada de disolvente, en donde se encuentra el estabilizante. Estas dos fases con agitación mecánica vigorosa forman una emulsión O/W. Después se adiciona agua a la emulsión, lo que causa que el disolvente orgánico difunda hacia la fase externa, provocando la formación de nanopartículas. El exceso de disolvente es retirado por medio de destilación o filtración tangencial, obteniendo nanopartículas libres del disolvente orgánico, (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1998; Mora-Huertas, *et al.*, 2011; Wissing *et al.*, 2004; Hu *et al.*, 2002).

Cuando el proceso de difusión de disolvente se lleva a cabo a bajas temperaturas (0 °C-25 °C) generalmente se incrementa la eficiencia de la encapsulación. La rápida precipitación del lípido en forma de gotas antes de que pueda presentarse la coalescencia de las partículas, favorece el depósito del principio activo en la interfase lípido-agua y disminuye su escape hacia la fase acuosa (Garzón *et al.*, 2008).

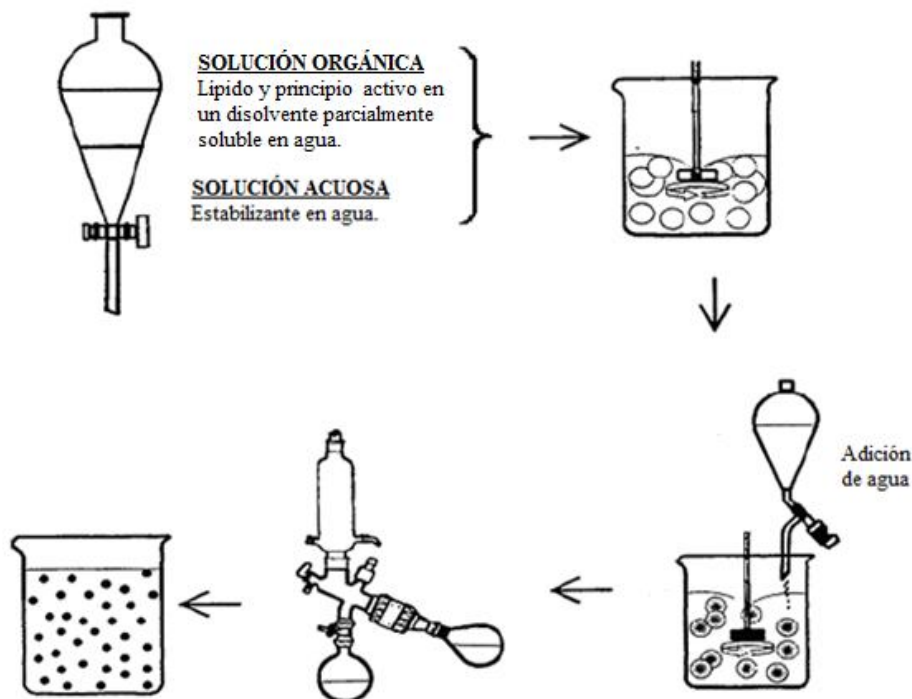


Figura 4. Representación esquemática de la técnica de emulsificación-difusión.

(Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997).

La presencia de polímeros hidrofílicos en la fase acuosa origina la formación espontánea de partículas menores a 1 μm , ya que son adsorbidos rápidamente por la superficie de las gotas formadas durante la difusión del disolvente. El alcohol polivinílico (PVA) produce la agregación de las NLS cuando el medio acuoso es ácido, debido a que el potencial zeta del sistema se encuentra cercano a cero, facilitando la separación de las partículas por centrifugación. Si el medio no está acidificado, no se lleva a cabo la coacervación ni la precipitación del lípido. El efecto del pH en la estabilidad de las NLS determina las condiciones de preparación y de aplicación de las dispersiones de NLS (Hu *et al.*, 2004).

La concentración de la fase acuosa pudiera incrementar el tamaño de partícula hasta un valor límite. A baja concentración el tamaño de las NLS está determinado por la cantidad de carga en las gotas de lípido, mientras que a alta concentración, dependerá de la masa de las gotas. Este efecto podría disminuir con la presencia de co-tensoactivos (como el Pluronic F68) en el agua, dado que mejoran la estabilidad termodinámica de las SLN. Por otro lado, la viscosidad de la fase externa acuosa podría modificar la cinética de difusión

del disolvente y también el tamaño hidrodinámico de las partículas (Shahgaldian *et al.*, 2003).

1.4.2.6. Método de microemulsificación

La preparación de NLS por el método de microemulsificación permite obtener partículas termodinámicamente estables, ópticamente isotrópicas y con un tamaño que puede ser controlado en el momento de la emulsificación. La elaboración de NLS por este método se logra debido a la cristalización de las gotas de lípido dentro del medio acuoso. El tamaño de partícula dependerá principalmente del tipo de tensoactivos y co-tensoactivos, y de las condiciones experimentales (Garzón *et al.*, 2008).

La optimización del proceso comienza realizando pruebas de solubilidad del principio activo en los lípidos y solubilizantes, utilizando diagramas de fase pseudoternarios. Este mecanismo de selección da lugar a procedimientos de alta eficiencia de carga, NLS con un tamaño promedio inferior a 200 nm y un índice de polidispersión (IP) inferior a 0.6 (Garzón *et al.*, 2008).

Cuando las condiciones de microemulsificación son violentas se originan NLS con perfiles bimodales. La agitación mediante ultrasonido generalmente da lugar a estructuras en las que el lípido líquido forma nanocompartimentos dentro de la matriz sólida, incrementando la capacidad de carga de las partículas (Castelli *et al.*, 2005).

Una microemulsión típica para obtener NLS se elabora a partir de 10% de lípido sólido fundido, 15% de tensoactivo y 10% de co-tensoactivo. La fase oleosa tibia se adiciona con flujo lento o mediante inyección con una jeringa termosellada, dentro de un exceso de agua fría (1:50), dispersando con agitación fuerte o ultrasonido hasta lograr la formación de gotas del lípido y su posterior precipitación. El exceso de agua se remueve por ultrafiltración o por liofilización. La pre-emulsión obtenida debe ultrasonificarse hasta la homogeneización completa, manteniéndose a 5 °C por encima del punto de fusión de los lípidos con objeto de prevenir la recristalización. Las dispersiones de SLN preparadas por

microemulsificación y por precipitación generalmente presentan partículas con características físicas equivalentes, que pueden ser esterilizadas por filtración (membrana de 0.2 μm) y purificadas mediante diálisis (Fontana *et al.*, 2005).

1.4.2.7. Método de emulsificación mediante membrana de contacto

Las membranas de contacto (Figura 5) se han usado recientemente en la preparación de SLN, ya que son fáciles de usar, aseguran el control del tamaño de las partículas mediante la selección de los parámetros de producción y permiten el fácil escalamiento del proceso. Son de cerámica, usualmente de 40 cm con 1 cm de diámetro externo y 0.6 cm de diámetro interno, con $7.5 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ de superficie y poros de 0.1-0.45 mm, que se comportan como capilares paralelos (Garzón *et al.*, 2008).

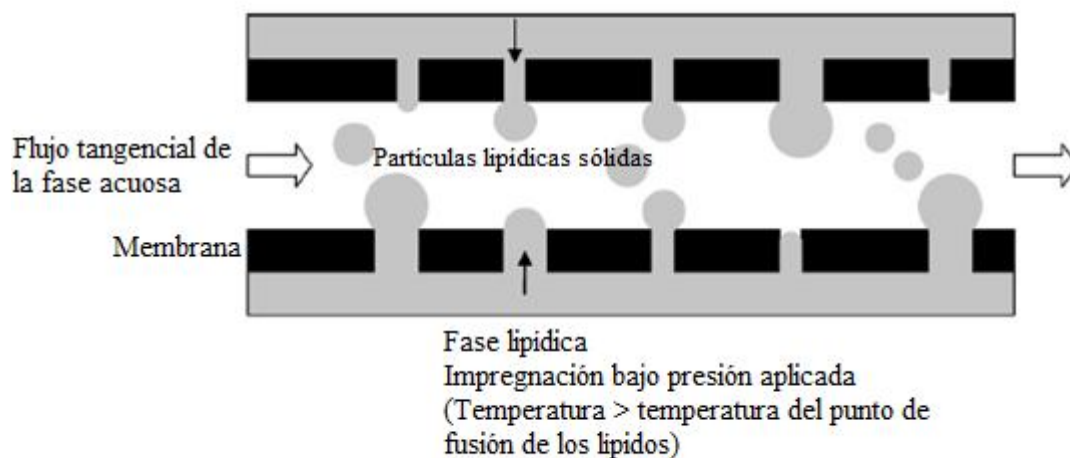


Figura 5. Representación esquemática de la membrana de contacto para la preparación de NLS (D'oria *et al.*, 2009)

Contienen una capa activa de ZrO_2 sobre un soporte de $\text{AlO}_3\text{-TiO}_2$. La fase del lípido contenida en un recipiente presurizado con atmosfera de nitrógeno se presiona, a una temperatura por arriba del punto de fusión del lípido, a través de los poros de la membrana permitiendo la formación de pequeñas gotitas. La fase acuosa circula dentro del módulo de la membrana, y barre las gotitas que se forman en los contactos del poro. Las

nanopartículas son formadas por el enfriamiento siguiente de la preparación a la temperatura ambiente (D'oria *et al.*, 2009; Charcosset *et al.*, 2005).

Los factores que más impactan el tamaño de las NLS obtenidas en las membranas de contacto son: a) la cantidad de la fase lipídica, cuyo aumento satura los poros disminuyendo el flujo e incrementando el tamaño de partícula, y b) la temperatura de ambas fases. Mayor velocidad en la fase acuosa únicamente facilita el desprendimiento de las gotas y la homogeneización de la dispersión; un aumento en la presión, incrementa la productividad del proceso, lo cual es potencialmente útil en aplicaciones industriales. Respecto a los poros de la membrana, cuando son más grandes aumentan el flujo, sin que se presente un impacto en el tamaño debido a la influencia preponderante de la tensión superficial (Charcosset *et al.*, 2005).

1.4.3. Características de las NLS

Las características principales de las NLS tales como tamaño de partícula, grado de dispersión del tamaño, potencial zeta, eficiencia de carga y cinética de liberación, están determinadas por la naturaleza de la matriz de lípido, por la mezcla de tensoactivos, la viscosidad de la fase lipídica y de la fase acuosa en el momento de la emulsificación, y también por los parámetros de producción, principalmente por las condiciones de homogeneización y la temperatura.

El análisis del tamaño de partícula se lleva a cabo de forma sistemática con fines de control de calidad. El tamaño de las partículas influye tanto en las propiedades ópticas como en el volumen de las dispersiones de pigmentos y por lo tanto debe estar bien controlado con el fin de entregar un producto que cumpla con los requisitos del cliente en términos de acabado y la manipulación (Kippax, 2005).

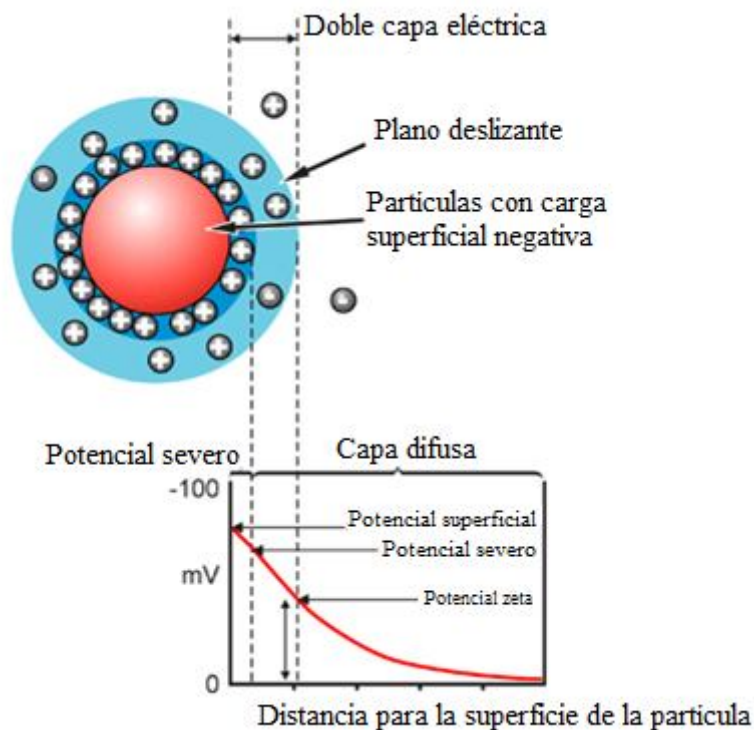


Figura 6. Representación esquemática del potencial Z (Malvern Instruments, 2010).

El conocimiento de la carga de superficie a través de la determinación del potencial Z (Figura 6) permite realizar predicciones acerca de la estabilidad durante el almacenamiento de la dispersión. A valores mayores a 30 de potencial zeta positivos o negativos es menos probable que ocurra la agregación de las partículas, debido a la repulsión eléctrica. El pH de la formulación final afecta el potencial zeta. La adición de altas concentraciones de electrolitos produce una compresión de la capa de difusión, llevando a una disminución del potencial zeta. Se determina midiendo la velocidad de deslizamiento de la partícula en un campo eléctrico de fuerza conocida (Palma y Allemandi, 2007; Mäder y Mehnert, 2005; Villafuerte *et al.*, 2008).

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1. Objetivos

General:

Determinar el efecto de la proporción nanopartículas lipídicas sólidas-goma xantana sobre las propiedades ópticas y mecánicas en recubrimientos “*in vitro*” para correlacionarlo con los cambios de aspecto y resistencia en la superficie de fruta fresca.

Particulares:

1. Evaluar el efecto de la humedad relativa sobre las propiedades de tensión mecánica en recubrimientos con diferentes proporciones de nanopartículas lipídicas sólidas/goma xantana que delimite la variación en propiedades por efecto de la temperatura.
2. Establecer el efecto de la concentración de nanopartículas lipídicas sólidas sobre las propiedades ópticas (luminosidad e índice de blancura) de los recubrimientos formados “*in vitro*”.

2.2. Metodología de investigación experimental

2.2.1. Materiales

Para la preparación de los sistemas se utilizaron los siguientes reactivos: Cera de candeuba® (Multiceras®, México) como fase lipídica, pluronic-127 (Sigma, Steinheim, Alemania) como estabilizante, agua destilada calidad Milli-Q® (Millipore®, USA-Bedford, MD), goma xantana (Sigma Aldrich, E. U. A.) la cual fue utilizada como matriz continua del recubrimiento, propilenglicol (99 %) (Sigma Aldrich, E. U. A.) como plastificante y glicerol (Cosmopolita, México) como agente regulador de humedad.

2.3. Preparación de goma xantana

La preparación de la goma xantana se realizó a temperatura ambiente, la concentración que se manejó fue de 0.4 % de goma xantana y 0.5 % de propilenglicol como plastificante.

2.4. Preparación de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)

Las nanopartículas lipídicas sólidas fueron preparadas por el método homogenización a alta velocidad de corte en caliente, este proceso se lleva a cabo a temperaturas por encima de la temperatura de fusión de la cera de candeuba (83 °C). Para la obtención de las NLS, se utilizaron 10 % de cera de candeuba y 5 % de alcohol polivinílico como surfactante, la pre-emulsión se obtuvo a 90 °C O/W, para posteriormente ser homogeneizada con la ayuda de un dispositivo rotor-stator a alta velocidad (Ultra Turrax modelo T50 de IKA USA) con 3 ciclos de 6400 rpm durante 10 min. cada uno.

2.4.1. Determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión

El tamaño de partícula fue determinado mediante la técnica de difusión de luz integrada a través de un Z-sizer 4 (Zetasizer Nano Series Malvern, Inglaterra), con dispositivo de dispersión láser con un ángulo de 90° durante 180 segundos, a una temperatura de 25 °C en una celda de cuarzo. Cada suspensión fue diluida en agua Milli Q® para asegurar que el número de partículas contadas por segundo están dentro del rango de sensibilidad del instrumento, las pruebas fueron realizadas por triplicado. La estabilidad de las NLS, se evaluó durante 6 semanas en muestras almacenadas a 4 °C, determinándose el tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta.

El instrumento utiliza el método de espectroscopia de correlación fotónica para medir el tamaño de las partículas en movimiento browniano o constante térmico aleatorio. Un haz de luz es dirigido a través de la muestra diluida y dispersada por las gotas en un patrón característico y captado por una serie de fotodiodos.

2.4.2. Determinación de potencial zeta (ξ)

Para el potencial zeta las pruebas fueron normalizadas con dispersiones de poliestireno estándar ($\zeta = -55$ mV). Para la realización de la prueba se utilizó un Z-sizer 4 (Zetasizer Nano Series Malvern, Inglaterra), la muestra de NLS se diluye en agua Milli Q® y se coloca en una celda de cuarzo, para realizar la medición con un ángulo de detección de 17° a una longitud de onda de 633 nm a 25 °C.

El método mide la velocidad de una partícula que se mueve en un líquido cuando se acerca un campo eléctrico aplicado. Cuando las gotas están suspendidas en un líquido, se mueve hacia el electrodo de carga opuesta.

2.5. Formación de recubrimientos “*in vitro*”

Para la formación de los recubrimientos se partió de las NLS elaboradas con un contenido de cera de candeuba® del 10 %, preparando suspensiones con concentraciones del 60 al 80 % de la suspensión madre, 0.4 % de goma xantana y 0.5 % de propilenglicol de acuerdo con las condiciones establecidas para conservación de guayaba (García, 2011). Una vez preparadas las suspensiones y con la finalidad de evitar la interferencia de burbujas de aire en los resultados se llevó a cabo la eliminación del gas por vacío, como lo muestra la Figura 7.

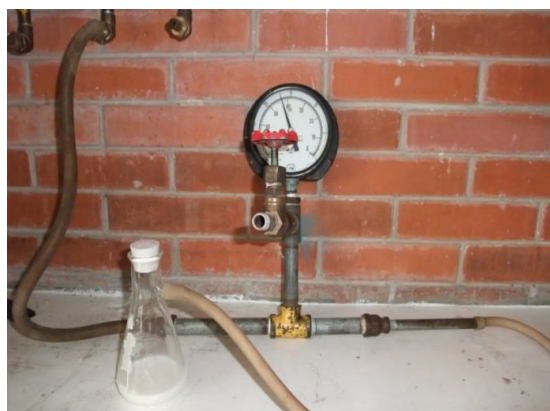


Figura 7. Eliminación de burbujas de las muestras.

Una vez desgasificadas las muestras se tomó la cantidad suficiente en ml. para recubrir un área de 192.5 cm² de una placa de teflón (Figura 8), de tal manera que existirá una distribución homogénea en la superficie dejándose secar por 15 h a 25 °C y H.R. ~ 60 %.



Figura 8. Placas de teflón para la formación de las películas.

Las películas formadas fueron retiradas de las placas y cortadas en probetas de acuerdo al método D882 (ASTM, 2002). La Figura 9 Muestra la forma en que fueron cortadas las probetas para su acondicionamiento y evaluación de propiedades mecánicas.

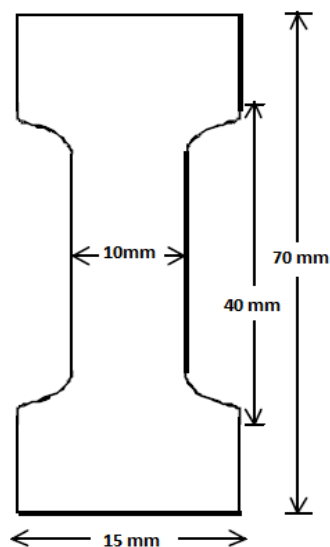


Figura 9. Corte de las muestras para las pruebas mecánicas.

2.6. Acondicionamiento de las películas

Previo a los análisis, las películas fueron acondicionadas por 4 días en un desecador a 60, 70, 80 y 90 % de HR a una temperatura de ± 25 °C y 4 °C, el ajuste de la H.R. se llevó a cabo con soluciones de agua/glicerol (Marcolli y Peter, 2005).

2.7. Espesor de las películas

Para medir el espesor de las películas se utilizó un micrómetro digital (Mitutoyo modelo 293-348, Japón) con una sensibilidad de 0.001 mm, se tomó el espesor de cada película con un total de 7 siete mediciones para cada lote y calculando posteriormente el promedio para cada muestra.

2.8. Determinación de propiedades mecánicas y ópticas

Para la obtención de las pruebas mecánicas se utilizó un texturómetro Instron modelo 4411. Las propiedades mecánicas evaluadas fueron el módulo de elasticidad (ME), resistencia a la tracción (RT) y elongación en el punto de ruptura (E) a partir de curvas tensión-deformación. La metodología utilizada fue de acuerdo al método D882 (ASTM, 2002). Todas las muestras para dichos análisis fueron cortadas utilizando un molde preformado y mediante la aplicación de presión.

El ensayo se llevó a cabo a una velocidad de 50 mm/min hasta la fractura y se obtuvieron muestras como las que se presenta en la Figura 9, las cuales fueron fijadas entre dos placas de metal como las que se muestran en la Figura 10.



Figura 10. Mordazas para las pruebas mecánicas.

Los parámetros ópticos de las películas fueron medidos con un colorímetro Minolta modelo CR-300 como el que se presenta en la Figura 11, utilizando los parámetros del sistema CIE $L^* a^* b^*$, a 2° del observador e iluminante D65.

Se obtuvieron los parámetros de color L^* , a^* y b^* con la finalidad de obtener los cambios en luminosidad y se calculó la diferencia total de color (ΔE) con respecto a la película de control y el índice de blancura (IB), obteniéndose de acuerdo con las ecuaciones (1) y (2), (Monedero *et al.*, 2009).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \dots \dots \dots (1)$$

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \dots \dots \dots (2)$$



Figura 11. Colorímetro Minolta CR-300

2.9. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Con la finalidad de establecer la conformación de los recubrimientos formados, se llevó a cabo la caracterización morfológica superficial por microscopía electrónica de barrido, realizando un corte longitudinal del recubrimiento, colocándolo así en un portamuestras. Las muestras fueron bañadas con oro (~20 nm) utilizando un evaporador catódico Sputter Coater JFC-1100 (Jeol, Tokyo Japan) y se observaron en un microscopio LV-SEM JSM 5600 LV con resolución de 5 nm y 28 kV y de 12-20 Pa de presión en la cámara.

2.10. Microscopía óptica

Con la finalidad de observar la topografía de las películas formadas, evidenciar la ausencia de poros y evitar cambios debidos a la absorción de agua en la superficie, se tomaron micrografías a películas almacenadas a 60 % de HR ya que estas no sufrieron cambios durante su almacenamiento, utilizando para ello un microscopio óptico monocular Iroscope® modelo SI-PHF (E.U.A.) con cámara integrada a 40/0.06 PHP.

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La Figura 12, muestra las películas formadas y que fueron cortadas de acuerdo a las especificaciones descritas en el punto 2.5 para con ellas realizar los ensayos mecánicos y puesto que uno de los puntos importantes a considerar es el espesor del recubrimiento formado, en el siguiente apartado se muestran las variaciones de espesor de las diferentes muestras.

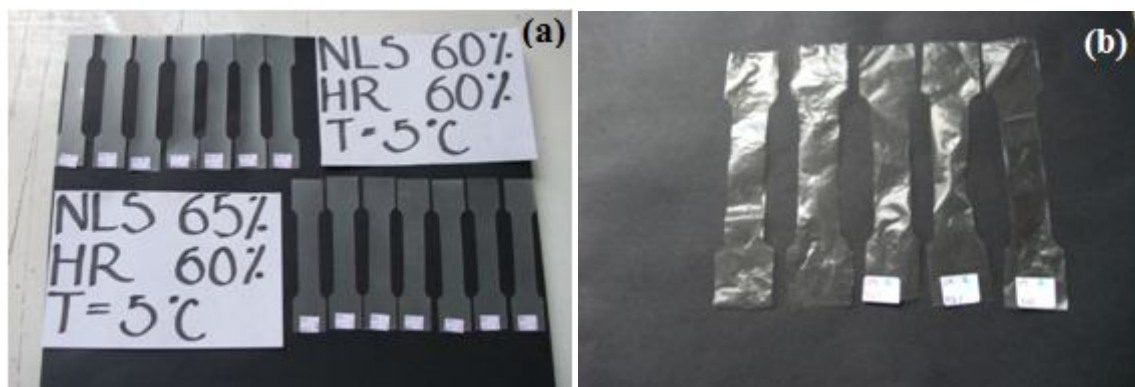


Figura 12. (a) Películas de NLS-Xantana y (b) películas de xantana al 0.4%.

3.1. Espesor de las películas

En la Figura 13, se muestran las variaciones de espesor de las películas formadas en función a la concentración NLS/goma xantana, las muestras con menor espesor fueron las que contenían 60 % de NLS, de acuerdo con un análisis de varianza de dos factores ($\alpha = 0.05$), se estableció que la concentración de NLS tiene una influencia significativa en el espesor de las películas ($p = 0.000$), mientras que no existió un efecto respecto a la humedad relativa ($p = 0.066$), ni una interacción respecto a los factores analizados ($p = 0.373$), por lo que se puede establecer que las variaciones en espesor son únicamente dependientes de la concentración de NLS.

Así mismo se observa en la Figura 9 que conforme se aumenta la concentración de NLS se incrementa el espesor de las películas.

En relación a las películas formadas con goma xantana y tratadas de la misma manera, no se presentan en la figura 13 ya que debido a su falta de maleabilidad solo se obtuvieron de 2 a 3 muestras para analizarlas, por lo tanto, las muestras no fueron representativas, estas tuvieron espesores que oscilan entre 0.029 a 0.032 mm independientemente de la humedad relativa y la temperatura de almacenamiento a la que fueron expuestas. Cabe mencionar que el incremento de espesor debido a las NLS fue aproximadamente 313 % el espesor de la goma xantana lo que se espera tenga influencia sobre las propiedades mecánicas.

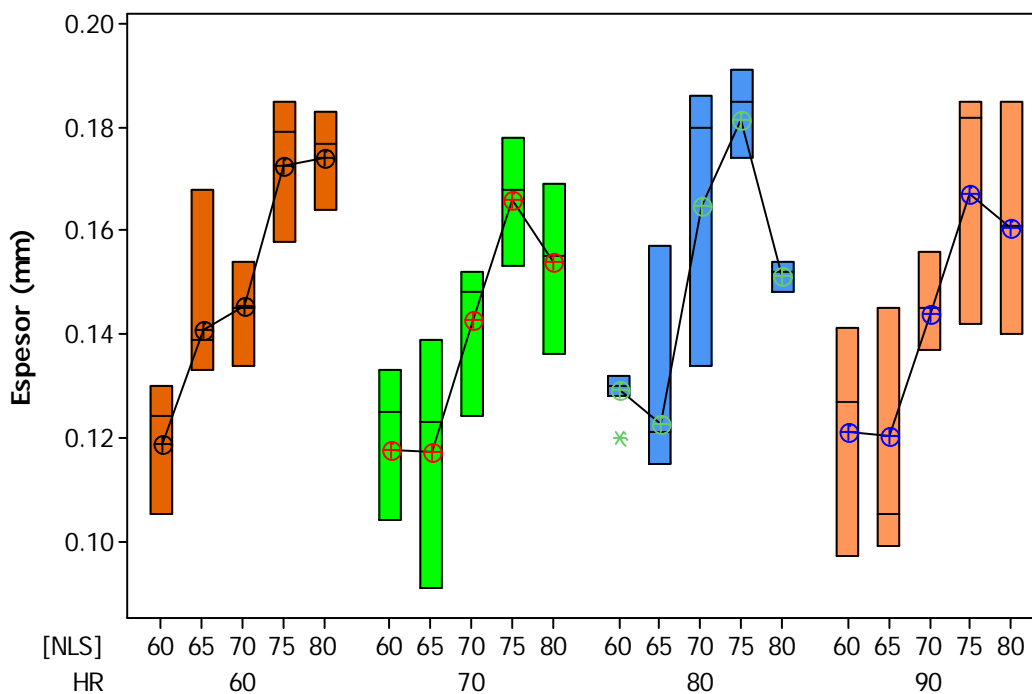


Figura 13. Espesor de las películas.

3.2. Tamaño de partícula

En la Figura 14 se muestran los cambios asociados al tamaño de partícula de las dispersiones de NLS sin goma xantana y de las proporciones NLS-goma xantana, el tamaño de partícula se tomó en función al diámetro ($d_{4,3}$), que es el que mide el volumen de las partículas. Las muestras presentaron variaciones que fueron de los 200 a los 240 nm sin que por ello se consideren variaciones considerables durante el almacenamiento, estos cambios

en el comportamiento pueden deberse a la cantidad de la fase lipídica, lo que provoca una ligera agregación y por ende modifica el tamaño de partícula, y la temperatura de las fases (Garzón *et al.*, 2008).

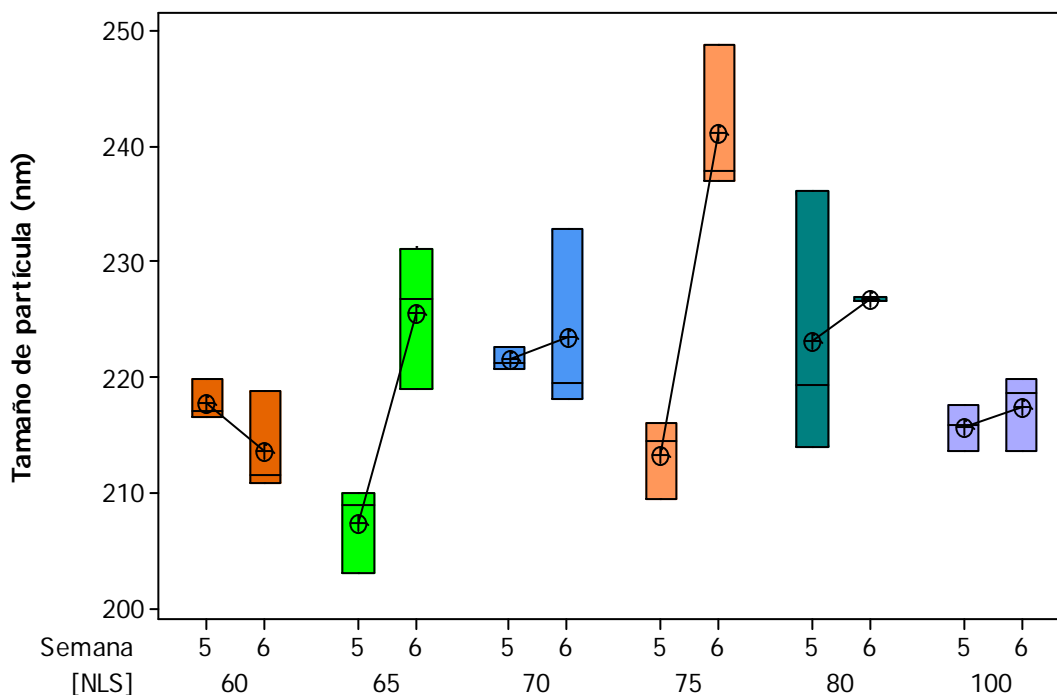


Figura 14. Tamaño de partícula de las soluciones de NLS/Xantana.

De acuerdo con Mora-Huertas, *et al.*, (2011) el tamaño de partícula es un parámetro crítico, ya que está directamente vinculado a la estabilidad, la captación celular, biodistribución y la liberación de sustancias activas y/o funcionales. Por lo que en el caso de las NLS-goma xantana se puede establecer que es un sistema de tamaño homogéneo que se espera que se distribuyan homogéneamente.

En cuanto al análisis de varianza de dos factores ($\alpha = 0.05$) se estableció que el tamaño de partícula se vio afectado tanto por la concentración de NLS como por el tiempo de almacenamiento, estableciéndose que existe una interacción entre la concentración y el tiempo.

3.3. Potencial zeta (ξ)

En la Figura 15 se muestra el comportamiento del potencial zeta (ξ) durante el periodo de almacenamiento considerando las mediciones a las 5 y 6 semanas, en esta se observa que las variaciones en el potencial fueron desde -40 a -30 mV, siendo dependientes de la concentración de NLS en el sistema. El comportamiento en el potencial en general fue variable, mostrándose las menores diferencias estadísticas con respecto al tiempo en las muestras con 70 y 75 % de NLS, mientras que el resto de los sistemas, manifestaron una mayor variabilidad de los resultados a las seis semanas de almacenamiento.

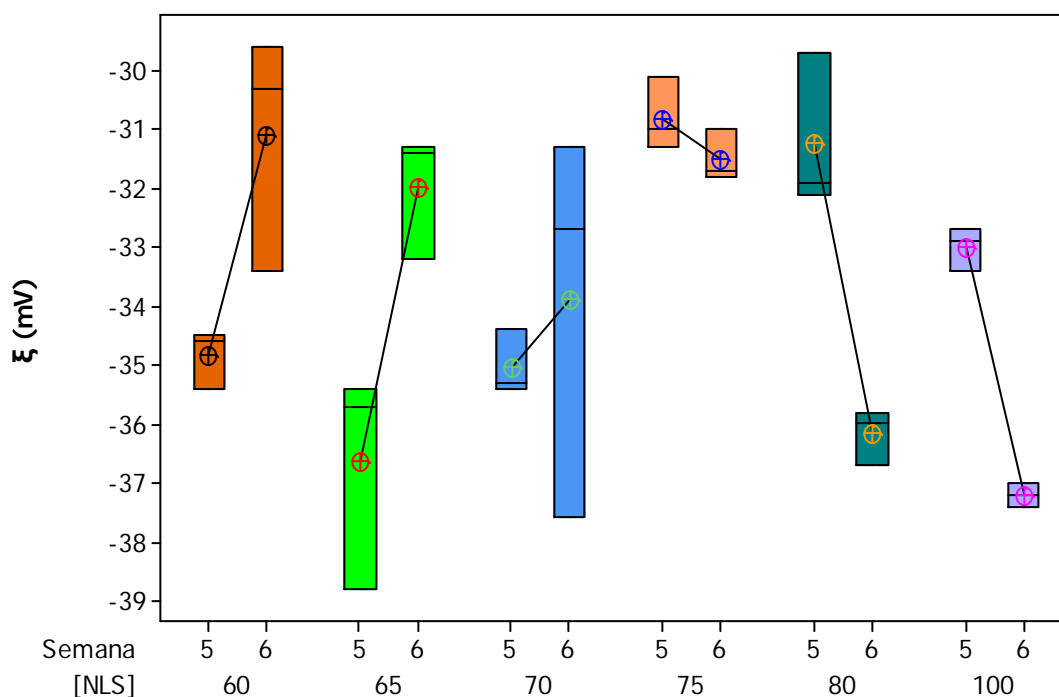


Figura 15. Potencial Z (ξ) de las soluciones de NLS/Xantana

La estabilidad de una partícula es dependiente en gran medida de su potencial zeta (ξ). Puesto que está referida a que las partículas se mantengan en la suspensión sin precipitarse o aglomerarse. Bajo ciertas condiciones, un alto valor absoluto del potencial zeta y su elevada carga en su superficie guía a fuertes interacciones de repulsión entre las mismas partículas dispersadas. En teoría valores mayores a 30, positivos o negativos se repelen entre sí y la dispersión es estable. Por otro lado cuando las partículas tienen valores bajos

de ξ , no habrá suficiente fuerza para impedir la agregación de las partículas. Así mismo la repulsión electrostática entre partículas con igual carga evitan la agregación (Ahlin *et al.*, 2002; Ravi *et al.*, 2004; Freitas y Müller, 1998), lo que implica que el sistema NLS-goma xantana formado es estable a las 6 semanas de almacenamiento sin presentar agregación.

En relación al análisis de varianza realizado es posible establecer que con un nivel de significancia ($p = 0.05$) la concentración de NLS ($p = 0.001$) tiene un efecto significativo sobre el comportamiento del potencial zeta mientras que no existió diferencia estadísticamente significativa respecto al tiempo de almacenamiento ($p = 0.924$) pero si una interacción entre los factores analizados ($p = 0.00$) lo que implica que a 4°C resultaron sistemas estables al almacenamiento.

3.4. Índice de polidispersión (IPD)

En la Figura 16 se muestran las variaciones en el índice de polidispersión (IPD) de las dispersiones de NLS-goma xantana, se observa que los valores se encuentran en un intervalo de 0.16 a 0.29, lo que indica que las muestras se mantuvieron estables durante el almacenamiento, el IPD mide la distribución dimensional de la población de nanopartículas (Hou *et al.*, 2003).

De acuerdo con un análisis de varianza de dos factores ($\alpha = 0.05$), se estableció que la concentración de NLS tiene una influencia significativa en el IPD de las dispersiones de NLS/Xantana ($p = 0.012$), mientras que no existió un efecto respecto al tiempo de almacenamiento ($p = 0.490$), ni una interacción respecto a los factores analizados ($p = 0.139$), por lo que se puede establecer que las variaciones en el IPD son únicamente dependientes de la concentración de NLS. Aunque es posible decir que durante el periodo de almacenamiento no hubo cambios por arriba de 0.3 en el IPD, razón por la que se considera que las NLS no sufrieron agregación y por ende son sistemas estables al almacenamiento a 4°C .

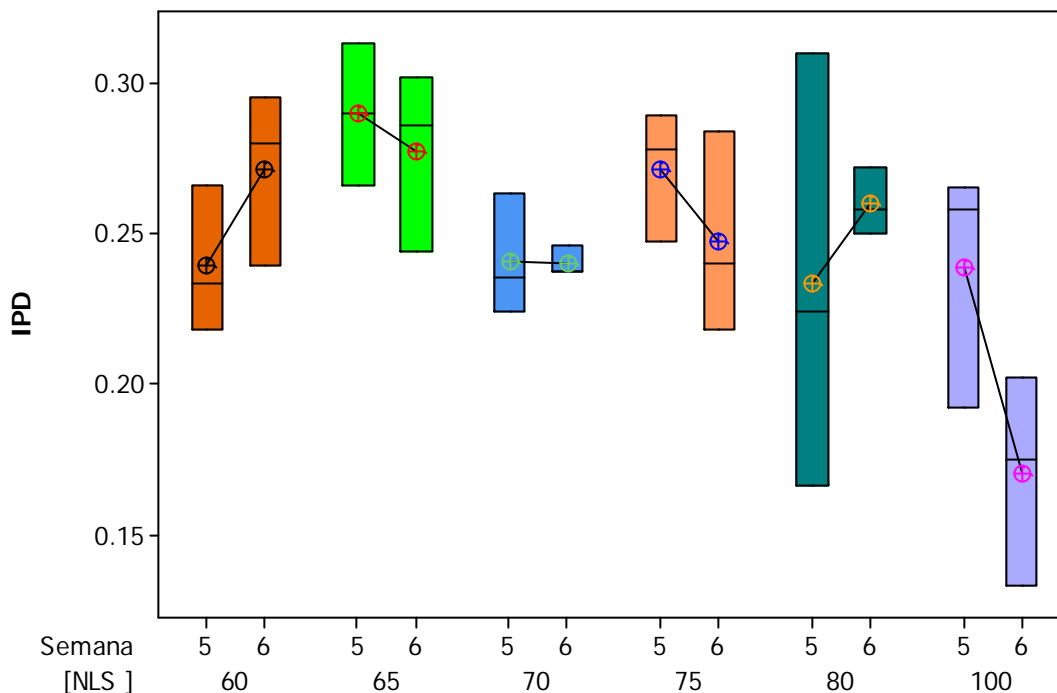


Figura 16. Índice de polidispersión (IPD) de las soluciones.

3.5. Propiedades ópticas

3.5.1. Luminosidad (L^*)

En la Figura 17 se muestran las variaciones en luminosidad que presentaron las películas en función a la concentración de NLS, se observa que los valores de la luminosidad aumenta al incrementar la concentración de NLS y la HR de acondicionamiento.

De acuerdo con Manresa y Vicente, (2007) la luminosidad es un parámetro óptico relevante debido a que tienen un impacto directo sobre la apariencia de un producto recubierto, y al aumentar el valor de la luminosidad (L^*) aumenta el brillo de las películas; para este caso, lo que sucedió es que al aumentar la concentración de NLS, las películas se volvieron más opacas debido a que a mayor concentración de lípidos aumenta la opacidad (Monedero *et al.*, (2009).

Debido a que la goma xantana es un hidrocoloide con alta afinidad por el agua, la preparación de las películas en refrigeración no fue posible bajo las condiciones establecidas por lo que la formación a mayor concentración de goma no refleja el comportamiento de los parámetros ópticos, lo que se hizo fue aumentar al triple la solución de goma para poder elaborarlas, las únicas que se elaboraron a las condiciones establecidas fue la de 60% de HR a temperatura ambiente, las cuales tuvieron una luminosidad de 41.12%, esto se debe a que no contienen lípidos en su preparación y por lo tanto es más transparente en comparación con los demás.

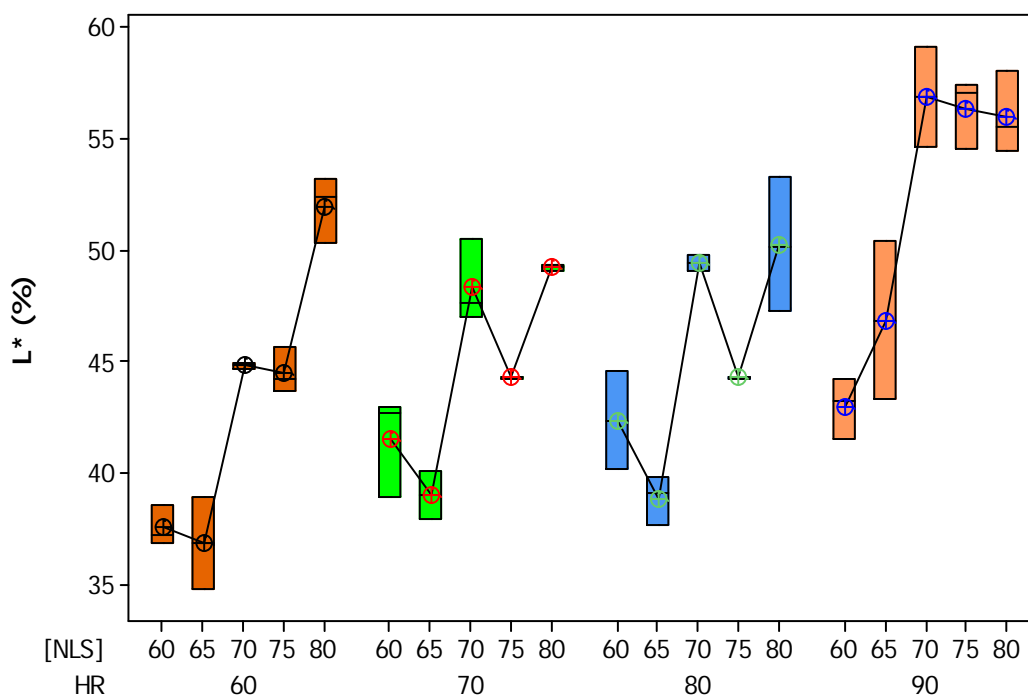


Figura 17. Luminosidad (L^*) de las películas a temperatura ambiente.

La adición de lípidos causa que las películas incrementen su valor de L^* , indicativo del aumento en blancura, como se comentó anteriormente, las películas preparadas a base de goma xantana fueron las que permitieron mayor transmisión de luz, sin embargo la incorporación de cera dio lugar a un incremento en la opacidad de las películas, este aumento en la opacidad surgió probablemente de la dispersión de la luz de las partículas de lípidos que se dispersaron en la emulsión y que están distribuidos de forma continua en toda la red de polímero después de que la película es formada. Estos resultados coinciden

con estudios realizados por Yang y Paulson (2000) sobre el efectos de los lípidos en las propiedades mecánicas y de barrera a la humedad de películas hechas a base de goma gelana. Estos autores encontraron que las películas de goma gelana sin adición de cera fueron bastante transparentes, sin embargo la incorporación de cera a las películas dio lugar a un aumento en la opacidad.

De acuerdo con el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), existió un efecto significativo respecto a la concentración de NLS y HR, así como una interacción entre las variables considerando de acuerdo a lo mostrado en la Figura que la menor luminosidad se presenta a menor concentración de NLS.

En la Figura 18 se observan los valores de L^* de las películas almacenadas en refrigeración, se observa que la luminosidad aumenta al incrementar la concentración de NLS y la HR, y disminuye al llegar a 80 % de NLS, excepto en las que se almacenaron a 70% de HR, ya que en este caso el valor de L^* iba disminuyendo al aumentar la concentración de NLS y tuvo un aumento drástico a 70% de NLS.

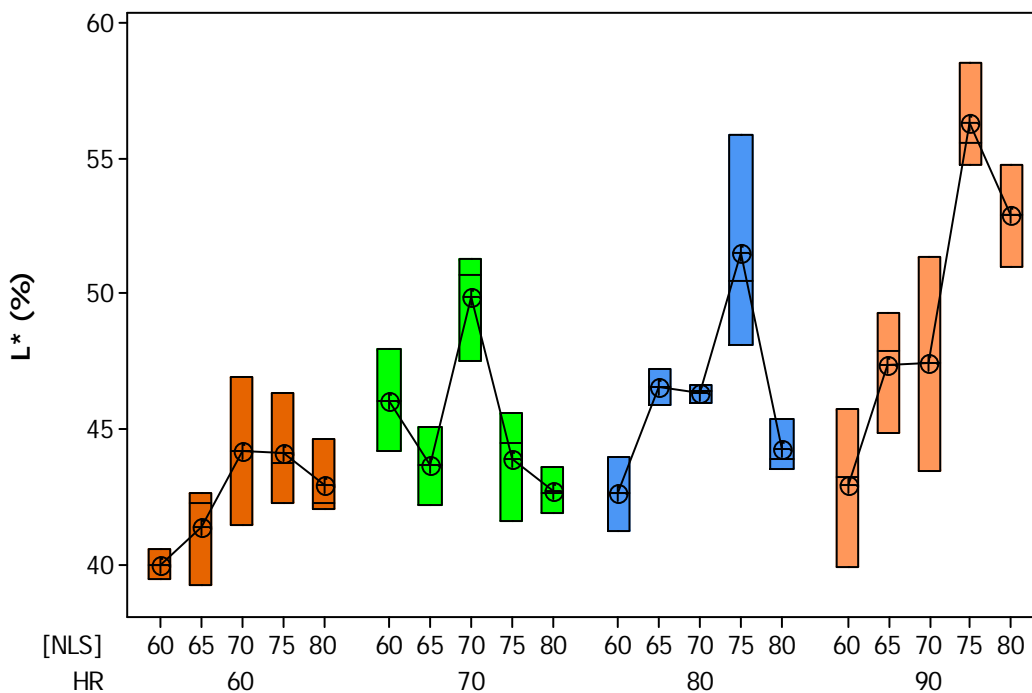


Figura 18. Luminosidad (L^*) de las películas almacenadas en refrigeración.

Las películas almacenadas en refrigeración tuvieron el mismo comportamiento que las que estuvieron a temperatura ambiente, es decir, al aumentar la concentración de NLS aumento su opacidad y se tornaron más blancas.

De acuerdo con el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), existió un efecto significativo respecto a la concentración de NLS y HR, así como una interacción entre las variables considerando de acuerdo a lo mostrado en la Figura que la menor luminosidad se presenta a menor concentración de NLS.

3.5.2. Índice de blancura (IB)

En la Figura 19 se muestran los valores de índice de blancura de las películas almacenadas a temperatura ambiente, se observa que el (IB) de las películas va aumentando al incrementar la concentración de NLS y la HR a la cual están almacenadas.

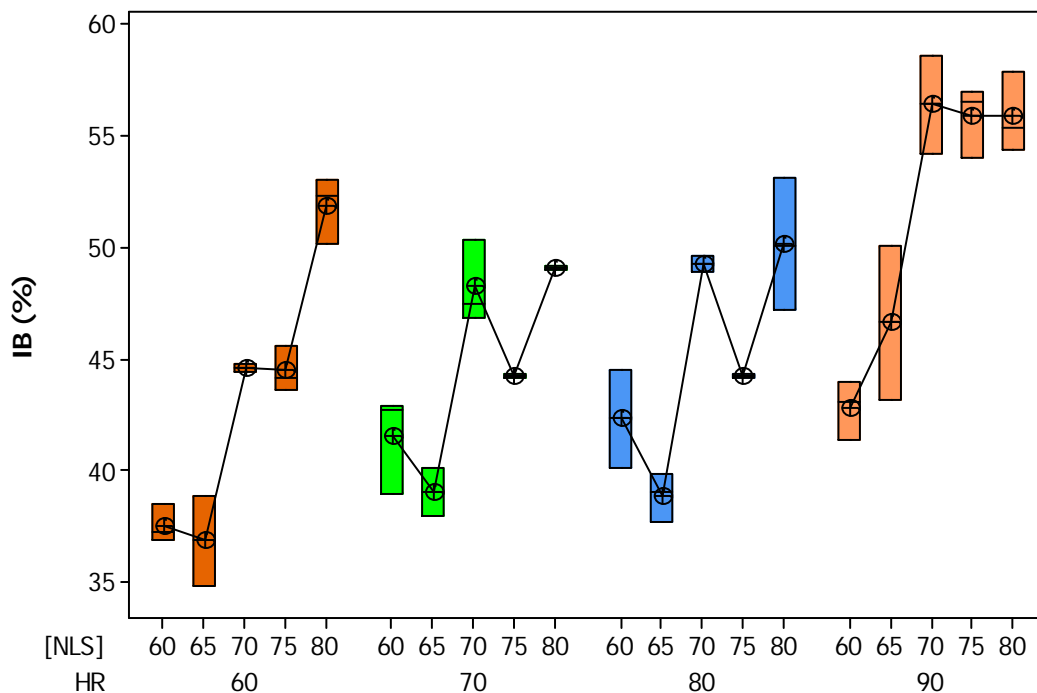


Figura 19. Índice de blancura (IB) de las películas almacenadas a temperatura ambiente.

El IB tiene el mismo comportamiento que la luminosidad de las películas almacenadas a temperatura ambiente, lo que confirma lo explicado para la Figura 17, es decir, que las películas se vuelven más blancas al incrementar la concentración de NLS y la HR de almacenamiento.

Para el caso de las películas hechas a base de goma xantana pura, mismas que no se presentan en la Figura 19 debido a la falta de maleabilidad de la goma y por lo que no fue posible su preparación a las condiciones establecidas solo se formaron las de 60% de HR cuyo índice de blancura fue de 41.12%, lo que indica que fueron más brillantes al igual que las que se prepararon con 60% de NLS y acondicionadas a 60% de HR.

Respecto al análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), se observa que el índice de blancura se vio afectado tanto por la concentración como por la humedad relativa de almacenamiento, estableciéndose que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas variables así como una interacción entre ellas considerando de acuerdo a lo mostrado en la Figura 19 que el menor índice de blancura se presenta a menor concentración de NLS.

En la Figura 20 se muestran los valores de índice de blancura (IB) para las películas almacenadas en refrigeración, el IB aumenta al incrementar la concentración de NLS y la HR a la cual fueron acondicionadas, mismo comportamiento que se presentó con la luminosidad de las películas almacenadas en refrigeración, esto confirma que al aumentar la concentración de NLS las películas se volvían más blancas.

Cabe mencionar que de acuerdo al análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) se observa que en IB se vio afectada tanto por la concentración de NLS como por la humedad relativa de almacenamiento, estableciéndose que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas variables así como una interacción entre ellas considerando de acuerdo a lo mostrado en la Figura 16 que el menor índice de blancura se presenta a menor concentración de NLS.

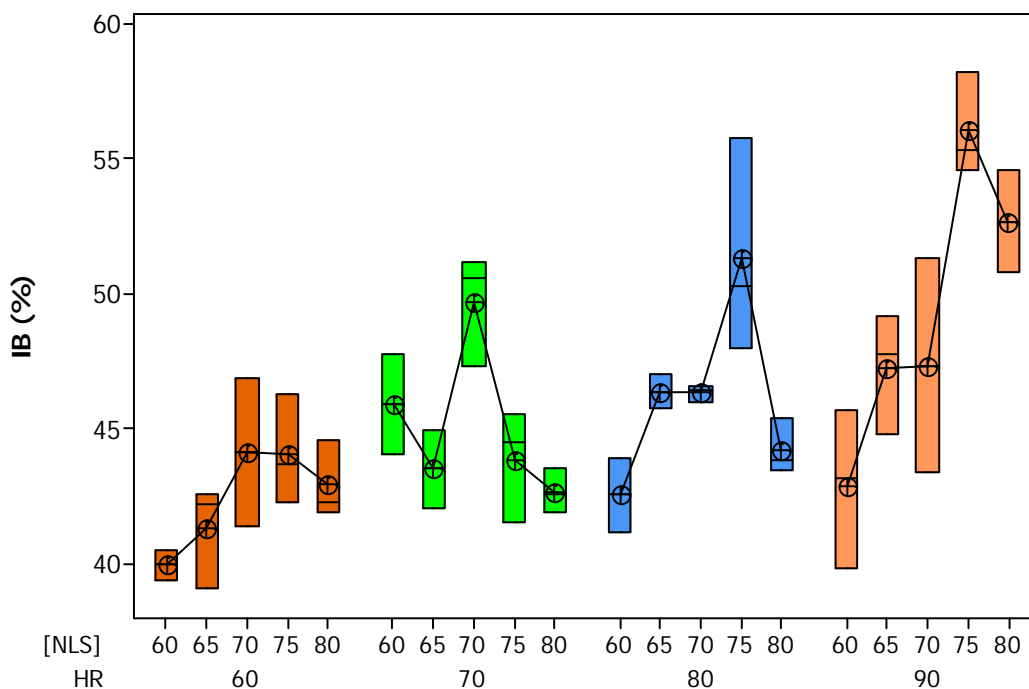


Figura 20. Índice de blancura (IB) de las películas almacenadas en refrigeración.

3.5.3. Diferencia total de color (ΔE)

En la Figura 21 se muestran los valores de diferencia total de color (ΔE) para las películas almacenadas a temperatura ambiente, este parámetro colorimétrico es la combinación de los valores de L^* , a^* y b^* y es utilizado para caracterizar la variación en la percepción de color, se observa que los valores de ΔE aumenta al incrementar la concentración de NLS y a mayores HR's, teniendo aumentos drásticos a 90% de HR.

De acuerdo con el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) existió un efecto significativo respecto a la concentración de NLS y HR, así como una interacción entre las variables considerando, de acuerdo a lo mostrado en la Figura 21, que la menor diferencia total de color se presenta a menor concentración de NLS.

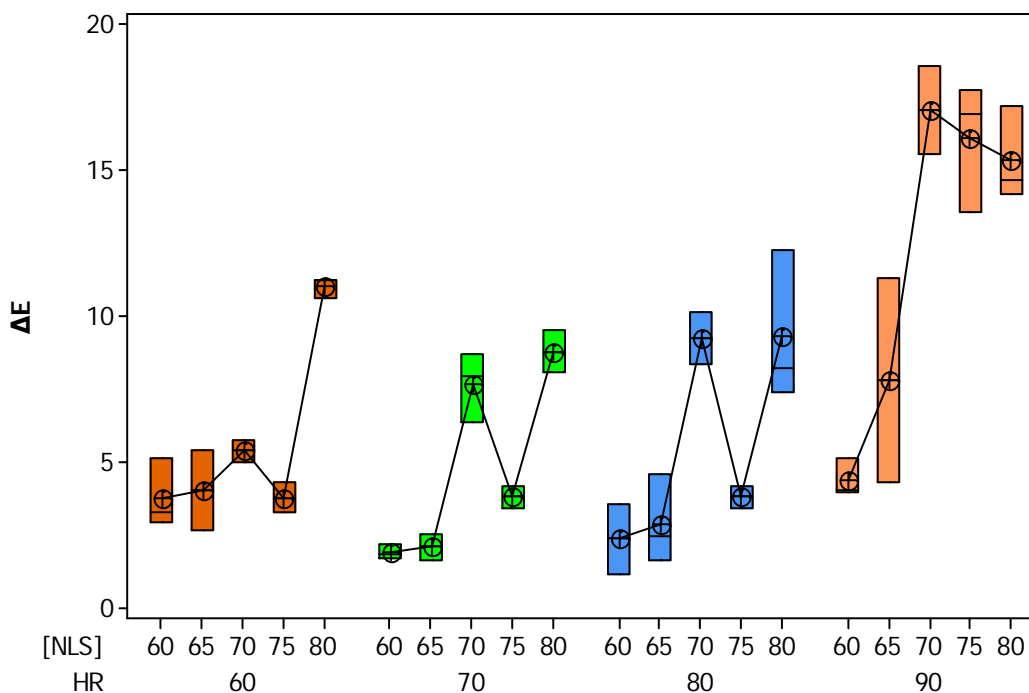


Figura 21. Diferencia total de color (ΔE) para las películas a temperatura ambiente.

En la Figura 22 se muestran los valores de diferencia total de color para las películas almacenadas en refrigeración, ΔE va aumentando al aumentar la concentración de NLS y la HR a la cual fueron acondicionadas, excepto en las películas acondicionadas a 70% de HR, en donde ΔE iba disminuyendo al aumentar la concentración de NLS teniendo aumentos drásticos a 70% de HR.

En cuanto al análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) se observa que la diferencia total de color se vio afectada tanto por la concentración como por la humedad relativa de almacenamiento, estableciéndose que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas variables así como una interacción entre ellas considerando, de acuerdo a lo mostrado en la Figura 21, que el menor ΔE se presenta a menor concentración de NLS.

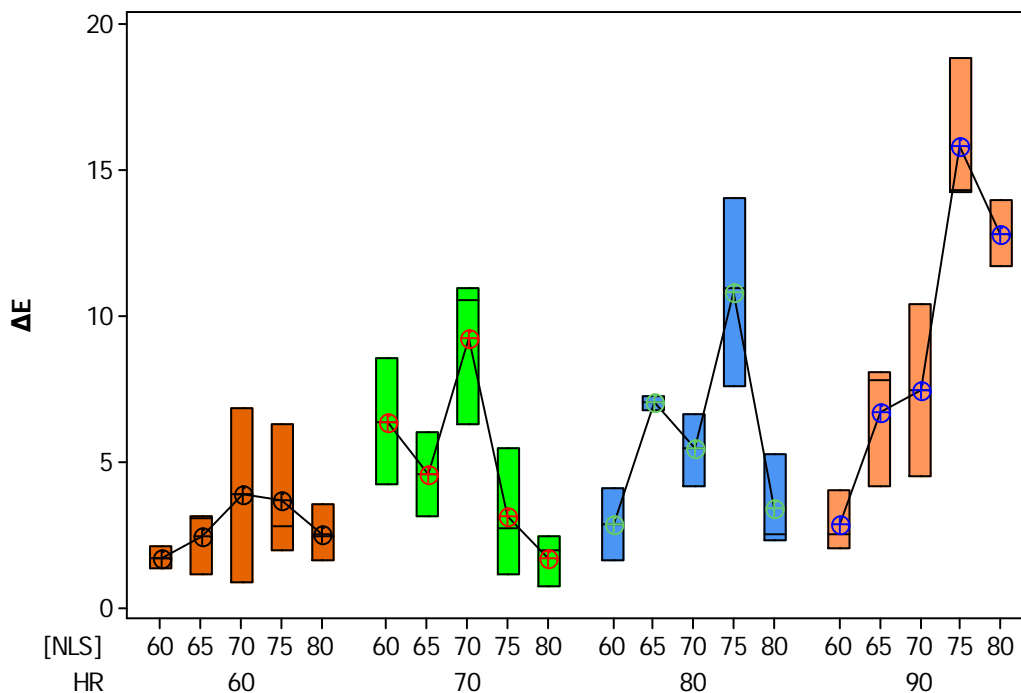


Figura 22. Diferencia total de color (ΔE) para las películas en refrigeración.

3.6. Propiedades mecánicas

3.6.1. Resistencia a la tracción (RT)

En la Figura 23 se muestra la resistencia a la tracción que presentan las películas almacenadas a temperatura ambiente, la resistencia a la tracción (RT) va aumentando al incrementar la concentración de NLS y la humedad relativa de acondicionamiento.

De acuerdo con Carneiro-da-Cunha *et al.*, (2009) y Rojas Graü *et al.*, (2007) la resistencia a la tracción es la capacidad de un material para resistir la ruptura por tracción y expresa el esfuerzo máximo desarrollado en una película durante dicha prueba. Por lo que en este caso, al aumentar la HR hay mayor esfuerzo de la película para romperse.

Sólo en las películas almacenadas a 60% de HR, los valores de RT disminuyeron al aumentar la concentración de NLS lo que indica que en este caso las películas se volvieron más flexibles, [Monedero *et al.*, (2009) y Osés *et al.*, (2009)] encontraron resultados similares con películas de proteína de soya mezcladas con cera de abeja y ácido oleico y con películas de proteína de suero almacenadas a diferentes HR's respectivamente y encontraron que al disminuir el valor de RT y la HR de almacenamiento aumenta la flexibilidad de la película.

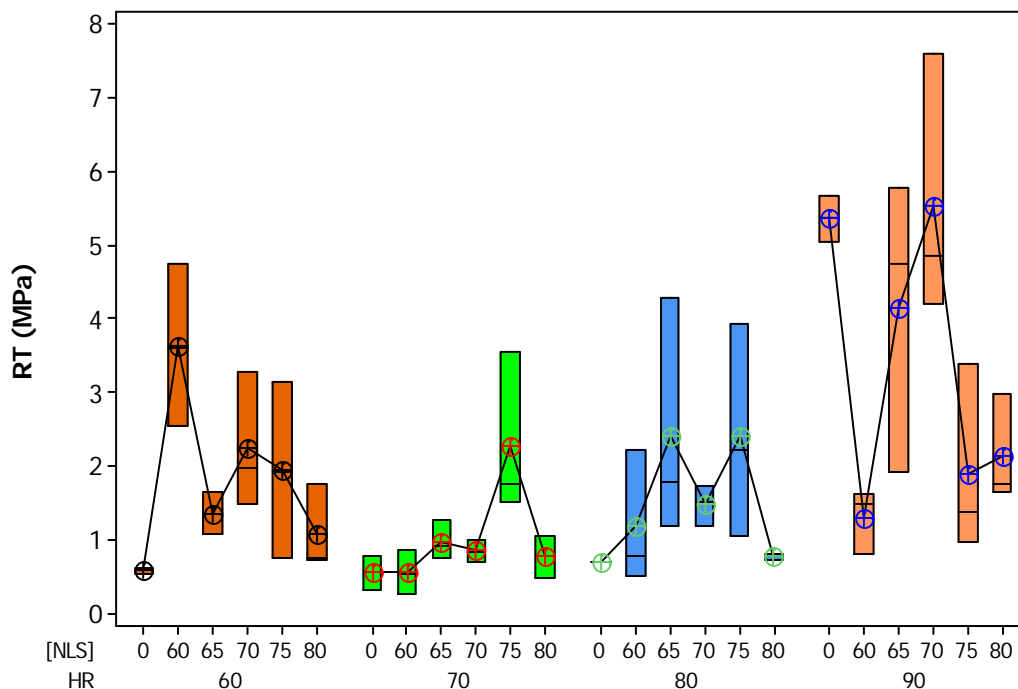


Figura 23. Resistencia a la tracción (RT) de las películas a temperatura ambiente.

En cuanto a las películas hechas a base de goma xantana pura (0% de NLS), almacenadas a 90% de HR tuvieron aumentos radicales con respecto a las que se almacenaron de 60 a 80% debido a su higroscopicidad y falta de maleabilidad, por lo tanto se puede concluir que las muestras no fueron representativas.

De acuerdo al análisis estadístico ($\alpha = 0.05$) se observa que la resistencia a la tracción se vio afectada tanto por la concentración como por la humedad relativa de almacenamiento,

estableciéndose que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas variables así como una interacción entre ellas.

En la Figura 24 se muestran los valores de resistencia a la tracción (RT) de las películas almacenadas en refrigeración, en las películas hechas a base de goma xantana pura RT disminuyo al aumentar la HR de acondicionamiento, mientras que en las de NLS–goma xantana a 60 y 80% de HR el valor de RT disminuye al incrementar la concentración de NLS.

De acuerdo con Osés *et al.*, (2009), al incrementar la humedad relativa de almacenamiento, la resistencia a la tracción va en aumento, esto fue lo que sucedió con las películas hechas a base de goma xantana pura.

En cuanto a las películas que se almacenaron a 70 y 90% de HR, la resistencia a la tracción aumentó al incrementar la concentración de NLS y disminuye al llegar a 75 y 80 de NLS

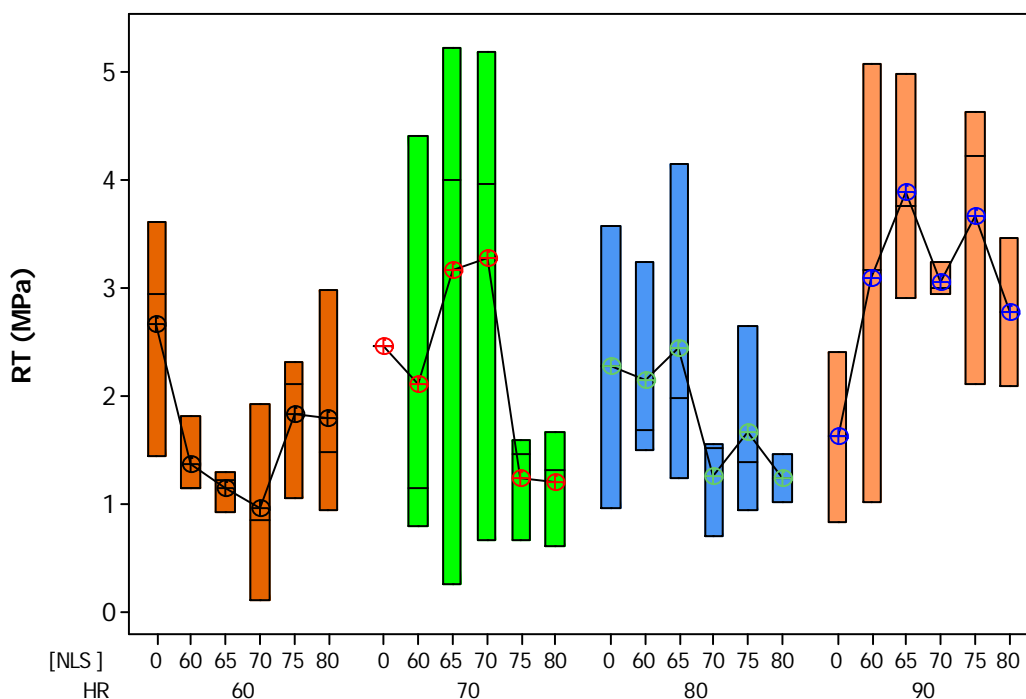


Figura 24. Resistencia a la tracción (RT) de las películas en refrigeración.

De acuerdo con Fabra *et al.*, (2010), la incorporación de cera lleva a un aumento progresivo en los valores de resistencia a la tracción y el módulo de elasticidad (ME), lo que disminuye la capacidad de estiramiento, por lo que se puede establecer que esto es lo que sucedió en el caso de las películas de NLS-goma xantana.

En contraste, Fabra *et al.*, en el (2008) y Monedero *et al.*, (2009) encontraron resultados contrarios al experimentar con películas hechas a base de ácido oleico y cera en donde la incorporación de cera de abeja produce una disminución de los valores de RT y ME y un gran aumento en los valores de elongación aumentando así la flexibilidad de la película, esto fue lo que ocurrió con las películas almacenadas a 60% y 80% de HR., otra causa que puede provocar la disminución de RT fue estudiada por Cao *et al.*, (2009) quien trabajó con películas a las que se le adicionó propilenglicol (PEG) como plastificante y obtuvo que independientemente del peso molecular del PEG se lleva a una disminución de la RT y ME.

En cuanto al análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), se estableció que existió un efecto significativo con respecto a la HR de almacenamiento ($p = 0.000$), mientras que no existió un efecto respecto a la concentración de NLS ($p = 0.066$) y existió una interacción respecto a los variables analizadas ($p = 0.000$).

3.6.2. Elongación en el punto de ruptura (E)

En la Figura 25 se muestran las tendencias para la elongación en el punto de ruptura (E) de las películas almacenadas a temperatura ambiente, las películas almacenadas a 60 y 70% de HR los valores de elongación van disminuyendo al aumentar la concentración de NLS y en las películas almacenadas a 80 y 90% de HR, los valores de E van aumentando al incrementar la concentración de NLS, lo que indica de acuerdo a estudios realizados por Gennadios *et al.*, (1993) a mayores valores en la elongación se requiere menor fuerza para romper la película.

En cuanto a las películas hechas a base de goma xantana pura (0% NLS), el valor de E aumenta al incrementar la HR de almacenamiento, mientras que las almacenadas a 90% de HR tuvieron un valor de E muy alto lo que indica que las muestras no fueron representativas debido a que estas películas fueron difíciles de manejar debido a su higroscopicidad y falta de maleabilidad.

De acuerdo con el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) existió un efecto significativo respecto a la concentración de NLS y HR, así como una interacción entre las variables anteriormente mencionadas.

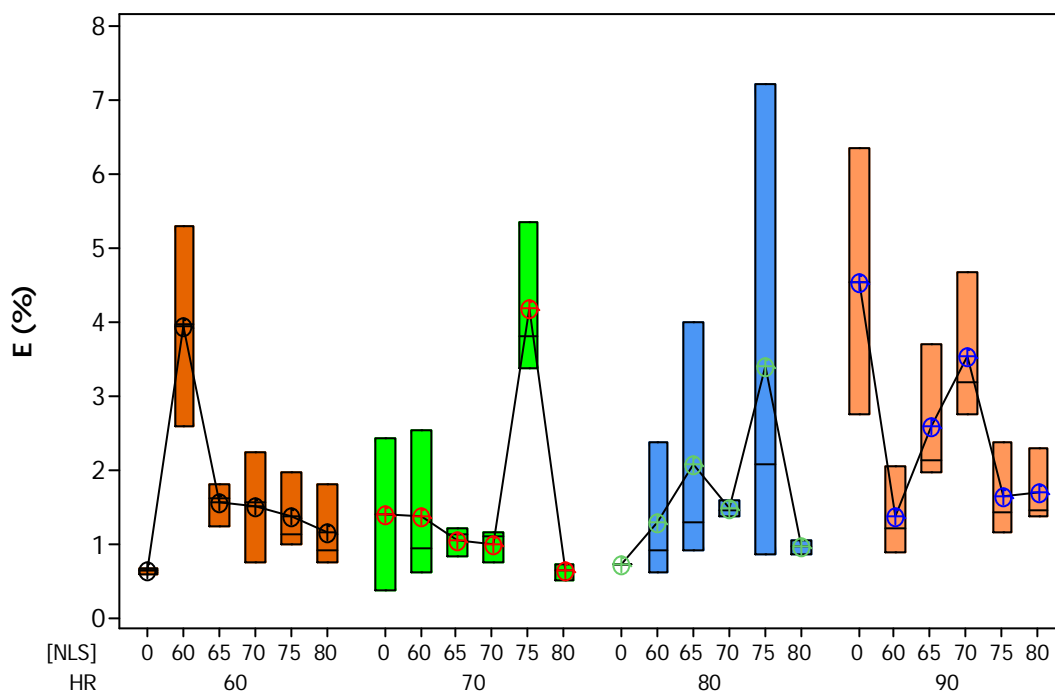


Figura 25. Elongación en el punto de ruptura (E) de las películas almacenadas a temperatura ambiente.

En la Figura 26 se muestran los valores de elongación en el punto de ruptura (E) de las películas almacenadas en refrigeración. En las películas almacenadas a 60 y 90% de HR los valores de E aumentan al incrementar la concentración de NLS, mientras que en las almacenadas a 70 y 80% de HR el valor de E decreció al aumentar la concentración de NLS.

Rojas-Graü *et al.*, (2007a) define la elongación en el punto de ruptura como una medida de la capacidad de estiramiento de la película antes de su ruptura, lo que indica que las películas almacenadas a 60 y 90% de HR requirieron de menor fuerza para romperse en comparación a las almacenadas a 70 y 80% de HR.

De acuerdo a Longares *et al.*, (2004) el aumento de los valores de E puede deberse a que conforme aumenta la concentración de NLS va aumentando el espesor de los películas, debido a que en las películas se forma una matriz más elástica, probablemente porque estas películas tenían una mayor área transversal que permite una mayor extensión bajo el estrés de las películas más delgadas. Así, las películas delgadas llegan a un límite en su capacidad de estiramiento más rápidamente que en las películas más gruesas.

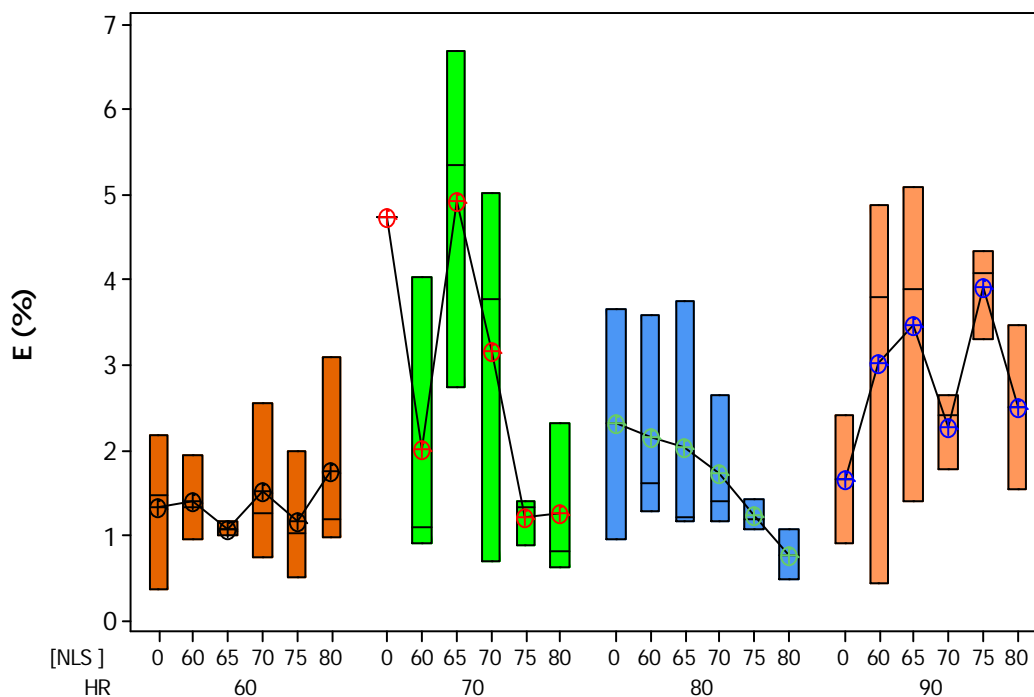


Figura 26. Elongación en punto de ruptura (RT) de películas almacenadas en refrigeración.

En cuanto al análisis de varianza de dos factores ($\alpha = 0.05$), se estableció que la HR de almacenamiento tiene una influencia significativa en la elongación de las películas ($p = 0.000$), mientras que no existió un efecto respecto a la concentración de NLS ($p = 0.132$), pero si una interacción respecto a los factores analizados ($p = 0.024$).

3.6.3. Módulo de Elasticidad (ME)

La Figura 27 muestra los valores del módulo de elasticidad (ME) de las películas almacenadas a temperatura ambiente el ME para las películas almacenadas de 60, 70 y 90% de HR aumenta al incrementar la concentración de NLS y en las de 80% de HR el ME disminuye al incrementar la concentración de NLS, pero dicho valor disminuye en todos los casos al aumentar la HR de almacenamiento, lo que indica que las películas se van volviendo más elásticas a la ruptura. A menor módulo de elasticidad la película es más elástica debido a que absorbe más humedad del ambiente que la rodea, resultados similares encontraron Escobar *et al.*, (2009) al experimentar con películas de proteína de suero lácteo (WPI) con sorbitol y glicerol y se obtuvo que a menores valores de módulo de elasticidad las películas se hacían más elásticas.

Otro factor que puede influir en las propiedades mecánicas es el espesor, ya que de acuerdo con estudios realizados por Longares *et al.*, (2004), en donde se evaluaron las propiedades físicas y sensoriales de películas hechas a base de proteína de suero lácteo (WPI), se encontró que en las películas con mayor espesor se tuvieron aumentos en su elongación y en las películas delgadas se vio afectada la resistencia a la tracción.

Del mismo modo Shaw *et al.* (2002) y McHugh y Krotcha, (1994) al realizar estudios con películas a base de WPI y de proteína de leche respectivamente, encontraron que al disminuir el módulo de elasticidad con el incremento de glicerol y sorbitol hacen que las películas se vuelvan más elásticas.

Osés *et al.*, (2009) al trabajar con películas hechas a base de proteína de suero variando la HR de almacenamiento, encontraron que al disminuir la HR aumentan los valores de módulo de elasticidad.

De acuerdo con el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), existió un efecto significativo respecto a la concentración de NLS y HR, así como una interacción entre las variables antes mencionadas.

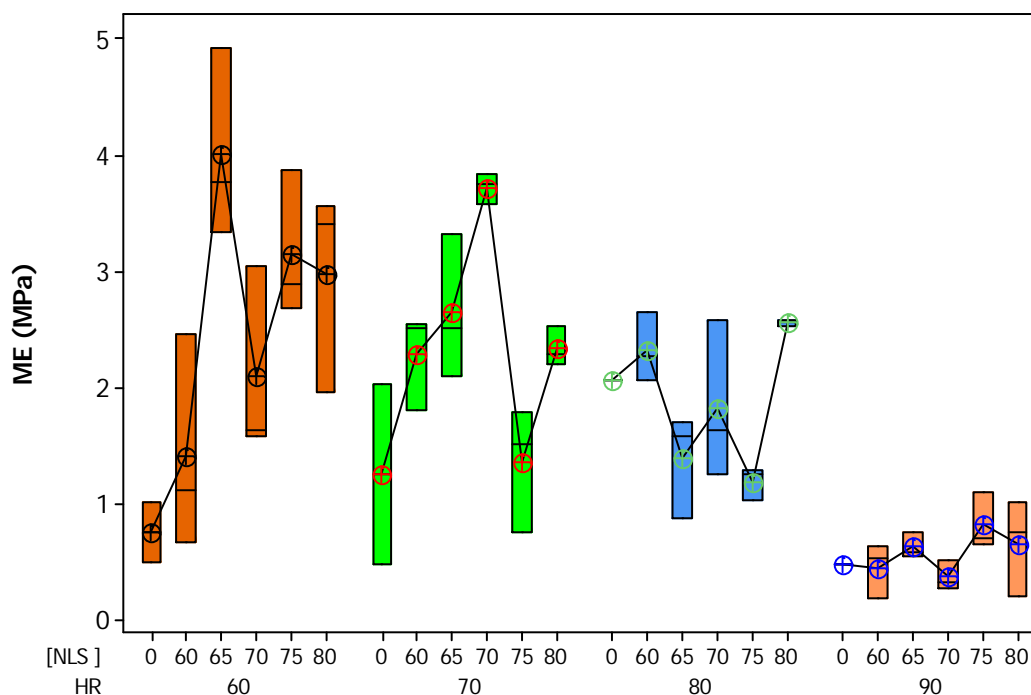


Figura 27. Módulo de elasticidad (ME) de películas almacenadas a temperatura ambiente.

En la Figura 28 se presentan los valores del módulo de elasticidad (ME) de las películas almacenadas en refrigeración, en las películas almacenadas de 60 a 80% de HR el módulo de elasticidad aumenta al incrementar la concentración de NLS, pero en las que se almacenaron a 90% de HR el ME va disminuyendo al aumentar la concentración de NLS, lo que indica que estas últimas se volvieron más elásticas. Escobar *et al.*, (2009) encontraron resultados similares al experimentar con películas a base de proteína de suero lácteo (WPI) con sorbitol y glicerol y como resultados se obtuvo que al obtener valores de módulo de elasticidad menores las películas se vuelven más elásticas.

De acuerdo con un análisis de varianza de dos factores ($\alpha = 0.05$), se estableció que la HR de almacenamiento tiene una influencia significativa en el módulo de elasticidad de las películas ($p = 0.000$), mientras que no existió un efecto respecto a la humedad relativa ($p = 0.066$), pero si una interacción respecto a los factores analizados ($p = 0.000$), por lo que se puede establecer que las variaciones en el ME son únicamente dependientes de la concentración de NLS.

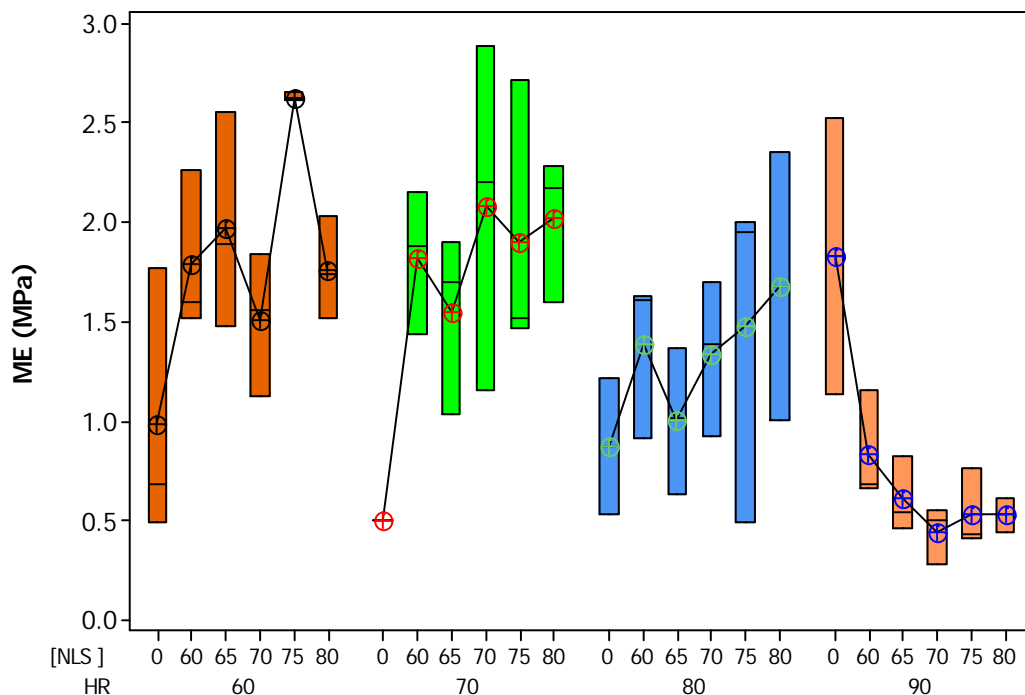


Figura 28. Módulo de elasticidad (ME) de las películas almacenadas en refrigeración.

3.7. Microscopía óptica

En la Figura 29 se muestran las fotografías de las películas tomadas con microscopio óptico, se aprecia que las películas muestran una superficie compacta, homogénea, sin presencia de poros, hendiduras ni canales, podría ser que se vean así por la presencia de pequeñas imperfecciones, las que pueden haber sido causadas al retirar la película del teflón produciendo estrías.

Otro factor que puede influir en la superficie obtenida podría deberse a que las películas en su superficie interior conservan la textura de las superficies donde fueron moldeados (Pol y col, 2002).

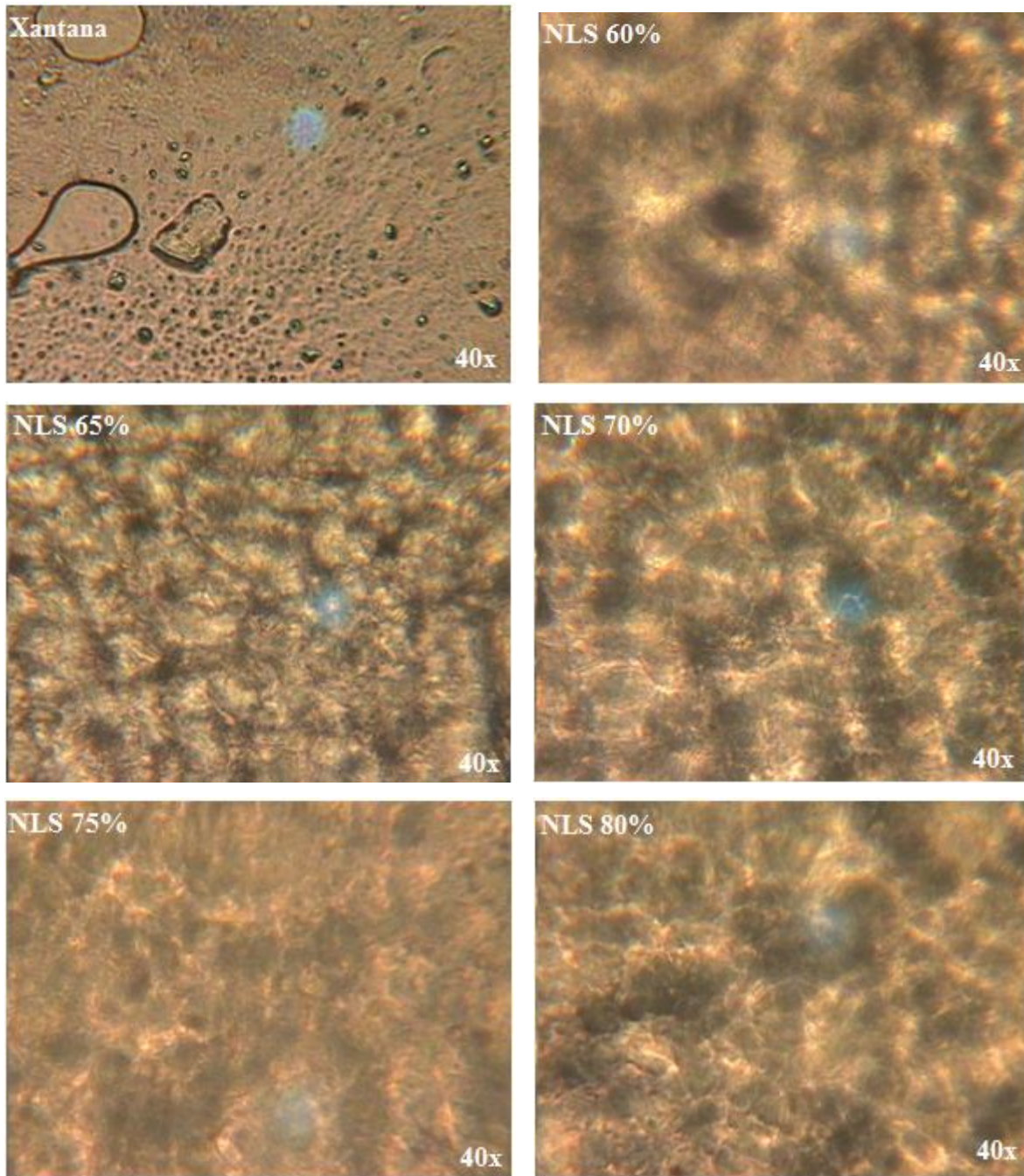
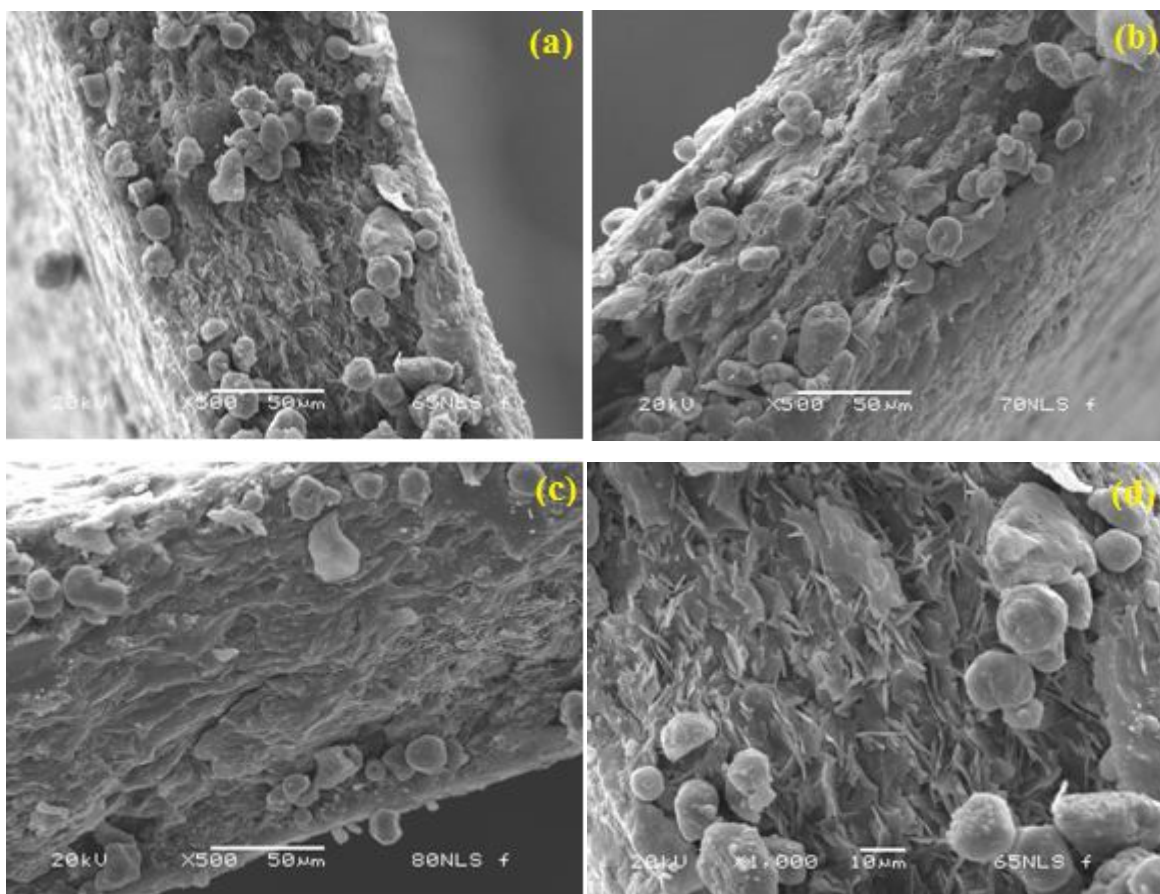


Figura 29. Fotografías con microscopio óptico para las películas a diferentes concentraciones.

3.8. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

En la Figura 30 se muestran las micrografías de las películas a 65, 70 y 80% de NLS observándose que a menor concentración de NLS existe un mayor espacio de goma xantana (caracterizadas como pequeñas agujas o hojas alargadas) lo que hace probablemente puede influir en las propiedades de transporte de las películas en vapor de agua y oxígeno como sucedió en recubrimientos empleados para guayaba (García, 2011) y oxígeno a través de la película formada y que puede emplearse para obtener recubrimientos comestibles que tengan funcionalidad de acuerdo a la velocidad respiratoria que presenten los distintos frutos.



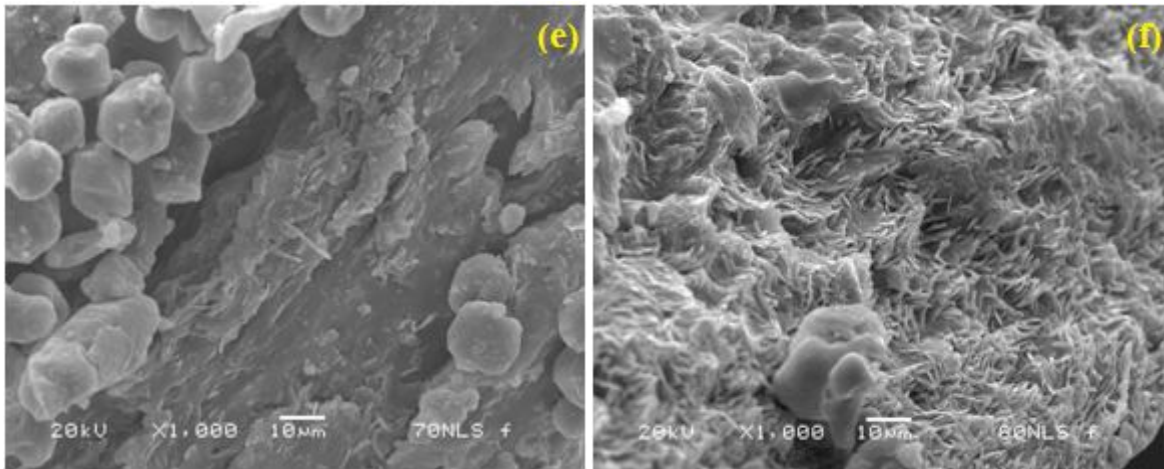


Figura 30. Micrografías electrónicas de barrido. (a), (b) y (c) muestran cortes transversales de las películas a 65, 70 y 80 % de NLS respectivamente con un aumento de 500x. (d), (e) y (f) muestran las micrografías superficiales de las películas a 65, 70 y 80 % de NLS respectivamente con un aumento de 1000x.

La Figura 30 (c y f) muestran como se modifica la estructura del corte transversal del recubrimiento cuando la concentración de NLS es del 80 %, además muestra que existen agregados de mayor tamaño aparentemente formados por cera de candeuba, lo que soporta la idea de que la dispersión de cera modifica las propiedades de transporte limitando la respiración de los frutos que pudiesen estar recubiertos con esta concentración.

En cuanto a la microestructura de los cortes transversales en la Figura 26 (a, b y c), éstos muestran una topografía uniforme. Ambas observaciones tanto en la superficie, como en el corte transversal son muy importantes, ya que una matriz homogénea de una película es un buen indicador de su integridad estructural, y en consecuencia es de esperar que presente buenas propiedades mecánicas (Mali *et al.*, 2002).

4. CONCLUSIONES

Se logro obtener películas “*in vitro*” con diferentes proporciones de NLS y 0.4 % de goma xantana, partiendo de una suspensión de NLS con tamaño de partícula promedio de 500 nm, utilizando el método de dispersión rotor-stator en caliente las cuales mostraron índices de polidispersión menores a 0.3.

El potencial zeta de las suspensiones fue en promedio de -35mV durante el periodo de almacenamiento, indicativo de que los sistemas desarrollados fueron estables durante 6 semanas de almacenamiento.

Las películas con 60 y 65 % de NLS fueron las que tuvieron el mejor comportamiento puesto que no existió diferencia significativa en su comportamiento respecto a la humedad relativa y temperatura.

Los sistemas NLS-goma xantana no se desestabilizan durante el periodo de almacenamiento puesto que el potencial zeta permaneció prácticamente sin variación (-35 mV), lo mismo que el tamaño de partícula que fue siempre inferior a los 500 nm para todos los lotes preparados.

Se logró establecer que la blancura de las películas está en función la concentración de NLS ya que el incremento en la concentración de estas se vio reflejada en una disminución de la transmisión de luz.

Las películas mostraron variación en el comportamiento mecánico por efecto de la temperatura y humedad relativa, mostrando menor módulo elástico las que estuvieron expuestas a 90 % de HR.

Las micrografías MEB, mostraron las modificaciones superficiales atribuidas a las NLS adicionadas que evidenciaron que los recubrimientos formados no presentaron hoyos ni

aglomeración de goma xantana, solo las películas de NLS-goma xantana fueron las que presentaron aglomeración de cera de candeuba, al aumentar la concentración de NLS.

En conclusión podemos decir que si se cumplieron los objetivos del trabajo, ya que se logro establecer cuál es el efecto que causa el aumento en la humedad relativa sobre las propiedades mecánicas de las películas, así como la influencia que tiene el incremento de la concentración de NLS sobre las propiedades ópticas de las mismas.

5. BIBLIOGRAFÍA

Ahlin, P.; Kristl, A.; Vrecer, F. 2002. Investigation of polymeric nanoparticles as carriers of enalaprilat for oral administration. *International Journal Pharmaceutics*, 239, 113-120.

Blasi, P.; Giovagnoli, S.; Schoubben, A.; Ricci, M.; Rossi, C. 2007. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 454-477.

Bosquez, E.; Vernon, E.; Pérez, L.; Guerrero, I. 2000. Películas y cubiertas comestibles para la conservación en fresco de frutas y hortalizas. *Industria Alimentaria*, 22(1), 14-36.

Bosquez-Molina, E.; Guerrero-Legarreta, I.; Vernon-Carter, E. J. 2003. Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings *Food Research International*, 36, 885-893.

Butler, B.; Vergano, P.; Testin, R.; Bunn, J.; Wills, J. 1996. Mechanical and Barrier Properties of Edible Chitosan Film as Affected by Composition and Storage. *Journal Food Science*, 61 (5), 953-961.

Bravin, B.; Peressini, D.; Sensidoni, A. 2006. Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Journal of Food Engineering*, 76, 280-290.

Cao, N.; Yang, X.; Fu Y. 2009. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 23, 729-735.

Carneiro-da-Cunha, M. G.; Cerqueira, M. A.; Souza, B. W.S.; Souza, M. P.; Teixeira, J. A.; Vicente, A. A. 2009. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*, 95, 379-385.

Casariego, A., Souza, B.W.S., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., Cruz, L., Díaz, R., 2008. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids*, 22, 1452-1459.

Castelli F.; Puglia C.; Sarpietro M.G.; Rizza L.; Bonina F. 2005. Characterization of indomethacin-loaded nanoparticles by differential scanning calorimetry. *International Journal of Pharmaceutics*, 304, 231-238.

Charcosset, C.; El-Harati, A.; Fessi, H. 2005. Preparation of solid lipid nanoparticles using a membrane contactor. *Journal of Controlled Release* 108 (2005) 112-120.

Chen, S.; Nussinovitch A. 2000. The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, 14, 319-326.

Chen, S.; Nussinovitch A. 2001. Permeability and roughness determinations of wax-hydrocolloid coatings, and their limitations in determining citrus fruit overall quality. *Food Hydrocolloids*, 15, 127-137.

Chien-Hsien, C.; Lih-Shiuh, L. 2008. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, 22, 1584-1595.

Chien, P., Sheu, F., Yang, F., 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering* 78, 225-229.

Cuq, B.; Gontard, M.; Cuq J.; Guilbert, S. 1996. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by Film thickness. *Journal Food Science*, 61 (3), 580-584.

Del Pozo-Rodríguez, A.; Delgado, D.; Solinís, M. A.; Gascón, A. R.; Pedraz J. L. 2007. Solid lipid nanoparticles: Formulation factors affecting cell transfection capacity. *International Journal of Pharmaceutics*, 339, 261-268.

D'oria, C.; Charcosset, C.; Barresi, A.A.; Fessi, H. 2009. Preparation of solid lipid particles by membrane emulsification-Influence of process parameters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 338, 114-118.

Escobar, D.; Márquez, R.; Repiso, L.; Sala, A.; Silvera, C. 2009. Elaboración, caracterización y comparación de películas comestibles en base a aislado de proteínas de suero lácteo (WPI). Consultado 19 de Diciembre, 2010. Disponible en <http://www.worldfoodscience.org/cms/?pid=1004942>.

Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85, 393-400.

Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2009. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Food Hydrocolloids*, 23, 676-683.

Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A., 2010. Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. *Journal of Food Engineering*, 96, 356-364.

Falcão-Rodrigues, M. M.; Moldão-Martins, M.; Beirão-da-Costa, M.L. 2007. DSC as a tool to assess physiological evolution of apples preserved by edibles coatings. *Food Chemistry*, 102, 475-480.

Fang, Jia-You; Fang, Chia-Lang; Liu, Chi-Hsien; Su Yu-Han. 2008. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: Solid lipid nanoparticles (SLN) versus

nanostructured lipid carriers (NLC). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 633-640.

Fisk, C. L.; Silver, A. M.; Strik, B. C.; Zhao Y. 2008. Postharvest quality of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* “*Ananasnaya*”) associated with packaging and storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 338-345.

Flores, S.; Famá, L.; Rojas, A. M.; Goyanes, S.; Gerschenson, L. 2007. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. *Food Research International*, 40, 2257-265.

Fontana, G.; Maniscalco, L.; Schillaci, D.; Cavallaro, G.; Giammona, G. 2005. Solid Lipid nanoparticles containing tamoxifen characterization and in vitro antitumoral activity. *Drug Delivery*, 12, 385-392.

Freitas, C.; Müller, R. H. 1998. Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, 168, 221–229.

García, B. C. I. 2011. Cambios en la concentración de polifenoles presentes en la guayaba (*psidium guajava*) variedad media china, recubierta con nanopartículas lipídicas sólidas y almacenada en refrigeración. Tesis de licenciatura de Ingeniería en Alimentos. UNAM, México.

García-Ochoa, F.; Santos, V. E.; Casas, J. A.; Gómez, E. 2000. Xanthan gum: production, recovery and properties *Biotechnology Advances*, 18, 549-579.

Garzón, S. M. de L.; Hernández, L. A.; Vázquez, R. M. L.; Villafuerte, R. L.; García, F. B. 2008. Preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), y de Acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39 (4), 50-66.

Gennadios, A.; Brandenburg, A. H.; Park, J. W.; Weller, C. L.; Testin, R. F. 1994. Water vapor permeability of wheat gluten and soy protein isolate films. *Industrial Crops and Products* 2, 189-195.

Gennadios, A.; Weller, M.A.; Hanna, M. A.; Fronning, G.W. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal Food Science*, 61(3), 585-589.

Gennadios, A., Weller, C. L. and Testin, R. F. 1993. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *Journal Food Science*, 58(1): 212-219.

Han, J. H.; Gennadios, A. 2005. Edible film and coatings: a review. *Innovations in Food Packaging*, 239-262.

Helgason, T.; Awad, T. S.; Kristbergsson, K.; McClements, D.J.; Weiss, J. 2009. Effect of surfactant surface coverage on formation of solid lipid nanoparticles (SLN). *Journal of Colloid and Interface Science*, 334, 75–81.

Hong, Y.; Ling-Fei, H.; Yong-Zhong, D.; Xiao-Ying, Y.; Jian, Y.; Fu-Qiang, H.; Su, Z. 2008. Solid lipid nanoparticles prepared by solvent diffusion method in a nanoreactor system *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 61,132–137.

Hou, D.; Xie,C.; Huang, K.; Zhu, C.2003. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, 24, 1781–1785.

Hu, F.Q.; Hong Y.; Yuan H. 2004. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing peptide. *International Journal of Pharmaceutics*, 273, 29-35.

Hu, F. Q.; Yuan, H.; Zhang, H. H.; Fang M. 2002. Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 239, 121–128.

Jenning, V.; Mäder, K.; Gohla, S.H. 2000. Solid lipid nanoparticles (SLN™) based on binary mixtures of liquid and solid lipids: a ¹H NMR study. *International Journal of Pharmaceutics*, 205, 15–21.

Jiménez, C. P. E.; López, P. M. R. 2009. Evaluación del potencial uso de NLS en recubrimientos de película acuoso. Tesis de licenciatura de Químico Fármaco Biólogo. UNAM, México.

Jores, K.; Mehnert, W.; Drechsler, M.; Bunjes, H.; Johann, C.; Mäder, K. 2004. Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy. *Journal of Controlled Release*, 95, 217– 227.

Jouquand, C.; Aguni, Y.; Malhiac, C.; Grisel, M. 2008. Influence of chemical composition of polysaccharides on aroma retention. *Food Hydrocolloids*, 22, 1097–1104.

Katzbauer, B. 1998. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 81-84.

Kheradmandnia, S.; Vasheghani-Farahani, E.; Nosrati, M.; Atyabi, F. 2010. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba wax. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. In press.

Kim, C.; Yoo, B. 2006. Rheological properties of rice starch-xanthan gum mixtures. *Journal of Food Engineering*, 75,120–128.

Kristo, E.; Biliaderis, C. G.; Zampraka, A. 2007. Water vapour barrier and tensile properties of composite caseinate-pullulan films: Biopolymer composition effects and impact of beeswax lamination. *Food Chemistry*, 101, 753–764.

Lacroix, M. 2009. Mechanical and Permeability Properties of Edible Films and Coatings for Food and Pharmaceutical Applications In: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. (Ed: Embuscado M. E., and Huber K.C.). Pp. 1-24. Springer, London New York.

Li, X.; Lin, X.; Zheng, L.; Yu, L.; Lv F.; Zhang, Q.; Liu, W. 2008. Effect of poly(ethylene glycol) stearate on the phase behavior of monocaprate/Tween80/water system and characterization of poly(ethylene glycol) stearate-modified solid lipid nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 317, 352–359.

Llabot, J. M.; Palma, S. D.; Allemandi, D.A. 2008. Nanopartículas poliméricas sólidas. *Nuestra Farmacia*, 40-47.

Longares, A.; Monahan, F. J.; O’Riordan, E.D.; O’Sullivan M. 2004. Physical properties and sensor y evaluation of WPI films of varying thickness. *Lebensm.-Wiss. U. Technology*, 37, 545–550.

Mäder, K.; Mehnert, W. 2005. Solid Lipid Nanoparticles: Concepts, Procedures, and Physicochemical In: *Lipospheres in Drug Targets and Delivery. Approaches, Methods, and Applications*. (Ed: Claudio Nazzari), Pp. 1-22. CRC Press , London New York.

Mali, S.; Grossmann, V.E.; Garcia, M.A.; Martino, M.; Zaritzky, N.E. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 379-386.

Malvern Instruments. 2010. Zeta potential measurement using laser Doppler electrophoresis (LDE). Consultado 17 de noviembre, 2010. Disponible en http://www.malvern.com/LabEng/technology/zeta_potential/zeta_potential_LDE.htm.

Manresa, G.A; Vicente, I. 2007. El color en la industria de alimentos. Editorial universitaria, Ciudad de la Habana, Cuba.

Marcolli, C.; Peter, T. 2005. Water activity in polyol/water systems: new UNIFAC parameterization. *Atmospheric Chemistry and Physics*. Pp. 1545-1555.

Mc Hugh, T. H.; Avena-Bustillos, R.; Krochta, J. 1993. Hydrophilic edible film: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal Food Science*, 58, 899-903.

McHugh, T. H. y Krotcha, J.M. 1994. Milk-protein-based edible films and coatings. *Food technology*. 97-103.

Monedero, F.M.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2009. Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of food Engineering*, 91, 509-515.

Mora-Huertas, C.E.; Fessi, H.; Elaissari A. 2011. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods. Critical comparison. *Advances in Colloid and Interface Science*. In press.

Morris, V.J. 2006. Bacterial Polysaccharides. In: *Food Polysaccharides and Their Applications* (Ed: Stephen A. M., Phillips G. O., Williams P. A.), Pp. 413-422. Taylor & Francis Group, London New York.

Müller, R. H.; Mäder, K.; Gohla S. 2000. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 161-177.

Müller, R.H.; Radtke, M.; Wissing S. S. 2002. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, S131-S155.

Müller, R. H.; Runge, S.; Ravelli V.; Mehnert, W.; Thünemann, A. F.; Souto E. B. 2006. Oral bioavailability of cyclosporine: Solid lipid nanoparticles (SLN®) versus drug nanocrystals. *International Journal of Pharmaceutics*, 317, 82-89.

Olivas, G. I.; Barbosa-Cánovas, G. V. 2008. Alginate-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT*, 41, 359-366.

Olivas, G.I.; Mattinson, D.S.; Barbosa-Cánovas, G.V. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 89-96.

Osés, J.; Fernández-Pan I.; Mendoza M.; Maté J. I. 2009. Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*, 23, 125-131.

Ozdemir, M.; Floros, J.D. 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*, 84, 116-123.

Palma, S. y Allemandi, D. 2007. Administración de fármacos a través de nanopartículas lipídicas sólidas (NPS) y lípidos nanoestructurados (LNE). *Nuestra Farmacia*, (52), 40-47.

Parra, D.F.; Tadini, C.C.; Ponce, P.; Lugão, A. B. 2004. Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 58, 475-481.

Pasquel, A. 2001. Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1, 1-8.

Pavlath, A. E. and Orts, W. 2009. Edible films and coatings: Why, What and How? In: Edible Films and Coatings for Food Applications. (Ed: Embuscado M. E., and Huber K.C.), Pp. 1-24. Springer, London New York.

Pol, H.; Dawson, P.; Acton, J.; Ogale, A. 2002. Soy protein isolate/corn-zein laminated films: transport and mechanical properties. *Journal Food Science*, 67(1), 212-217.

Ponce, A. G.; Roura, S. I.; Del Valle, C. E.; Moreira, M. R. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 294-300.

Psomas, S.K.; Liakopoulou-Kyriakides, M.; Kyriakidis, D.A. 2007. Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 35, 273-280.

Quintanar-Guerrero, D.; Alleman E.; Doelker, E.; Fessi, H. 1997. A mechanistic study of the formation of polymer nanoparticles by the emulsification-diffusion technique. *Colloid Polymeric Science*, 640-647.

Quintanar-Guerrero, D.; Ganem-Quintar, A.; Alleman, E.; Fessi, H.; Doelker, E. 1998. Influence of the stabilizer coating layer on the purification and freeze-drying of poly (D,L-lactic acid) nanoparticles prepared by an emulsion-diffusion technique. *Journal Microencapsulation*, 15, 107-119.

Rao, M.S.; Kanatt, S.R.; Chawla, S.P.; Sharma, A. 2010. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydrate Polymers*. In press.

Ravi, K. V.; Bakowsky, U.; Lehr, C.M. 2004. Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers. *Biomaterials*, 25(10), 1771-1777.

Ribeiro, C.; Vicente, A. A.; Teixeira, J. A.; Miranda, C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence *Postharvest Biology and Technology*, 44, 63–70.

Rodríguez, M.; Osés, J.; Ziani, K.; Maté, J. I. 2006. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International*, 39, 840–846.

Rojas-Graü, M.A.; Avena-Bustillos, R. J.; Olsen, C.; Friedman, M.; R. Henika, P. R.; Martín-Belloso, O.; Pan, Z.; McHugh, T. H. 2007a. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81, 634-641.

Rojas-Grau, M.A., Raybaudi-Massilia, R.M., Soliva-Fortuny, R.C., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., Martín-Belloso, O. 2007b. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology* 45 (2), 254–264.

Rojas-Graü, M.A.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 438-447.

Rosalam, S.; England, R. 2006. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas compestris* sp. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 197-207.

Shah, K. A.; Date, A. A.; Joshi, M.D.; Patravale, V. B. 2007. Solid lipid nanoparticles (SLN) of tretinoin: Potential in topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 345, 163-171.

Shahgaldian P.; Da Silva E.; Coleman A.W.; Rather B.; Zaworotko, M.J. 2003. Para-acyl-calix-arene based solid lipid nanoparticles (SLN): a detailed study of preparation and stability parameters. *International Journal of Pharmaceutics*, 253, 23-38.

Shaw, N.B., Monahan, E.J., O’Riordan, E.D., O’Sullivan, M. 2002. Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol or sorbitol. *Journal of Food Science*, (67), 164-167.

Shegokar, R.; Singh, K. .K.; Müller, R.H. 2010. Production & stability of stavudine solid lipid nanoparticles-From lab to industrial scale. *International Journal of Pharmaceutics*. In Press.

Simsek, S. 2009. Application of xanthan gum for reducing syrupe in refrigerated doughs. *Food Hydrocolloids*, 23, 2354-2358.

Sobral, P. J. A.; Menegalli, F. C.; Hubinger, M. D.; Roques, M. A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15, 426-432.

Sothornvit, R.; Krochta, J. 2000. Water vapor permeability and solubility of film from hydrolyzed whey protein. *Journal Food Science*, 65(41), 700-703.

Sothornvit, R.; Pitak, N. 2007. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International*, 40, 365-370.

Sothornvit, R.; Rodsamran, P. 2008. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 407-415.

Souto, E. B.; Anselmi, C.; Centini, M.; Müller, R.H. 2005. Preparation and characterization of n-dodecyl-ferulate-loaded solid lipid nanoparticles (SLN®). *International Journal of Pharmaceutics*, 295, 261-268.

Souto, E. B.; Wissing, S. A.; Barbosa, C. M.; Müller, R. H. 2004. Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 278, 71–77.

Srinivasa, P.C.; Ramesh, M.N.; Tharanathan, R.N. 2007. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1113–1122.

Subedi, R. K.; Kang, K.; Choi H. 2009. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with doxorubicin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37, 508–513.

Tapia, M. S.; Rojas-Graü, M.A.; Carmona, A.; Rodríguez, F.J.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. 2008. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. *Food Hydrocolloids*, 22, 1493-1503.

Trotta, M.; Debernardi, F.; Caputo, O. 2003. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique *International Journal of Pharmaceutics*, 257, 153–160.

Veiga-Santos, P.; Oliveira, L.M.; Cereda, M.P.; Alves, A.J.; Scamparini, A.R.P. 2005a. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 19, 341–349.

Veiga-Santos, P.; Suzuki, C.K.; Cereda, M.P.; Scamparini, A.R.P. 2005b. Microstructure and color of starch–gum films: Effect of gum deacetylation and additives. Part 2. *Food Hydrocolloids*, 19, 1064–1073

Villafuerte, R. L.; García, F. B.; Garzón, S. M. L.; Hernández, L. A.; Vázquez, R. M. L. 2008. Nanopartículas lípidicas sólidas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39 (001), 38-52.

Villagómez-Zavala, D. L.; Gómez-Corona, C.; San Martín Martínez, E.; Pérez-Orozco, J. P.; Vernon-Carter, E. J.; Pedroza-Islas, R. 2008. Comparative study of the mechanical properties of edible films made from single and blended hydrophilic biopolymer matrices. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7, 263-273.

Villalobos-Carvajal, R.; Hernández-Muñoz, P.; Albors, A.; Chiralt, A. 2009. Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. *Food Hydrocolloids*, 23, 526–535.

Weiss, J.; Decker, E.A.; McClements, D.J.; Kristbergsson, K.; Helgason, T.; Awad, T. 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3, 146-154.

Weyenberg, W.; Filev, P.; Van den Plas, D.; Vandervoort, J.; De Smet, K.; Sollie, P.; Ludwig, A. 2007. Cytotoxicity of submicron emulsions and solid lipid nanoparticles for dermal application. *International Journal of Pharmaceutics*, 337, 291–298.

Wissing, S.A.; Kayser, O.; Müller, R.H. 2004. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1257– 1272.

Wissing, S. A.; Müller, R. H. 2003. The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity–in vivo study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56, 67–72.

Xu, S., Chen, X., Sun, D., 2001. Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. *Journal of Food Engineering* 50 (4), 211–216.

Yang, L.; Paulson, A. T. 2000. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Research International*, 33, 571-578.

Yang, L.; Paulson, A.T.; Nickerson, M.T. 2010. Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films. *Food Research International*, 43, 1439–1443.

Yi Wu C. L. W.; Fayrene, H. S. L.; Cuppett, M. S. 2002. Development and application of multicomponent edible coatings and films: A review. *Advances in Food and Nutrition Research*, 44, 347-394.