



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

REDUCCIÓN DEL ÍNDICE DE BLANCURA SOBRE FRUTOS  
POST-ALMACENAMIENTO REFRIGERADO RECUBIERTOS CON  
NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS EN PRESENCIA DE UN  
AMBIENTE HÚMEDO.

### T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

JOSÉ ARNALDO GUERRERO MARTÍNEZ

#### ASESORES:

M. en C. María de la Luz Zambrano Zaragoza

Dr. David Quintanar Guerrero



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.



## **AGRADECIMIENTOS**

*Gracias a mis padres Arnaldo y Lydia por haberme dado la vida, por confiar en mí y por apoyarme incondicionalmente en mi formación como persona y profesionalista. La culminación de este trabajo representa el fruto de su esfuerzo, dedicación y sacrificios. ¡Gracias, los amo!*

*Gracias a mi hermano Orlando y a toda mi familia quienes han sido y seguirán siendo una pieza importante en mi vida.*

*Gracias a mis amigos que me apoyaron a lo largo de la carrera y que seguirán apoyándome y compartiendo su vida conmigo.*

*Gracias a la Maestra Luz Zambrano y al Dr. David Quintanar Guerrero por su confianza, apoyo y dedicación en el desarrollo de este proyecto; agradezco especialmente el apoyo y orientación brindados por el Profesor Alfredo Álvarez.*

*Gracias a mis abuelitas, que aunque no estuvieron presentes a lo largo de mi formación como profesionalista, estuvieron siempre conmigo y la culminación de este trabajo es dedicado con especial cariño para ellas.*

# ÍNDICE

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1. ANTECEDENTES	1
1.2. Recubrimientos Comestibles	2
1.2.1. Definición	3
1.2.2. Aplicación	3
1.2.3. Composición	5
1.2.3.1. Recubrimientos lipídicos	6
1.2.4. Efecto de la composición de los recubrimientos	8
1.2.4.1. Naturaleza química y concentración de los componentes	9
1.3. Recubrimientos comestibles aplicados en frutas y hortalizas para su conservación	10
1.3.1. Pérdida de Agua	10
1.3.2. Textura	11
1.3.3. Respiración	11
1.3.4. Apariencia	12
1.3.5. Sabor	12
1.4. Aplicación de los recubrimientos en frutas y hortalizas como barreras parciales al vapor de agua y a otros gases	12
1.5. Nanotecnología	14

1.5.1.	Nanopartículas Lipídicas Solidas (NLS)	15
1.5.1.1.	Definición	15
1.5.1.2.	Procesos para la elaboración de NLS	16
a)	Homogeneización por cizalla	16
b)	Homogeneización por alta presión	17
-	Homogeneización por alta temperatura	17
-	Homogeneización en frío	18
1.5.1.3.	Caracterización de las nanopartículas lipídicas sólidas	19
a)	Tamaño de partícula	19
1.6.	El color aplicado en alimentos	21
1.6.1.	Medición del color	23
1.6.1.1.	Sólidos de color	25
1.6.1.2.	Sistemas para denotar color	25
1.6.1.3.	Diferencia de color (DC)	26
1.6.2.	Color en recubrimientos comestibles	27
1.6.3.	Efecto de nanopartículas sobre el color de recubrimientos	28
2.	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	29
2.1.	Definición de Objetivos	29
2.2.	Identificación de Variables	29
2.3.	Desarrollo Experimental	31
3.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
3.1.	Resultados de la actividad preliminar	39
a)	Caracterización de NLS con cera de abeja y candelilla	39

b) Comparación entre la cera de abeja y candelilla.	39
c) Efecto de la formulación de NLS sobre la blancura del recubrimiento	41
3.2. Caracterización de NLS con cera de abeja	44
3.3. Caracterización de recubrimientos “in vitro”	46
3.4. Índice de blancura en limón sin semilla	49
3.4.1. Cambios en índice de blancura durante el almacenamiento por cuatro semanas	49
3.4.2. Índice de blancura después de humedecer el recubrimiento	52
3.5. Pérdida de peso y jugosidad	56
3.6. Firmeza	61
CONCLUSIONES	64
BIBLIOGRAFÍA	65

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Identificación y definición de variables	30
Cuadro 2. Composición de los recubrimientos	33
Cuadro 3. Diseño factorial fraccionado	35
Cuadro 4. Diseño de superficie de respuesta	36
Cuadro 5. Formulación de los recubrimientos	38
Cuadro 6. Valores colorimétricos para limones recubiertos con dos tipos de cera	40
Cuadro 7. Medias de cuadrado mínimo para IW	41
Cuadro 8. Potencial zeta de las NLS durante el almacenamiento	45
Cuadro 9. Tensión máxima alcanzada en recubrimientos con NLS	48
Cuadro 10. Valores de jugosidad para limones recubiertos con NLS	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de cromaticidad CIE Yxy y la división de las cromaticidades reales en espectrales y no espectrales (Manresa et al., 2007)	24
Figura 2. Prueba de tensión en un recubrimiento con NLS	34
Figura 3. Limones recubiertos con diferente cera: A, cera de candelilla sin humedecer, B, cera de candelilla después de humedecer, C, cera de abeja sin humedecer, D, cera de abeja después de humedecer	40
Figura 4. Diagrama de Pareto	42
Figura 5. Diagrama de cubos	43
Figura 6. Reacción de las NLS en la cascara del limón sin semilla	44
Figura 7. Índice de blancura durante el almacenamiento por cuatro semanas sin humedecer	51
Figura 8. Índice de blancura en limón sin semilla después de haber estado en contacto con el agua	53
Figura 9. Limones con nanorecubrimientos después de haber sido humedecidos	55
Figura 10. Pérdida de peso en limones sin recubrir y recubiertos con NLS	57
Figura 11. Jugosidad en limones sin recubrir y limones recubiertos con NLS	60
Figura 12. Firmeza en limones sin recubrir y limones recubiertos con NLS	62

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la reducción del índice de blancura en recubrimientos con base en goma xantana aplicados en limón sin semilla a través de la determinación del tipo de cera, el tamaño de partícula y la concentración de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) en la dispersión. Las NLS fueron preparadas por el método de homogenización por alta temperatura. Como actividad preliminar se estudio la influencia de la cera de abeja y candelilla sobre el índice de blancura considerándose además, el efecto de la concentración de goma xantana y NLS sobre el índice de blancura, obteniéndose un efecto significativo tanto del tipo de cera y goma xantana, por lo que se estableció trabajar con cera de abeja y una concentración de goma xantana de 0.1%. En una segunda etapa se estudió el efecto de la concentración de NLS y el tamaño de partícula sobre el índice de blancura, utilizando tres concentraciones de NLS (50, 55 y 60%), tres de propilenglicol (0.5, 0.75 y 1%) y tres tamaños de partícula (568, 795 y 915 nm). Los resultados más relevantes mostraron que el tamaño de partícula es el que tiene el mayor efecto sobre el índice de blancura, reduciéndose este último al disminuir la concentración de NLS. Sin embargo; puesto que es necesario garantizar la conservación del producto en almacenamiento refrigerado, las pruebas realizadas mostraron que con tamaños de partícula mayores (915 nm) las propiedades de calidad del limón sin semilla disminuyen, por el contrario con 568 nm las propiedades de transferencia se ven favorecidas, por lo que es importante considerar el tamaño de partícula para mejorar las propiedades de los recubrimientos en la conservación de limón refrigerado estableciéndose que lo más recomendable, es utilizar un recubrimiento con 795 nm para mantener las propiedades de calidad durante el periodo de conservación y además disminuir la blancura que se genera sobre la superficie de los frutos al momento de ser humedecidos.

## INTRODUCCIÓN

Con la creciente demanda de los consumidores para obtener alimentos de alta calidad, la preocupación sobre el uso de recursos naturales limitados y el medio ambiente, ha aumentado. En particular el uso de recursos renovables para producir materiales de envasado comestibles o biodegradables que pueden mejorar la calidad del producto y reducir los problemas de eliminación de residuos (Rhim et al, 2006). Los recubrimientos comestibles fortalecen las capas naturales para evitar las pérdidas por humedad, mientras que, de manera selectiva, permite el intercambio controlado de gases de efecto importante, como el oxígeno, el dióxido de carbono y etileno, que están implicados en los procesos de respiración (Embuscado y Huber, 2009). Para que los recubrimientos comestibles sean funcionales y por tanto óptimos, se deberá otorgar una importancia especial a la selección de los materiales que los forman, ya que sus propiedades están fuertemente afectadas por la naturaleza de sus componentes, composición y estructura final (Lin y Zhao, 2007). Como regla general, las grasas se utilizan para reducir la transferencia de agua; los polisacáridos tienen la característica de controlar la transferencia de oxígeno y otros gases, y los recubrimientos de proteínas proporcionan una estabilidad mecánica para prevenir la transmisión de oxígeno. Los recubrimientos con base en ceras han sido aplicados a diversos frutos para su conservación desde 1960, sin embargo han presentado una problemática ya que en algunos ocasiones provocan daños fisiológicos que se traducen en una reducción de la vida útil no obstante las barreras a la transmisión de agua son excelentes, sin dejar de retardar o prevenir por completo la migración de gas (Saucedo-Pompa, 2009).

En muchos países, el principal problema es mantener las frutas y verduras frescas y seguras hasta que lleguen a las manos de los consumidores. A pesar de que las frutas y verduras tienen un recubrimiento de cera natural, no es suficiente para

ofrecer protección contra la pérdida de agua y la alta tasa de respiración, ya que esto contribuye a la pérdida de peso y de proteínas durante el almacenamiento (Bosquez-Molina et al., 2003).

El uso de nanorecubrimientos se ha convertido en un tema de gran interés en el campo de la nanotecnología alimentaria debido a su potencial para aumentar la vida útil de muchos productos alimenticios (Fayaz et al., 2009). El uso de recursos tecnológicos como la nanotecnología puede mejorar la calidad de un producto. Uno de estos recursos es el uso de lípidos sólidos en lugar de aceites líquidos, ya que es una idea muy atractiva para lograr la liberación controlada de ciertos componentes en el alimento (Rhim et al., 2006). Los lípidos sólidos han mostrado ser mejores ingredientes en la formación de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) (Sozer y Kokini, 2009). Los ingredientes generales de estas nanopartículas incluyen los lípidos sólidos, emulsionantes y agua (Souto y Müller, 2006). Sin embargo cuando los recubrimientos con NLS son aplicados en frutos y están en contacto con un ambiente húmedo, presentan una coloración blanca sobre la superficie del fruto, provocando una mala apariencia. Esta blancura presentada en el nanorecubrimiento se debe a una ligera condensación de vapor de agua después de que el fruto ha sido refrigerado; sin embargo, también se pueden relacionar diversos factores, como los componentes que forman el recubrimiento (Hagenmaier y Baker, 1994).

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. Fruto (Limón sin semilla)

El limón persa (*Chus Latifolia L.*) conocido en México como “limón sin semilla” y en Estados Unidos como “lima de Persia” o “lima de Tahiti”, es un fruto oblongo a ovoide, con una papila terminal ancha no muy pronunciada, de 3.8 a 6.6 cm de largo e incluso mayor, de color amarillo brillante al madurar, con ligeras rugosidades y 8 o 10 segmentos, ácido, de producción media y preferido por su buena calidad para exportar como fruta fresca.

El cultivo del limón persa, con poco más de diez años de haberse introducido en el país, es uno de los productos de exportación más dinámicos dentro del sector agropecuario. El cultivo se exporta principalmente a los Estados Unidos y ha comenzado a desarrollarse en algunos países de Sudamérica que están comenzando a competir con México en los mercados internacionales, fundamentalmente Brasil, Argentina, Chile, Ecuador, Guatemala, Venezuela y las Islas Bahamas.

No obstante, en el campo, en las regiones productoras de limón persa, persiste la insuficiencia de infraestructura de acopio, selección, empaque, refrigeración y transporte. Las empacadoras constituyen el punto nodal del sistema de comercialización del limón persa. Su función de acopio, selección, presentación y comercialización del producto en mercados nacionales e internacionales es fundamental para el producto. Uno de los objetivos del programa de organización entre productores y empacadores, es lograr una infraestructura adecuada para el

proceso de envasado, de manera que las empacadoras organizadas sean capaces de ofrecer empaques en función de la demanda requerida.

El factor clave en el manejo post-cosecha para la mayoría de los productos cítricos son los que inciden directamente en prolongar la vida útil y el período de comercialización, ya sea acelerando la coloración o maduración para adelantar la temporada, o mediante la conservación para mantenerse en épocas extemporáneas. Los frutos de limón en estado normal tienen un tiempo de vida útil de dos semanas (14 días) en condiciones ambientales, con un promedio de 11% de pérdidas en peso de las cuales el 30% pierden la coloración verde, si el tiempo de almacenamiento se incrementa hasta 22 días los frutos presentan daños que impiden su comercialización (pérdida de peso -15%-, excesivo marchitamiento de la cáscara y pérdida total del color verde). Es por esto, que se han desarrollado diferentes alternativas para alargar la vida útil de los limones, una de ellas es la utilización de recubrimientos comestibles y, aunque los limones tienen una capa de cera natural, esta no es suficiente para protegerlos del daño mecánico y físico, aunado a esto la cera natural que presentan los limones genera una blancura sobre su superficie al contacto con el agua, lo que hace que el producto tenga una apariencia que no es agradable para el consumidor y lo que se busca es desarrollar recubrimientos comestibles que disminuyan el índice de blancura sobre la superficie del alimento con una reducción de la pérdida de color durante el período de maduración así como mejorar las propiedades de transferencia al vapor de agua y otros gases y con esto disminuir la pérdida de peso y firmeza del producto (ASERCA, 2011).

## **1.2. Recubrimientos Comestibles**

Los recubrimientos comestibles han demostrado la capacidad de mejorar la calidad de los alimentos y prolongar la vida útil de las frutas y hortalizas mediante el control de la transferencia de agua, oxígeno, dióxido de carbono. En la mayoría de los casos, es necesario añadir a la solución de los recubrimientos plastificantes,

con el fin de mantener la película flexible. Los plastificantes más usados en la industria alimentaria son glicerol, manitol, sorbitol y sacarosa. Con el fin de dar una mejor uniformidad, se pueden adicionar surfactantes, que actúan reduciendo la tensión superficial. Esta alternativa también disminuye la actividad de agua ( $a_w$ ) en la superficie y a su vez reduce la pérdida de agua (Lin y Zhao, 2007). Los recubrimientos comestibles pueden ser formulados especialmente para proporcionar una protección adicional contra la contaminación de microorganismos mientras tienen un efecto similar al de una atmosfera modificada durante el almacenamiento y su modificación interior del gas (Jianshen et al., 2008).

### **1.2.1. Definición**

Se considera una película o recubrimiento comestible a cualquier tipo de material que se puede comer junto con los alimentos con el fin de prolongar la vida útil del producto. Las películas comestibles proveen un reemplazo y fortalecimiento de las capas naturales para evitar las pérdidas por humedad, mientras que de manera selectiva permiten el intercambio controlado de gases, como el oxígeno, el dióxido de carbono y el etileno, que están implicados en los procesos de respiración. Una película o recubrimiento comestible puede también proporcionar la esterilidad de una superficie y evitar la pérdida de otros componentes importantes. En general, su espesor es inferior a 0,3 mm (Embuscado y Huber, 2009). Sin embargo, una película de vez en cuando se diferencia de un recubrimiento; una película comestible es un material independiente que se forma ajena al alimento y después se aplica, mientras que un recubrimiento comestible se aplica y se forma directamente en la superficie del alimento (Lin y Zhao, 2007).

### **1.2.2. Aplicación**

Las películas y los recubrimientos comestibles son en la actualidad utilizados en una amplia variedad de alimentos, incluyendo frutas, hortalizas, carnes, chocolates, caramelos, productos de panadería, y papas fritas (Weiss et al., 2006).

Para desarrollar estos recubrimientos comestibles, es necesario considerar los factores mecánicos, físicos y químicos involucrados en el almacenamiento del alimento. Además, estos recubrimientos pueden conferir propiedades nutricionales y organolépticas de los alimentos si se añaden como antioxidantes, colorantes o sabores artificiales (Saucedo-Pompa et al., 2009).

Los tratamientos post-cosecha se han utilizado para preservar la calidad de los productos frescos y se han centrado principalmente en la preservación de la frescura y evitar el crecimiento microbiano. Las frutas y hortalizas son muy susceptibles a las pérdidas y al deterioro de las propiedades sensoriales, microbianas y nutricionales. Se ha demostrado que, la utilización de tratamientos post-cosecha como el preenfriamiento y el uso de recubrimientos comestibles reducen la actividad metabólica y por ende la respiración de frutas y vegetales, contribuyendo a incrementar su tiempo de comercialización. Las formulaciones adecuadas de recubrimientos comestibles tienen las siguientes funciones: (1) reducen el intercambio de gases y la pérdida de agua, (2) aporta en la superficie de frutas y hortalizas un aspecto brillante y un mejor color, (3) reduce la pérdida de peso del fruto, (4) prolongan la vida útil de almacenamiento retrasando la maduración, (5) reducción de daño por frío y mecánico, (6) evitan el deterioro microbiano, (7) ofrece una alternativa al empaqueo de alimentos junto con características amigables con el ambiente (González-Aguilar et al., 2010). Los resultados de los recubrimientos comestibles en cuanto a la maduración de las frutas y hortalizas y la calidad están en función de diversos factores, tales como el tipo de recubrimiento, la formulación, la naturaleza del fruto, la variedad, la madurez del fruto, las condiciones de almacenamiento, y el espesor del recubrimiento (Dang et al., 2008). Por otro lado, la aplicación de recubrimientos en los frutos cítricos es una práctica normal en la industria, ya que durante el lavado de estas las ceras naturales que contienen se extraen pero el problema que surge es una blancura en la superficie. Por lo tanto, los recubrimientos para los productos cítricos proporcionan una barrera a la pérdida de agua y un equilibrio en el intercambio de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> (Navarro-Tarazaga et al., 2008).

### 1.2.3. Composición

Los recubrimientos consisten de una fase hidrófoba (ceras, esteroides y ácidos), una hidrófila (polisacáridos y proteínas), un agente emulsionante (proteínas y lípidos) y agua que pueden ser utilizados individualmente o en mezclas de compuestos para formar películas, siempre y cuando no afecten de forma adversa el sabor de los alimentos (Togrul y Nurhan, 2004). Las estructuras químicas de los tres componentes principales que se utilizan para preparar las películas son muy diferentes, y por lo tanto los atributos que cada componente contribuye a las propiedades de película en general también son diferentes. En los recubrimientos comestibles los componentes de bajo peso molecular en general son fácilmente solubilizados, a pesar de que presentan mayor permeabilidad que las componentes de alto peso molecular. La adsorción de agua se produce fácilmente en la superficie de las películas de polisacáridos (por ejemplo, las de alginato, carragenatos, celulosa y sus derivados, las dextrinas, pectina y almidón), debido a la naturaleza hidrofílica de la mayoría de los polisacáridos. Las principales ventajas de las películas de polisacáridos son: su estabilidad estructural y su capacidad de retrasar la transmisión de oxígeno. Como una regla general, las películas que no ofrecen una protección contra la transferencia de agua a menudo tienen propiedades deseables para prevenir la transmisión de oxígeno y viceversa (Saucedo-Pompa et al., 2009). La resistencia al transporte de gas puede ser tan efectiva para las películas de polisacáridos que puede ser un desafío para su manipulación. Como una respuesta a lo anterior, se desarrollaron recubrimientos con base en proteínas. En general, el valor de las proteínas como barreras contra la humedad es bajo, y además no controlan adecuadamente la transferencia de oxígeno, dióxido de carbono y otros gases que son importantes para la estabilidad de varios alimentos. Su principal ventaja es su estabilidad estructural, lo que hace posible la formación de una estructura requerida. Por lo tanto dependiendo de la composición de las proteínas, la permeabilidad también puede ser alterada. Se ha investigado que, dependiendo del pH de la solución de la que fue formada la

película (lípidos, polisacáridos o proteínas), las propiedades (por ejemplo, color, brillo, textura y resistencia a la tracción) se modifican (Embuscado y Huber, 2009).

Por último, se ha demostrado que los recubrimientos con base en cera permiten la respiración y retrasan la migración de agua gracias a las barreras que se forman; sin embargo, las ceras afectan la transmisión de oxígeno y dióxido de carbono, y por lo tanto, puede dar lugar a procesos fisiológicos no deseados, como la respiración anaerobia.

La aplicación de películas comestibles es especialmente difícil cuando la aplicación del material es lipofílico en superficies húmedas, como ocurre en las frutas y hortalizas recién cortadas. Sin embargo, existen varios inconvenientes para los recubrimientos de tipo lipídicos. Si estos recubrimientos se mojan, pueden ser difíciles de manejar y pueden funcionar más como una capa de sacrificio en lugar de una verdadera barrera contra la humedad. La estabilidad de la emulsión también es sensible a la temperatura y su eficiencia puede verse afectada por la calidad del emulsionante utilizado (Bosquez-Molina et al., 2003).

### **1.2.3.1. Recubrimientos lipídicos**

Los recubrimientos comestibles a base de sustancias hidrofóbicas, como son los lípidos, fueron desarrollados específicamente para limitar la migración de la humedad dentro de los alimentos. Los recubrimientos comestibles con base en lípidos tienen una baja afinidad por el agua, lo que explica por qué tienen permeabilidad a humedades bajas. Los lípidos son barreras efectivas contra la migración de la humedad debido a su naturaleza no polar. Muchos estudios han investigado el uso de recubrimientos sobre frutas y hortalizas frescas para controlar la desecación y se ha encontrado que el uso de ceras como barreras que retrasan la transferencia de agua permiten un aumento de la vida útil del fruto durante el almacenamiento (Lin y Zhao, 2007). Las propiedades benéficas de los recubrimientos en base en lípidos incluyen una buena compatibilidad con otros agentes que forman la capa, restringir el intercambio de compuestos volátiles

entre los productos frescos y su entorno mediante las barreras de gas, lo que impide la pérdida de sabor, compuestos volátiles naturales y componentes de color, además de proteger contra el daño físico de la producción causada por impacto mecánico, la presión, vibraciones y otros factores y adicionalmente generan una buena barrera a los gases en comparación a recubrimientos basados en polisacáridos y proteínas. Sin embargo, los recubrimientos a base de lípidos algunas veces presentan propiedades organolépticas indeseables como la rancidez de los lípidos o la misma cera (Embuscado et al., 2009).

Los ácidos grasos saturados de cadena larga proporcionan recubrimientos con mejores propiedades de barrera al vapor de agua (entre los ácidos grasos). Los lípidos que son sólidos a la temperatura de almacenamiento deseada formarán recubrimientos con mejores propiedades de barrera al vapor de agua que los lípidos que son líquidos en las mismas condiciones, principalmente debido a su solubilidad del vapor de agua, ya que en los lípidos de cadena larga es menor.

Las ceras (cera de carnauba, cera de abejas, cera de candelilla, y otros) han sido aplicadas comercialmente como recubrimientos protectores para frutas y hortalizas frescas desde la década de 1930 con el fin de disminuir el transporte de agua, reducir la abrasión de la superficie durante la manipulación de la fruta mediante la mejora de la integridad mecánica y el control interno en cuanto a la composición del gas en los frutos. En los recubrimientos, las ceras son mucho más resistentes al transporte de agua que las capas de lípidos o de otros compuestos no lipídicos. Las aplicaciones comerciales de las ceras son bastante extensas en cítricos, manzanas, espárragos, zanahorias, apio, etc., donde la característica de estas ceras incluye un brillo predominante sobre la superficie (Lin y Zhao, 2007).

La cera de carnauba es una cera natural de la planta, es relativamente permeable a los gases, y en forma de microemulsión, es bastante brillante. Los principales problemas con la cera de carnauba es su pérdida de brillo durante el almacenamiento y su permeabilidad a los gases relativamente alta, lo cual no es efectivo para retrasar la maduración. Sin embargo, es una excelente barrera al

vapor de agua. Este tipo de cera tiene más problemas con el blanqueamiento, o "rubor", como se conoce en la industria, donde el agua se condensa sobre la superficie de la fruta recubierta después de haber sido refrigerada (Hagenmaier y Baker, 1994). La cera de abeja es llamada cera blanca o cera amarilla, dependiendo del grado de refinación del producto. La materia prima básica es secretada por las abejas durante el proceso de construcción de sus panales, dentro de su composición se encuentran contiene ácidos libres, esterres y otros componentes naturales que le dan características especiales, tales como propiedades emulsificantes, plasticidad, compatibilidad con otros productos naturales y olor agradable. Además, tiene la característica de proveer una alta cristalinidad en frutos, que proporciona una buena barrera al vapor de agua (Attama y Müller-Goymann, 2007).

#### **1.2.4. Efecto de la composición de los recubrimientos**

Los polisacáridos pueden presentar ya sea una carga neutra (por ejemplo, ésteres de acetato de metilo, éteres u otros azúcares neutros), carga negativa (por ejemplo grupos carboxilato o sulfato), o carga positiva (por ejemplo, grupos amino). Estas características estructurales de los polisacáridos contribuyen a las diferencias en su solubilidad, sinergia o incompatibilidad entre sí o con otros ingredientes (por ejemplo, proteínas, minerales, ácidos y lípidos), propiedades espesantes, gelificantes, emulsionantes y, más importante aún, sus propiedades de formación de película (Embuscado y Huber, 2009).

Las películas comestibles que se basan en lípidos exhiben comportamientos variables contra la transferencia de agua. Tanto el estado sólido como líquido de los compuestos lipídicos influye fuertemente en la eficacia de la barrera de humedad de la película. La estructura sólida de las grasas es más densa así como la difusión de los límites del agua. Por otra parte, la solubilidad del agua en los lípidos sólidos también se reduce. Sin embargo para sólidos contenidos en materia grasa y en función de la naturaleza lipídica, la permeabilidad puede aumentar como resultado de defectos estructurales (por ejemplo, la porosidad) dentro de la

película. Si bien, la estructura física de los lípidos determina la calidad de la película, y por lo tanto la permeabilidad de la humedad, la estructura de la película es otro parámetro que debe tenerse en cuenta (Embuscado y Huber, 2009). Una capa hidrófila no es una barrera muy buena al vapor de agua, mientras que las sustancias hidrofóbicas como los lípidos en estado sólido presentan como obstáculos la migración de humedad, ya que los recubrimientos comestibles a base de lípidos tienen poca afinidad por el agua debido a su naturaleza no polar. Los lípidos con una mayor afinidad por el agua como las ceras y los ácidos grasos se utilizan como recubrimientos, ya que tendrán una mayor permeabilidad al vapor de agua (Saucedo-Pompa et al., 2009).

#### **1.2.4.1. Naturaleza química y concentración de los componentes**

La distribución de potencial electrostático en las moléculas depende del grupo químico, la longitud de cadena de los componentes alifáticos, y la presencia de insaturaciones. Las ceras son las sustancias más eficaces para reducir la permeabilidad de la humedad, debido a su alta hidrofobicidad causada por su alto contenido de alcoholes grasos de cadena larga y alcanos. La más eficaz, es la cera de abeja, seguida por el alcohol estearílico, acetil glicerol, alcanos, triglicéridos (por ejemplo, triestearina), y los ácidos grasos (por ejemplo, ácido esteárico). Esta clasificación se puede explicar por la hidrofobicidad molecular, que define el grado de interacción con el agua, sin embargo se ha encontrado que un aumento en la concentración de la cera por encima de los demás componentes provoca un aumento en el índice de blancura (Hagenmaier y Baker, 1994). También se ha comprobado que la eficacia contra la humedad de los alcoholes grasos y ácidos grasos aumenta con el número de átomos de carbono (de 14 a 18), porque la proporción relativa de la parte no polar de la molécula aumenta, reduciendo al mínimo la solubilidad en agua y la transferencia de agua; sin embargo los ácidos grasos insaturados son menos eficientes en el control de migración de la humedad, porque son más polares y muestran diferentes tendencias de cristalización de los lípidos saturados además el brillo que aportan es bajo (Lin y Zhao, 2007).

### **1.3. Recubrimientos comestibles aplicados en frutas y hortalizas para su conservación**

En general, el propósito del empleo de películas y recubrimientos comestibles para frutas y hortalizas es retrasar la transferencia de gas, vapor de agua y compuestos volátiles, por lo tanto el suministro de alimentos con atmósfera modificada disminuye la respiración, la senescencia y la pérdida de aroma, retiene la humedad y los cambios de color durante el almacenamiento, por ejemplo, mantienen el contenido de compuestos fenólicos de ácido ascórbico, y pueden causar un aumento en el capacidad antioxidante de la fruta (González-Aguilar et al., 2010). A continuación se presentan los parámetros que se tienen que considerar para la aplicación de un recubrimiento comestible.

#### **1.3.1. Pérdida de Agua**

Las películas y recubrimientos comestibles disminuyen la velocidad de transmisión de vapor de agua formando una barrera en la superficie de frutas y hortalizas. Esta barrera evita pérdidas por textura, ya que el agua es esencial para la preservación de la turgencia celular. Las alteraciones metabólicas que pueden causar la acelerada tasa de senescencia debido a la pérdida de agua también se puede evitar con su utilización. La capacidad de las películas y recubrimientos para funcionar como barreras al vapor de agua depende de condiciones externas, estas incluyen (1) temperatura y humedad relativa, (2) características de los productos básicos como el tipo de producto, variedad, madurez y actividad de agua, y (3) características de la película como la composición, la concentración de sólidos, la viscosidad, la estructura química, la morfología de polímeros, el grado de entrecruzamiento, los disolventes utilizados en la fundición de la película, y el tipo de plastificante utilizado (Embuscado y Huber, 2009). Las propiedades de barrera contra la pérdida de humedad de películas hidrofílicas puede ser mejorada incorporando materiales hidrofóbicos como las ceras, ácidos grasos saturados de cadena larga, etc. (Bosquez-Molina et al., 2003). Los recubrimientos comestibles

pueden prevenir cambios en la calidad de las frutas y hortalizas actuando como una barrera al vapor de agua y como beneficios se encuentran el control de la maduración y la oxidación, una mejor retención del color, sabor y firmeza (Togrul y Nurhan, 2004).

### **1.3.2. Textura**

Cuando la película o recubrimiento se aplica a un producto se desarrolla una atmósfera modificada. La reducción interna de oxígeno y el aumento de dióxido de carbono en el interior provocará, en algunos casos demora de ablandamiento. Los recubrimientos comestibles también pueden preservar la textura de las frutas y hortalizas, actuando como una barrera parcial al agua, además de servir como vehículos potenciadores de textura. La textura de las frutas y hortalizas a menudo se interpreta en términos de firmeza, frescura, jugosidad, y dureza (atribuida por la fibrosidad del tejido de la planta), donde la jugosidad o la firmeza son los atributos que se desean en los productos frescos y mínimamente procesados (Lin y Zhao, 2007).

### **1.3.3. Respiración**

Las reacciones enzimáticas se producen en las frutas y hortalizas durante la respiración cuando se consume el oxígeno, se produce dióxido de carbono y se libera calor. La tasa de respiración en sí, es influenciada por la temperatura, la humedad y la composición del gas (Embuscado y Huber, 2009). En la selección de un recubrimiento, deben tomarse en cuenta varias consideraciones para evitar la concentración de oxígeno extremadamente bajo dentro de las frutas y hortalizas. La baja concentración de oxígeno en el producto podría dar lugar a una respiración anaerobia, que puede provocar el deterioro del producto debido a la producción de malos sabores y la maduración acelerada, por lo tanto el control adecuado de la respiración cuando se aplica un recubrimiento comestible se ve beneficiado en el retraso de la maduración (Lin y Zhao, 2007).

#### **1.3.4. Apariencia**

Uno de los atributos más importantes en las frutas y hortalizas es el color. Es por eso que cuando se aplica un recubrimiento sobre su superficie la apariencia del alimento es notable, ya que el recubrimiento ayuda a la preservación del color a lo largo de la vida útil del producto. La manera en como un recubrimiento comestible ayuda al retraso de la maduración y como consecuencia a un mantenimiento del color es a través de la composición del recubrimiento, es decir, dependerá de si el recubrimiento está compuesto de polisacáridos, proteínas o lípidos, que se traduce en la eficacia de la barrera a la transferencia de vapor de agua y otros gases, ya que entre mejores propiedades de barrera le confiera el recubrimiento al alimento, este presentará una disminución en la tasa de respiración, lo cual ayuda al retraso de la maduración y por lo tanto la preservación del color (Dang et al., 2008).

#### **1.3.5. Sabor**

El sabor se puede preservar o modificar con películas o recubrimientos comestibles de dos maneras diferentes: (1) como una barrera para los compuestos volátiles aromáticos, y (2) como un portador de sabores. Los recubrimientos comestibles también pueden modificar la atmósfera interna de los productos frescos como son las frutas y hortalizas, causando un decremento de oxígeno y alta concentración de dióxido de carbono. Esto no es benéfico para el sabor, ya que podría conducir a una disminución en la producción de compuestos de un sabor característico (Weller et al., 1998).

### **1.4. Aplicación de los recubrimientos en frutas y hortalizas como barreras parciales al vapor de agua y a otros gases**

La elección de un recubrimiento adecuado es complejo, porque depende de la respiración específica y las tasas de transpiración del producto y de las condiciones ambientales. La respiración y la maduración de frutas y hortalizas

implican el intercambio gaseoso con el medio ambiente. El dióxido de carbono, oxígeno, agua y otros desechos metabólicos, tales como el etileno y otros compuestos volátiles, son las principales sustancias intercambiadas durante el almacenamiento. Los recubrimientos modifican en la superficie la tasa de intercambio de gases entre el medio ambiente y las frutas, por lo tanto, el control inadecuado de la transpiración, la respiración y otros procesos metabólicos conduce a la pérdida de calidad. La difusión de gas es un fenómeno de transporte pasivo en el que se minimiza la energía libre de Gibbs a través de la transferencia de masa de una región con alta concentración de especies químicas que se unen a una región con menor concentración de las mismas especies químicas (Lin y Zhao, 2007). Los recubrimientos comestibles funcionan sobre todo como una barrera parcial al vapor de agua y a los gases por disminución de la tasa de transmisión de una determinada diferencia de presión parcial entre ambientes internos y externos. Esta barrera parcial es favorable a una modificación interna de la atmósfera con poco oxígeno y alta en dióxido de carbono, suprime la tasa de respiración y reduce las pérdidas de la transpiración. Durante este proceso espontáneo, la interfase entre las dos regiones mencionadas (natural y artificial) puede presentar en algunos casos la oposición al proceso de transferencia, afectando la velocidad de transferencia de masa. A menos que la interfase de un sistema impida completamente la transferencia de masa, la difusión continúa hasta que se alcanza el equilibrio (es decir, cuando un gradiente de concentración deja de existir). Cuando las interfases causan una oposición muy alta a un compuesto específico se conocen como impermeable. El estado estable unidimensional de la transferencia de masa, como el presenciado en productos frescos almacenados en condiciones específicas, puede ser matemáticamente descrito por la primera ley de la difusión de Fick, que establece que el flujo de masa por unidad de superficie de una determinada especie química es proporcional a su gradiente de concentración (Embuscado y Huber, 2009).

## 1.5. Nanotecnología

La nanotecnología es la comprensión y el control de la materia en dimensiones de aproximadamente 1 a 1000 nanómetros, donde los fenómenos que ocurren permiten nuevas aplicaciones. Abarcando la ingeniería y la tecnología a una nanoescala, la nanotecnología consiste en la proyección de imagen, de medida, modelización y la manipulación en esta escala de longitud. Sin embargo, las aplicaciones de la nanotecnología dentro de la industria de la alimentación son limitadas por los logros y descubrimientos que están empezando a causar impacto en la industria de la alimentación y las industrias asociadas, lo que afecta a importantes aspectos de la inocuidad de los alimentos y a la síntesis molecular de nuevos ingredientes y productos alimenticios (Weiss et al., 2006).

El uso de la nanotecnología en alimentos incluye la adición de sustancias que tienen funcionalidad orgánica en los alimentos que pueden ser antioxidantes, agentes microbianos, sabores, etc., estas sustancias son llamadas bioactivos. En la industria de alimentos, se ha puesto de manifiesto que uno de los principales problemas que hay con los fabricantes es la introducción de bioactivos lipofílicos en matrices de alimentos asociados con el desarrollo de alimentos para la salud y así promover el bienestar (Weiss et al., 2008). E.U.A. es el país líder del mercado, ya que tiene por lo menos tres veces más nanoproductos en el mercado que los del este de Asia y Europa. La no intervención de los productos alimenticios basados en la nanotecnología, es decir, nanoalimentos, para llegar a los mercados de alimentos en la ausencia de una definición clara, el debate público, la seguridad alimentaria, las evaluaciones, y las regulaciones apropiadas de los alimentos puede llegar a poner en peligro los beneficios potenciales de las nanotecnologías para la industria alimentaria. Aunque muchos científicos en alimentos afirman que la industria ya abrazó la nanotecnología, el desarrollo global de nanoalimentos está en su etapa inicial. La nanotecnología ha sido utilizada exitosamente en una amplia gama de aplicaciones tales como purificación de agua, rotura de la pared celular, liberación lenta de nutraceuticos, microencapsulación, desodorización, desinfectantes, antibióticos y las funciones de antifúngicos, y el aumento de la vida

útil (Chi-Fai et al., 2007). En el ámbito de la conservación de alimentos, la nanotecnología se ha enfocado al desarrollo de sistemas coloidales de nanopartículas que pueden, por ejemplo, ser usados como compuestos bioactivos en alimentos funcionales. Al reducir tamaño de partícula, la nanotecnología puede contribuir a mejorar las propiedades de los compuestos bioactivos, como solubilidad, tiempo de residencia prolongada en el tracto gastrointestinal y la absorción eficiente a través de células. El uso de bionanocompuestos para el envasado de algunos alimentos no sólo protege a los alimentos y aumenta su plataforma de vida, también puede ser considerado un medio ambiente más amistoso, ya que reduce la exigencia de utilizar los plásticos como materiales de embalaje. Hasta ahora, sólo unos pocos estudios han investigado la posible incorporación de nanopartículas en los envases.

### **1.5.1. Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)**

#### **1.5.1.1. Definición**

Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), son dispersiones de lípidos sólidos de tamaño submicrónico. A temperatura ambiente estas nanopartículas se encuentran en estado sólido por lo que necesitan un aumento en la temperatura para permitir la movilidad de las partículas en la dispersión y se consideran como un sistema de transporte alternativo al sistema coloidal tradicional, estos sistemas tradicionales son: emulsiones, liposomas y micropartículas poliméricas. Los lípidos sólidos naturales o artificiales se utilizan como vehículos con el bioactivo envuelto o disperso en las partículas coloidales sólidas. Los diámetros de las partículas están en el intervalo de 10 a 1,000 nm (HouLi et al., 2009). Las NLS constan de un núcleo de lípidos bioactivos sólidos con el que forman parte de la matriz lipídica. La partícula está estabilizada por una capa de surfactante que actúa como agente emulsionante, que puede consistir de uno solo, pero por lo general se compone de una mezcla de tensoactivos. La estructura cristalina generada tiene una capacidad limitada para llevar a un segundo compuesto lipofílico. La composición lipídica determinará el tipo de cristal que se genera al enfriarse, lo que influye en la

estabilidad de las NLS y las características de los bioactivos encapsulados (Weiss et al., 2008). Las ventajas de las NLS son: (1) evitar el uso de lípidos fisiológicos y sustituirlos por lípidos sólidos, (2) la homogeneización a alta presión como un método de producción que permite la fabricación a gran escala y continua, (3) protección de las moléculas de bioactivos sensibles al medio ambiente, (4) incorporación de elementos lipofílicos e hidrofílicos (Jores et al., 2004).

### **1.5.1.2. Procesos para la elaboración de NLS**

Los ingredientes generales incluyen los lípidos sólidos, emulsificantes y agua. El término lípido se utiliza aquí en un sentido más amplio e incluye los triglicéridos, glicéridos parciales, ácidos grasos, esteroides y ceras. Todas las clases de emulsificantes (con respecto a la carga y peso molecular) se han utilizado para estabilizar la dispersión de los lípidos. Se ha encontrado que la combinación de los emulsificantes podría prevenir la aglomeración de partículas (Trotta et al., 2003). Una ventaja clara de las NLS es el hecho de que la matriz lipídica se hace a partir de lípidos fisiológicos lo que disminuye el peligro de toxicidad aguda y crónica. La elección del emulsificante depende de la vía de administración y es más limitado para las administraciones parenterales. Una gran variedad de emulsionantes iónicos y no iónicos de diferente peso molecular se utilizan para estabilizar la dispersión de los lípidos. Los compuestos más utilizados incluyen diferentes tipos de poloxameros, polisorbatos y lecitina (Mehnert y Mäder, 2001). Las NLS se elaboran por medio de diferentes procesos que serán descritos a continuación.

#### **a) Homogeneización por cizalla**

La homogeneización por cizalla fue utilizada inicialmente para la producción de nanodispersiones lipídicas solidas, en muchos casos, las distribuciones son de tamaño bimodal, es decir, se obtienen poblaciones con rango nanométrico y micrométrico. Para producir NLS por cizalla se utiliza un homogeneizador de alta cizalla que por medio de la emulsificación de un lípido sólido a temperatura de fusión se llega al tamaño de partícula deseado. Las variables más importantes

durante este proceso es el tiempo de emulsificación, velocidad de agitación y las condiciones de refrigeración sobre el tamaño de partícula y el potencial zeta. En la mayoría de los casos, el tamaño de partícula va de 100 a 200 nm utilizando velocidades de entre 20,000 y 25,000 rpm con un tiempo aproximado de agitación de 8 a 10 minutos (Nastruzzi, 2005).

### **b) Homogeneización por alta presión**

La homogeneización por alta presión (HAP) ha surgido como una técnica fiable y potente para la preparación de NLS. HAP se ha utilizado durante años para la producción de nanoemulsiones de nutrición parenteral. A diferencia de otras técnicas, la oportunidad de llevarlo a gran escala no representa problemas en la mayoría de los casos. Los homogeneizadores de alta presión empujan un líquido con alta presión (10 a 200 MPa) por un estrecho pasadizo (en el rango de unas pocas micras). El fluido se acelera a una distancia muy corta de velocidad muy alta (más de 1000 km / h). Las altas fuerzas de cizalla perturban las partículas a la gama de submicrónicas. El contenido típico de lípidos varía entre 5 a 10% del líquido y no representa ningún problema para el homogeneizador. Incluso las concentraciones de lípidos hasta un 40% han sido homogeneizadas a nanodispersiones lipídicas. Dos enfoques generales de la etapa de homogeneización, por alta temperatura y la homogeneización en frío, pueden ser utilizados para la producción de NLS (Gupta, 2006) estos métodos son descritos a continuación:

#### **- Homogeneización por alta temperatura**

Una pre-emulsión de los lípidos cargados de activos se derriten y la fase acuosa emulsionante (misma temperatura) se obtiene mediante un dispositivo de mezcla a alta cizalla. La calidad de la pre-emulsión afecta, en gran medida, a la calidad del producto final. Las gotas que se obtienen están en el rango de unos pocos micrómetros. La HAP de la pre-emulsión se lleva a cabo a temperaturas por encima del punto de fusión de los lípidos. En general, debido a la disminución de

la viscosidad de la fase interna, se emplean temperaturas superiores con un tamaño de partícula menor. El paso de homogeneización se puede repetir varias veces (Mühlen, 1998). Siempre se debe tener en cuenta que la HAP aumenta la temperatura de la muestra (aproximadamente 10 ° C con 500 bar de presión). En la mayoría de los casos, 3 a 5 ciclos de homogeneización de 500 a 1500 bar son suficientes. El aumento de la presión de homogeneización o el número de ciclos a menudo resulta en un aumento del tamaño de partícula por coalescencia, que se produce como consecuencia de la alta energía cinética de las partículas. El producto principal de la homogeneización en caliente es una nanoemulsión resultante del estado líquido de los lípidos. Las partículas sólidas se forman, por el enfriamiento de la muestra a temperatura ambiente o por debajo. Debido al tamaño de partícula pequeño y a la presencia de los emulsionantes, la cristalización de lípidos puede retrasarse mucho, y la muestra puede permanecer como un material fundido subenfriado (nanoemulsión) durante varios meses (Souto y Müller, 2006).

#### - **Homogeneización en frío**

La homogeneización en frío se realiza con el lípido sólido y, por consiguiente, se considera como una molienda de alta presión de una suspensión de lípidos. El control de la temperatura y la regulación es necesario para asegurar el estado sólido de los lípidos, debido al aumento de la temperatura durante la homogeneización. El bioactivo que contiene la fusión se enfría muy rápidamente (por ejemplo, por medio de hielo seco o nitrógeno líquido). La alta velocidad de enfriamiento favorece una distribución homogénea del bioactivo dentro de la matriz lipídica. El lípido sólido, que contiene el bioactivo se muele por medio de la bola o fresado de mortero en el rango de 50 a 100 nm (Weiss, 2008). Las bajas temperaturas incrementan la fragilidad de los lípidos y, por tanto, la perturbación a favor de partículas. Las micropartículas de lípidos sólidos se dispersan en una solución emulsionante refrigerada. La pre-suspensión se somete a HAP, en o por debajo de la temperatura ambiente. El método de homogeneización en frío reduce

al mínimo la exposición térmica de la muestra, pero no la evita, debido a la fusión de los lípidos que se mezclan con los activos en el paso inicial (Mehnert, 2001).

### **1.5.1.3. Caracterización de las nanopartículas lipídicas sólidas**

Un punto de interés es la estabilidad coloidal de estos sistemas termodinámicamente inestables. Sin embargo, una caracterización detallada de estos sistemas es también muy importante cuando se considera que las propiedades de los materiales de los lípidos sólidos, en particular la fusión, cristalización y el comportamiento polimórfico, puede cambiar drásticamente cuando las sustancias se dispersan en partículas en la parte baja de un rango de tamaño nanométrico. La caracterización de las formulaciones de nanopartículas lipídicas a menudo no es una tarea fácil debido al tamaño pequeño y baja concentración de las partículas dispersas (Gupta et al, 2006).

#### **a) Tamaño de partícula**

El tamaño de las partículas es uno de los parámetros más importantes para la caracterización de las nanopartículas en dispersiones sólidas de lípidos, y los parámetros relativos al tamaño de partícula, en consecuencia, se informan en todos los estudios sobre estos sistemas. En primer lugar, la distribución del tamaño de partícula se define no sólo por el tamaño de la media, sino por la forma en que se define el medio. La media, la mediana y la moda son los descriptores igualmente válidos. Además, la propia población puede definirse por el número o volumen de las partículas presentes, y estos son sólo dos de los diversos sistemas de ponderación que pueden ser empleados. La propia forma de la partícula es también importante, una forma esférica presenta una dispersión de la luz diferente de una que es rectangular. Las determinaciones de tamaño de las partículas son en su mayoría para confirmar el rango deseado del tamaño coloidal que se ha obtenido durante la preparación y que se mantiene durante el almacenamiento o la transformación posterior (Nastruzzi, 2005). El tamaño de partículas, sin embargo, también ha sido empleado para otros fines: por ejemplo, para evaluar la

dependencia del tamaño de la nanopartícula en las propiedades de la matriz o para obtener información adicional sobre la forma de las partículas. Los resultados para el promedio y la forma de distribuciones de tamaño pueden depender de cómo se obtuvo el resultado. Los métodos para la medición del tamaño suelen clasificarse según la forma en que se extrae la información de la muestra, el más importante de estos métodos es la espectroscopia de correlación fotónica (Mehnert et al., 2001). La Espectroscopia de correlación fotónica (ECF) (también conocido como dispersión de luz dinámica) mide la fluctuación de la intensidad de la luz dispersada que es causada por el movimiento de partículas. Este método cubre un intervalo de tamaños desde unos pocos nanómetros a cerca de 3 micras. Esto significa que la ECF es una buena herramienta para caracterizar las nanopartículas, pero no es capaz de detectar micropartículas (Jores et al., 2004). Este método requiere sólo cantidades muy pequeñas de muestra y es rápido, fácil de realizar, y su ámbito de operación (nominalmente entre unos pocos nanómetros y unos pocos micrómetros) se refiere a la categoría correspondiente en caso de suspensión de nanopartículas lipídicas. La ECF analiza el movimiento browniano de las partículas en el medio de dispersión. Las partículas en movimiento al azar se irradian con un rayo láser, y la intensidad de la luz dispersada por un pequeño volumen de la muestra en un ángulo usualmente fijo, o variable se registra en la dependencia al tiempo. Esta variación de la interferencia de la luz dispersada por las partículas individuales bajo la influencia del movimiento browniano, se cuantifica mediante la compilación de una función de autocorrelación. El llamado potencial  $z$  del diámetro ( $z$ -ave, a veces también se conoce como el diámetro efectivo) y el índice de polidispersidad (PI), como una indicación de la anchura de la distribución de tamaños de partículas, se pueden derivar directamente de la función de autocorrelación de una manera relativamente sencilla. Los tamaños de partículas para la ECF de nanopartículas lipídicas sólidas generalmente se reportan con estos parámetros (Gupta., 2006).

## 1.6. El color aplicado en alimentos

En la industria de alimentos en particular, el color juega un importante papel en el proceso de aseguramiento de la calidad. En ocasiones se recurre a la adición de un colorante para aumentar o conferir un aspecto más apetitoso, para semejar el producto al vegetal en su estado natural o para darle la apariencia reconocida por el consumidor a través de la experiencia. Esta práctica ha sido fuertemente criticada cuando se emplean colorantes artificiales cuya acción en el organismo no ha sido bien establecida o son definitivamente dañinos. El color es el resultado de la evaluación de la energía radiante (magnitud física) en términos de una correlación visual (psicológica) y está basada en las propiedades del ojo humano (fisiológicas). Un color puede ser descrito subjetivamente por la experiencia del observador u objetivamente, de acuerdo a su longitud de onda (Manresa et al., 2007).

La Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, Comisión Internacional de l'Éclairage) ha definido los iluminantes CIE A (Lámpara de filamento incandescente), B (Luz del medio día), C (Luz diurna promedio) y más recientemente los de las series D (Luz natural de día) y F (Lámpara fluorescente blanca). Estos iluminantes responden a la necesidad de simular instrumentalmente y de manera normalizada, las condiciones naturales bajo las cuales se observa el color. Cuando se hace una medición de color es necesario tener en cuenta el tipo de iluminante que está influenciando la medición.

Los iluminantes de la serie D son los más representativos de la distribución espectral de la luz blanca y son los más utilizados en la actualidad, aunque por lo extendido de su uso a lo largo de 30 años, el iluminante C continúa siendo un estándar de comparación.

Cuando un rayo de luz blanca incide sobre un objeto ocurren varios fenómenos simultáneamente:

- Existe una reflexión en la superficie

- Ocurre una refracción dentro del objeto
- Parte de la luz se trasmite a través del objeto
- Parte de la luz se difunde
- Y otra parte se absorbe

De esta manera, la luz puede reflejarse, absorberse o transmitirse y la importancia relativa de cada uno de estos fenómenos determina la apariencia del objeto.

En los alimentos el factor más importante que influye en la reflexión de la luz es la difusión debido a las características físicas de la superficie. De forma general puede afirmarse que la reflexión especular ocurre en un ángulo de  $90^\circ$  con respecto a la luz incidente y es la responsable principal del brillo del material; mientras la reflexión difusa ocurre a un ángulo de  $45^\circ$  y es la principal responsable del color. Estas particularidades son necesarias al momento de efectuar mediciones con iluminantes específicos pues, del ángulo de incidencia de la luz en la muestra y la posición de ésta con respecto al sensor (ya sea objetivo o subjetivo), dependerá el atributo medido (Manresa et al., 2007). Existen factores que afectan la percepción del color como son:

1. Relaciones espaciales: La posición relativa del objeto en el espacio afectará la percepción del color no sólo por su dependencia con el ángulo de iluminación y de visión. El fondo sobre el cual se encuentra el objeto, impresionará simultáneamente a la retina, y por supuesto a los conos específicos, según la longitud de onda.
2. Relaciones temporales: Existe una estrecha relación entre el tiempo y la estabilidad del color. Una mayor estabilidad y constancia del color se traduce en menores cambios con el transcurso del tiempo y viceversa.
3. Forma del objeto: Los objetos de superficie lisa se ven más claros y brillantes, ya que hay un dominio de la reflexión especular. Los objetos de superficie rugosa se aprecian con menos brillo y en ellos se percibe mejor el color.

4. Tamaño del objeto: Los objetos de mayor tamaño se ven más saturados. Un mismo objeto al reducir su tamaño aumenta la superficie disponible para la reflexión especular y por tanto se verá más claro.

### **1.6.1. Medición del color**

Hunter en 1860, en sus estudios al respecto, encontró seis procedimientos diferentes para identificar el color de un producto. A saber:

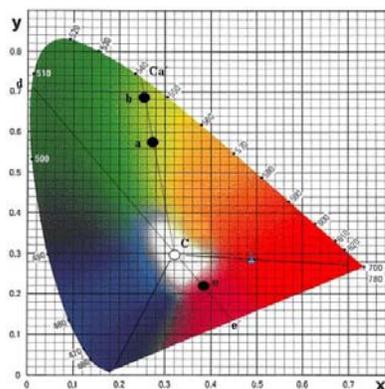
1. Mediante curvas espectrofotométricas.
2. Por mezclas aditivas de los colores rojo, verde y azul.
3. Por localización en un sólido de color tridimensional.
4. Empleando un método sustractivo de tres tintes primarios.
5. Mediante localización en un ordenamiento visual sistemático de placas coloreadas (diccionario Munsell).
6. Por localización respecto a un ordenamiento de placas obtenidas por mezclas sustractivas sistemáticas de blanco, negro y pigmentos coloreados de cada tinte por separado.

En los estudios llevados a cabo por Grassman en 1853 se llegó a la conclusión de que la función cromática del color puede ser representada en un gráfico bidimensional, empleando tres coordenadas linealmente dependientes las cuales representan tres colores primarios. Se escogió un triángulo equilátero donde cada vértice representa el 100% de los colores rojo (R), verde (G) y azul (B). Estos coeficientes especifican la cromaticidad del color. Posteriormente, Maxwell trabajó en este sentido e hizo una transformación de las coordenadas para expresarlas en un triángulo rectángulo y de esta forma se hicieron más fáciles los cálculos matemáticos. Pero, no todos los colores pueden obtenerse por la adición de los tres primarios, aún siendo colores espectrales. En algunos casos, adicionando un primario a la muestra, esta se puede equiparar con los dos restantes. En esta prueba lo que se hace realmente es restar la luz añadida a los otros dos primarios y puede considerarse una medición sustractiva, resultando una operación con

valores negativos. Sin embargo, la aparición de valores negativos al momento de equiparar colores dificulta los cálculos matemáticos y la interpretación de la sensación percibida de color, en términos negativos, es prácticamente imposible. Por esta razón, se desarrolló un sistema para obtener luces primarias irreales o imaginarias a partir de los primarios reales cuyas adiciones podrían representar todos los colores espectrales, reduciendo posteriormente el triángulo obtuso obtenido, a uno rectángulo (Manresa et al., 2007).

En la mayor parte de los casos pueden hacerse transformaciones de coordenadas para expresar los resultados en el sistema CIE XYZ y establecer así una base común de comparación. Este sistema adoptado en 1931, denomina a los primarios irreales como X, Y & Z los cuales no existen como luces que puedan proyectarse en una pantalla; pero pueden calcularse y se les denomina “Valores Triestímulos”.

Si a partir de los colores espectrales se determinan los valores X, Y & Z que los describen y a partir de ellos se calculan las coordenadas cromáticas x, y, z y se representan en un gráfico, se obtendrá un plano semejante a una herradura el cual se denomina “locus espectral”. De esta forma, la Figura 1 muestra el locus espectral descrito por el sistema CIE y comprende todas las cromaticidades reales. Incluye los valores del espectro visible y los no espectrales (tonos púrpura y magenta). Este antecedente antes descrito contribuyó a la introducción de la escala más usada para la medición del color, la escala L, a & b.



**Figura 1. Diagrama de cromaticidad CIE Yxy y la división de las cromaticidades reales en espectrales y no espectrales (Manresa et al., 2007).**

### **1.6.1.1. Sólidos de color**

La luminosidad o brillantez juega un papel fundamental en la percepción y diferenciación de los colores, por tanto la localización exacta de un punto coloreado dependerá de tres variables y será representada como un sólido de color o espacio tridimensional. La luminosidad (L) se distribuye a través del eje vertical e indica cuanto blanco posee el color, por ello los valores extremos irán del blanco absoluto a la ausencia de luz (negro).

En 1900 Munsell, como profesor de arte intentó mostrar a sus alumnos las diferencias de matiz, luminosidad y cromaticidad, dejando acuñados estos términos en la ciencia del color como las tres cualidades primarias:

- Matiz: tono, tinte, color, "HUE": Caracterizado por la longitud de onda de la radiación. Es lo que hace diferente un color de otro. Ej. rojo, verde, etc.
- Luminosidad: Brillantez, brillo, "VALUE": Dado por el contenido total de energía. Da lugar a los colores claros y oscuros.
- Cromaticidad: Saturación, intensidad, pureza, "CHROMA": Define la intensidad o pureza espectral del color que va de los tonos grises, pálidos, apagados a los más fuertes y vivos.

En el eje central de este sólido habrá una variación del valor desde la luminosidad más alta (blanco) hasta la oscuridad; cada segmento será de un tinte diferente, esto es: verde, amarillo, rojo, etc. y la distancia del eje a la periferia será la cromaticidad o intensidad del color. Así cada punto representa un color único.

### **1.6.1.2. Sistemas para denotar color**

La escala UCS de Judd se convirtió en el sistema alfa- beta (a-b) de Hunter el cual coloca el iluminante en el centro del diagrama de cromaticidad. Este sistema de coordenadas fue diseñado especialmente para medir superficies de color y se usa en el reflectómetro multipropósito de Hunter. Actualmente se representa por la

escala Rd, o L, a, b. El sistema alfa – beta de Hunter se transformó en un sólido de color con escalas uniformes en las superficies de color, a las ordenadas les llamó: L, a, b y fue en ella que la National Bureau of Standards, (Buró Nacional de Normas) definió la unidad de diferencia de color. En 1943 Scofield simplificó la ecuación introduciendo el sistema L, a, b. Este sistema, y el espacio de color CIELab asociado se aplican actualmente en los medidores Hunter. En el sistema CIE LAB se define un espacio de coordenadas rectangulares ( $L^*a^*b^*$ ) y otro en coordenadas cilíndricas ( $L^*, C^*, H_o$ ) también conocidos como parámetros de color sicométrico (Manresa et al., 2007).

Para la evaluación de un color diseñaron un círculo cromático con los colores alrededor de la circunferencia (similar al anillo de Munsell). Sobre él descansan dos ejes perpendicularmente entre sí ( $a^*, b^*$ ) graduados de 0-60 (en el gráfico) aunque en la realidad pueden alcanzar cualquier valor mayor que cero en dependencia de la saturación y el tono de que se trate. Perpendicular al plano  $a^*, b^*$  y en su centro, se encuentra un eje  $L^*$  que representa la luminosidad desde el negro ( $L^* = 0$ , abajo) al blanco ( $L^* = 100$ , arriba). El sistema CIE  $L^*a^*b^*$  describe el color en términos de dos coordenadas cromáticas ( $a^*$  y  $b^*$ ) y una de luminosidad ( $L^*$ ) lo que permite inferir el color de una muestra a partir de esos atributos y poder determinar la diferencia de color total entre pares de muestras.

### **1.6.1.3. Diferencia de color (DC)**

Resulta de extrema importancia denotar el color en forma de código o número, lo cual además de ser más preciso al eliminar gran parte de las influencias de la percepción humana, permite las comparaciones y el procesamiento estadístico.

En la actualidad el sistema de color  $L^*a^*b^*$  se usa con mucha frecuencia en el control de la calidad del color. Sin embargo, el grado de diferencia del color ( $DC^*$ ) en este sistema, no siempre responde al grado de diferencia de color percibida por los humanos. Las mayores diferencias se detectan en el tono y la saturación. El ojo humano detecta primero las diferencias de tono, luego las de saturación y por

último las de claridad. Por tanto, el hombre acepta por lo general cambios más grandes en L que en C (matiz y saturación).

Además de ello, se han desarrollado, algunos indicadores con objetivos específicos como son:

- Índice de blancura: De amplio uso en la industria textil, del papel y alimentaria y se ha extendido a la de medicamentos, plásticos y cerámica. Una superficie blanca ideal debe tener un índice de blancura (IW) igual a 100. Cuando la diferencia entre el blanco ideal y el de la superficie que se evalúa se incrementa entonces IW disminuye.
- Índice de amarillamiento: Es una indicación del grado en que la superficie de la muestra es diferente del blanco ideal en el sentido del amarillo. Cuando la diferencia desde el blanco ideal se incrementa, el índice de amarillamiento (YI) (en valor absoluto) se incrementa. Un YI (+) indica diferencia hacia el amarillo mientras que un YI (-) indica diferencia hacia el azul.

### **1.6.2. Color en recubrimientos comestibles**

La elección de las sustancias que se usan para elaborar un recubrimiento comestible y las condiciones de preparación determinan la funcionalidad de este sobre el alimento, por ejemplo, la permanencia del color en las frutas y hortalizas (Weiss et al., 2006). La aplicación de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas aporta en la superficie una apariencia brillante y un mejor color. La medición del color sobre la superficie de las frutas y hortalizas se utiliza para evaluar el periodo de maduración. Todos los recubrimientos comestibles muestran un retraso en la maduración de las frutas y hortalizas, esto debido a, la disminución de la respiración que se debe a la atmosfera modificada que se forma en el interior de la fruta recubierta, lo que provoca una reducción en la degradación de la clorofila y por lo tanto un retraso en la pérdida del color en el fruto (Dang et al., 2008). Uno de los atributos cualitativos más importantes a medir

en recubrimientos comestibles aplicados en frutas y hortalizas es el color, ya que con la reducción de la degradación del color en el alimento, este adquiere una mejor apariencia y su comercialización se ve beneficiada, así mismo, la vida útil del producto aumenta y el manejo eficiente y la facilidad de transporte se ve favorecida, es por eso que la funcionalidad de los compuestos utilizados en los recubrimientos es de real importancia (Jianshen et al., 2008). Sin embargo una de las problemáticas que se han presentado en la aplicación de recubrimientos comestibles ha sido la aparición de cierta blancura sobre algunas partes de la superficie del fruto, esta blancura no ha sido estudiada con profundidad ya que hay muy pocas teorías acerca de su aparición.

### **1.6.3. Efecto de nanopartículas sobre el color de recubrimientos**

La nanotecnología proporciona a los científicos de alimentos un diverso número de maneras para crear nuevos nanorecubrimientos adecuados para su uso en la industria alimentaria. Un nanorecubrimiento consta de una capa de material con dimensiones en nanómetros que son física o químicamente unidas entre sí. Alternativamente, los nanorecubrimientos podrían servir como portadores de agentes funcionales y para mejorar las propiedades de textura, es decir, la utilización de nanopartículas puede ayudar a mejorar las propiedades funcionales de los recubrimientos comestibles y como resultado de ello, la permanencia del color en el alimento durante el periodo de almacenamiento puede ser mayor. Sin embargo, aunque el color se pueda mantener en el alimento, el uso de cualquier película o recubrimiento comestible en frutas y hortalizas después del almacenamiento causa cierto “rubor”, el cual consiste en la condensación de vapor de agua en la superficie del alimento. La blancura que se presenta en la superficie ha sido un problema que se ha buscado disminuir, ya que este afecta la apariencia del producto. El índice de blancura busca la cuantificación de este rubor sobre la superficie del producto y la utilización de nanopartículas investiga una reducción de este índice de blancura para mejorar la apariencia del producto (Weiss et al., 2006).

## **2. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL**

### **2.1. Definición de Objetivos**

#### **Objetivo General**

Determinar el tipo de cera y/o la concentración de nanopartículas lipídicas sólidas que disminuyan el índice de blancura en recubrimientos con base en goma xantana mediante la determinación de los cambios en luminosidad determinada por colorimetría cuando el fruto es expuesto a un ambiente húmedo para incrementar la vida útil.

#### **Objetivos Particulares**

1. Establecer las condiciones de obtención y propiedades de nanopartículas lipídicas sólidas que permitan tener un recubrimiento de menor índice de blancura evaluando su efecto en relación a un ambiente húmedo.
2. Evaluar la influencia del tamaño de partícula sobre la blancura y brillantez de recubrimientos aplicados en limón sin semilla con diferente tipo de cera y concentración de nanopartículas lipídicas sólidas, estableciendo las condiciones óptimas que permitan obtener la mayor transparencia en los recubrimientos así como la medición de las propiedades fisicoquímicas.

### **2.2. Identificación de Variables**

Para evaluar el efecto del índice de blancura sobre los limones se estudio el efecto del tamaño de partícula, el tipo de cera, la temperatura de conservación y la respiración, como se muestra en el Cuadro 1.

**Cuadro 1. Identificación y definición de variables.**

Factor de variación	Niveles de variación	Repeticiones	Variable dependiente	Variable de respuesta	Técnica/ Medición
Tamaño de partícula y concentración de NLS	T <sub>partícula 1</sub> : 200-300 nm T <sub>partícula 2</sub> : 600-700 nm T <sub>partícula 3</sub> : 900 nm-1 µm NLS: 30, 40, 50, 55 y 65%	3	Parámetros Colorimétricos L, a & b	Índice de Blancura	Homogeneización en caliente
Tipo de cera	Cera de candelilla  Cera de abeja	3		Pérdida de peso	Diferencia de peso
Goma xantana	0.2, 0.3 y 04%	3		Firmeza y Tensión	Prueba de penetración
Propilenglicol	0.5, 0.75 y 1%	3		Jugosidad	Volumen
					Colorimetría

## **2.3. Desarrollo Experimental**

### **2.3.1. Materiales**

Se utilizó Poly- $\epsilon$ -caprolactona, cera de abeja (P.f. = 65°C), cera de candelilla (P.f. = 85°C) Multiceras<sup>®</sup> S.A de C. V., Surfactante no iónico (Pluronic F-127<sup>®</sup> Sigma-Aldrich), agua ultra pura Milli Q<sup>®</sup>, goma xantana grado alimenticio (Droguerías Cosmopolita<sup>®</sup>).

### **2.3.2. Materia prima**

Se utilizaron limones sin semilla comprados en un mercado local del municipio de Cuautitlán Izcalli. El fruto fue seleccionado tomando en cuenta un diámetro de 5 cm y con un color verde uniforme.

### **2.3.3. Preparación de nanopartículas lipídicas solidas (NLS)**

Se prepararon por el método de homogeneización en caliente propuesto por Camacho (2010) llevando la cera 5°C por encima del punto de fusión durante 5 minutos. La emulsión se preparo utilizando un dispersor de alta velocidad Ultra-Turrax<sup>®</sup> T-50 Basic (IKA Labortechnik) con un modelo de propela S25 N-25.

### **2.3.4. Tamaño de partícula**

El tamaño de partícula y el índice de polidispersión fueron determinados usando un espectrofotómetro de correlación fotónica de marca Coulter Nano-Sizer<sup>®</sup> N4 Plus. Las mediciones se hicieron por triplicado. Se diluyen las NLS con agua ultra pura Milli-Q<sup>®</sup> de acuerdo al volumen de la celda. Determinándose con la técnica de difracción de un haz de luz laser en un ángulo de 90°, a una temperatura de 25°C (Fayaz et al., 2009).

### **2.3.5. Potencial Z**

Para comprobar la estabilidad de las NLS durante el periodo de almacenamiento se determinó el potencial zeta. La medición del potencial zeta permite predicciones sobre la estabilidad de almacenamiento de la dispersión coloidal. El potencial zeta de las NLS fue determinado utilizando el Z-Sizer 4 (Zetasizer Nano Series, Malvern Ltd, France), disolviendo apropiadamente la dispersión con agua Milli-Q®. Las medidas se hicieron por triplicado a 25°C (Attama et al., 2007).

### **2.3.6. Preparación del recubrimiento**

Inicialmente se utilizó una concentración al 0.4% de goma xantana y 0.5% de propilenglicol los cuales se dispersaron y después se mezclaron con las nanopartículas lipídicas solidas utilizando un mezclador Eurostar Power Control-Visc (IKA WERKE®) a 200 rpm, obteniendo concentraciones de 30 g/ 100 mL, 40 g/ 100 mL y 50 g/100 mL basadas en una dispersión de NLS que contenía 10 g/ 100 mL de cera de abeja (Chen y Nussinovitch, 2000).

### **2.3.7. Aplicación del recubrimiento**

El recubrimiento preparado de acuerdo a las condiciones establecidas en el diseño experimental se aplicó por inmersión durante 30 s y posteriormente el recubrimiento se secó durante 1min utilizando para ello una secadora manual (Vidal Sassoon® modelo VS773MXN1) con aire a temperatura de 35°C y velocidad de 4 m/s (Paredes-López et al., 1974). Llevado a cabo el recubrimiento los limones fueron sometidos a la evaluación de las propiedades correspondientes, que serán descritos en los diferentes diseños experimentales propuestos.

### 2.3.8. Actividad Preliminar

Con la finalidad de descartar el efecto de la blancura dado por la cera de candelilla se llevó a cabo la comparación entre la cera de abeja y la cera de candelilla por medio de colorimetría, de acuerdo con lo mostrado en el Cuadro 2. Una vez descartada la cera con mayor efecto significativo, se busco las variables que mas afecten el índice de blancura por medio de un ANOVA.

**Cuadro 2. Composición de los recubrimientos.**

Lote	g/ 100 mL de NLS	Cera
1	60	Candelilla
2	50	Candelilla
3	40	Candelilla
4	60	Abeja
5	50	Abeja
6	40	Abeja

Establecida la cera con menor blancura se estudiará la efectividad del recubrimiento midiendo los siguientes parámetros durante 4 semanas de almacenamiento de limón sin semilla recubierto con diferentes proporciones de NLS.

### 2.3.9. Pérdida de peso

La diferencia de peso de los limones durante el periodo de almacenamiento se llevó a cabo utilizando una balanza OHAUS ( $\pm 0.1g$ ) con capacidad 600 g. Los limones fueron pesados antes y después del periodo de almacenamiento (Navarro-Tarazaga et al, 2008).

### 2.3.10. Medición del índice de blancura (IW)

La evaluación del índice de blancura en el limón sin semilla se llevó a cabo por inmersión en agua durante 30 segundos, después se usó la colorimetría utilizando un colorímetro Minolta® modelo CR-300. Las lecturas fueron obtenidas en escala L\*, a\*, b\* (CIELAB) tras la calibración del aparato, en una placa blanca Minolta de valores L\* = 98.11, a\* = 0.22 y b\* = 1.94. Para calcular el IW se utilizó la ecuación:

$$IW = 100 - \sqrt{\left[ \left( \frac{100}{L^*} \right)^2 + \left( \frac{100b^*}{a^*} \right)^2 \right]} \dots \dots \dots \text{(Hunter, 1960)}$$

Todas las mediciones se llevaron a cabo por dos lados del limón y tres muestras por recubrimiento, de acuerdo al diseño experimental correspondiente.

### 2.3.11. Firmeza y Tensión

La firmeza del limón almacenado durante 4 semanas a 10°C se determinó realizando una prueba de punción utilizando para ello un equipo INSTRON 4411 con celda de carga de 5 kN y sonda de punción en punta estrella de 0.9 mm de diámetro a una velocidad de 150 mm/min y llevando a cabo la punción hasta 50 % de diámetro del limón (García, 2011). La tensión se determinó de acuerdo a la metodología propuesta por Castillo (2010) siendo una adaptación del método de tensión propuesto por la ASTM D638 (*Standard test method for tensile properties of plastic*).



Figura 2. Prueba de tensión en un recubrimiento con NLS.

### 2.3.12. Jugosidad

Uno de los parámetros importantes en la evaluación de la calidad de limón almacenado es la variación en la jugosidad la cual es asociada a la pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento. Esta determinación se llevó a cabo extrayendo el jugo del limón previamente pesado, por compresión manual en un exprimidor de aluminio marca ILKO modelo 47, México. El jugo recién exprimido fue depositado en una probeta de 100ml y se midió el volumen, para obtener una relación peso/volumen (Dang et al., 2008).

#### 2.3.1. Diseños Experimentales

Para estudiar el efecto de la cera con menores valores colorimétricos en la actividad preliminar, se realizó un diseño experimental fraccionado, mostrado en el cuadro 3. Siendo importante mencionar que el tamaño de partícula que será reportado corresponderá al diámetro medio de partícula  $d_{4,3}$ , expresado en fracción volumen y que es acorde a las definiciones propuestas de nanopartículas (Moras-Huerta, 2010).

**Cuadro 3. Diseño factorial fraccionado.**

Lote / Tamaño de partícula (nm)	Concentración de NLS (%)	Concentración Goma Xantana (%)
300	30	0.4
900	30	0.2
300	50	0.2
900	50	0.4
600	40	0.3
600	40	0.3
600	40	0.3
300	30	0.4
900	30	0.2
300	50	0.2

Lote / Tamaño de partícula (nm)	Concentración de NLS (%)	Concentración Goma Xantana (%)
900	50	0.4
600	40	0.3
600	40	0.3
600	40	0.3
300	30	0.4
900	30	0.2
300	50	0.2
900	50	0.4
600	40	0.3
600	40	0.3
600	40	0.3

El segundo diseño experimental propuesto es un diseño de superficie de respuesta, el cual evalúa el efecto de las variables independientes, tamaño de partícula, concentración de NLS y de propilenglicol, con la finalidad de establecer cuál de estas tiene mayor influencia sobre el índice de blancura. El experimento fue diseñado de acuerdo con el diseño central compuesto, utilizando un diseño factorial  $2^3$  con tres puntos centrales. Es importante señalar que la experimentación se llevó a cabo con tres repeticiones y un orden aleatorio.

**Cuadro 4. Diseño de superficie de respuesta.**

Lote / Tamaño de partícula (nm)	Concentración de NLS (%)	Concentración de propilenglicol (%)
500	50	0.75
1000	50	0.75
500	60	0.75
1000	60	0.75
500	55	0.5
1000	55	0.5
500	55	1
1000	55	1
750	50	0.5

Lote / Tamaño de partícula (nm)	Concentración de NLS (%)	Concentración de propilenglicol (%)
750	60	0.5
750	50	1
750	60	1
750	55	0.75
500	50	0.75
1000	50	0.75
500	60	0.75
1000	60	0.75
500	55	0.5
1000	55	0.5
500	55	1
1000	55	1
750	50	0.5
750	60	0.5
750	50	1
750	60	1
750	55	0.75
500	50	0.75
1000	50	0.75
500	60	0.75
1000	60	0.75
500	55	0.5
1000	55	0.5
500	55	1
1000	55	1
750	50	0.5
750	60	0.5
750	50	1
750	60	1
750	55	0.75

Aunque el diseño de superficie de respuesta muestra los tamaños de partícula de trabajo, esto no es posible de lograr, ya en sistemas coloidales el tamaño de partícula corresponde a la media de una población con distribución normal, que en

este caso fue monomodal, es decir representando por el promedio de una sola población y que corresponde de 300 a 750 nm. En el cuadro 5 se muestran las formulaciones de recubrimientos en función a la talla de partícula promedio utilizados para la experimentación.

**Cuadro 5. Formulación de los recubrimientos.**

Tamaño de partícula (Tp)	Composición
568 nm	55% NLS, 1% PG
	55% NLS, 0.5% PG
	60% NLS, 0.75% PG
	50% NLS, 0.75% PG
795 nm	55% NLS, 0.75% PG
	60% NLS, 1% PG
	50% NLS, 1% PG
	60% NLS, 0.5% PG
	50% NLS, 0.5% PG
	50% NLS, 1% PG
915 nm	55% NLS, 1%PG
	55% NLS, 0.5% PG
	60% NLS, 0.75% PG
	50% NLS, 0.75%PG

### 2.3.2. Tratamiento estadístico de datos

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el software estadístico MINITAB 15 Inc.<sup>®</sup>, obteniéndose los ANOVAS, pruebas de bondad de ajuste, pruebas de t-student para coeficientes en el caso de diseños factoriales y de superficie de respuesta, así como los gráficos de comparación de tratamientos en función a los factores analizados en el trabajo. Cabe mencionar que todos los análisis se llevaron a cabo considerando un comportamiento normal de los tratamientos con un nivel de significancia del 0.05.

### **3. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

#### **3.1. Resultados de la actividad preliminar**

##### **a) Caracterización de NLS con cera de abeja y candelilla**

El tamaño de partícula medido para la dispersión de cera de candelilla fue de 547 nm con un índice de polidispersión de 0.69, mientras que para la dispersión de cera de abeja el tamaño obtenido fue de 561 nm con un índice de 0.49. El índice de polidispersión indica la desviación de una función de autocorrelación medida de una dispersión de esferas monodispersas con el mismo diámetro (Jores et al., 2004) y los resultados obtenidos para esta primera etapa indican que existió una buena estabilidad coloidal de estas dispersiones y que estuvieron dentro del rango submicrónico. Además, estos resultados presentados indican que efectivamente existió una forma esférica de las partículas y que hubo muy pocas partículas en el rango micrométrico.

##### **b) Comparación entre la cera de abeja y candelilla.**

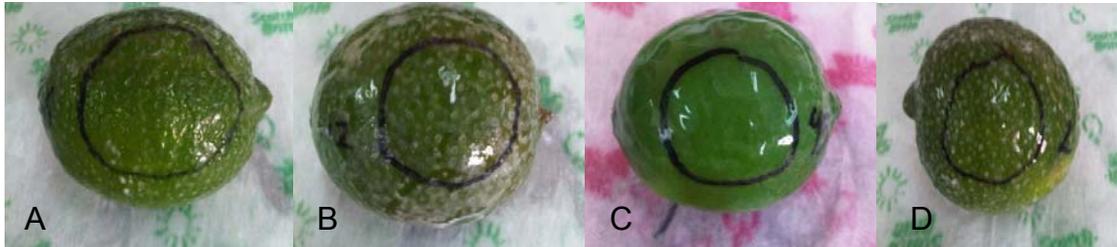
En el Cuadro 6, se muestran los resultados correspondientes a las pruebas colorimétricas en el limón sin semilla en función a la luminosidad, valores de  $a^*$  y  $b^*$ , observándose que la cera de candelilla tiene un valor mayor de luminosidad asociado a una tendencia más blanca en relación a los valores de la placa utilizada para llevar a cabo la calibración del equipo, por otro lado las muestras con cera de abeja mostraron una luminosidad 38 % menor que las de cera de candelilla, lo que se relaciona con el menor índice de blancura mostrado por los limones recubiertos con NLS preparadas con ésta cera y que se muestran en la Figura 3. Se observa que los limones con cera de candelilla mostraron una ligera capa blanca sin necesidad de haberlos humedecido (Figura 3A), en cambio los limones recubiertos con cera de abeja no mostraron esa blancura (Figura 3C); sin

embargo, los dos tipos de recubrimiento al humedecerlos presentaron una capa blanca visible con facilidad sugiriendo un exceso de recubrimiento (Figura 3B y D).

**Cuadro 6. Valores colorimétricos para limones recubiertos con dos tipos de cera.**

Limón recubierto con NLS de 593 nm	L*	a*	b*
Cera Candelilla	68.56 <sup>a</sup>	-15.41	44.96
Cera Candelilla	64.54 <sup>a</sup>	-11.03	49.19
Cera Candelilla	68.95 <sup>a</sup>	-8.39	41.23
Cera abeja	37.42 <sup>b</sup>	-12.79	17.70
Cera de abeja	40.51 <sup>b</sup>	-13.75	19.67
Cera de abeja	47.89 <sup>c</sup>	-17.25	30.47

Letras iguales en una misma columna indican que no existió diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos de acuerdo con una prueba de Tuckey ( $\alpha = 0.05$ ).



**Figura 3. Limones recubiertos con diferente cera: A, cera de candelilla sin humedecer, B, cera de candelilla después de humedecer, C, cera de abeja sin humedecer, D, cera de abeja después de humedecer.**

Cabe resaltar que como parámetro importante para esta primera actividad se tomo en cuenta la luminosidad (L), ya que este valor representa la claridad del color en la fruta y entre más cercano se encuentre al 100 significa que hay una mayor pureza de color o mayor blancura según sea el caso. De acuerdo con Bosquez-Molina et al., (2003) y Navarro-Tarazaga et al., (2008), la brillantez de un recubrimiento en la superficie del fruto depende de la luminosidad del mismo y es independiente del tipo de cera empleada; sin embargo en un sistema

nanopartículado la dispersión de la luz es un cambio asociado a la disminución de la talla de partícula y que, por ende, depende de la composición de la cera utilizada (Camacho, 2010) razón por la que el empleo de NLS en recubrimientos es una nueva alternativa para la conservación de frutas ya que se espera tengan una mejor funcionalidad al distribuirse homogéneamente en la superficie del fruto. De acuerdo con estos resultados se decidió que trabajar con la cera de candelilla no sería viable ya que modifica la apariencia del limón, por lo que la cera para la experimentación posterior será la cera de abeja.

**c) Efecto de la formulación de NLS sobre la blancura del recubrimiento**

En el Cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos para el índice de blancura de acuerdo al diseño mostrado en el Cuadro 3. Los resultados fueron analizados considerando un nivel de significancia de 0.05, mostrando que aparentemente a mayor talla de partícula, menor concentración de goma xantana y menor concentración de NLS hay un menor índice de blancura.

**Cuadro 7. Medias de cuadrado mínimo para IW.**

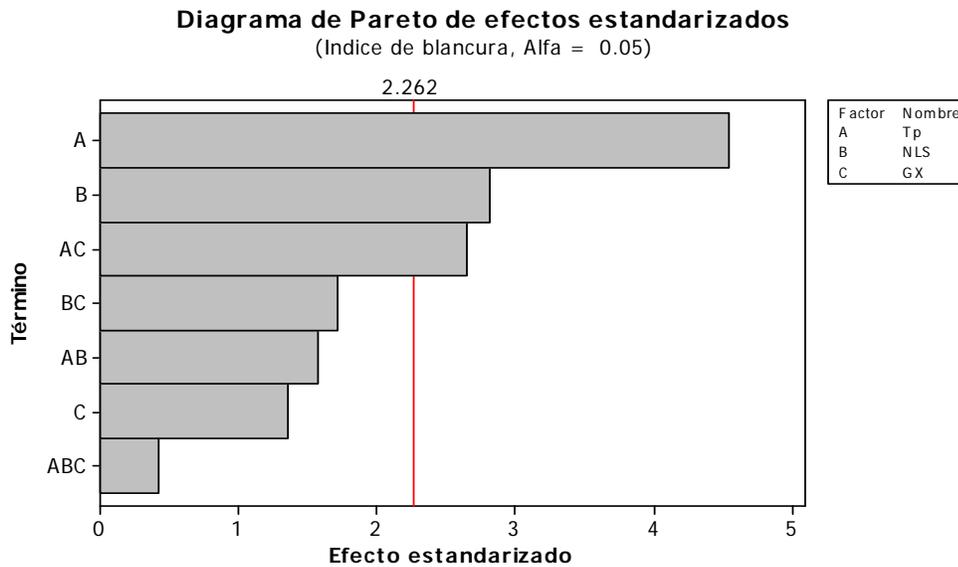
<b>Factor de Variación</b>	<b>IW</b>
<b>Tamaño de Partícula (Tp)</b>	
300	39.65 <sup>a</sup>
900	18.363 <sup>c</sup>
<b>Goma Xantana (Gx)</b>	
0.2	25.827 <sup>b</sup>
0.4	32.187 <sup>a</sup>
<b>Tp * Gx</b>	
900 y 0.2	8.988 <sup>d</sup>
<b>Factor de Variación</b>	<b>IW</b>
<b>Tp*NLS</b>	
900 y 30	15.433 <sup>c</sup>

Factor de Variación	IW
<b>Tp* Gx* NLS</b>	
900, 50 y 0.2	6.907 <sup>d</sup>

Tp= tamaño de partícula; Gx= goma xantana; NLS= nanopartículas lipídicas solidas.  
 Letras iguales indican que no existió diferencia entre la media de los tratamientos.

Como se observa en el Cuadro 7 las variables que representan un efecto significativo sobre el índice de blancura es el tamaño de partícula, la interacción del tamaño de partícula con la concentración de goma xantana y la interacción del tamaño de partícula con la goma xantana y la concentración de NLS.

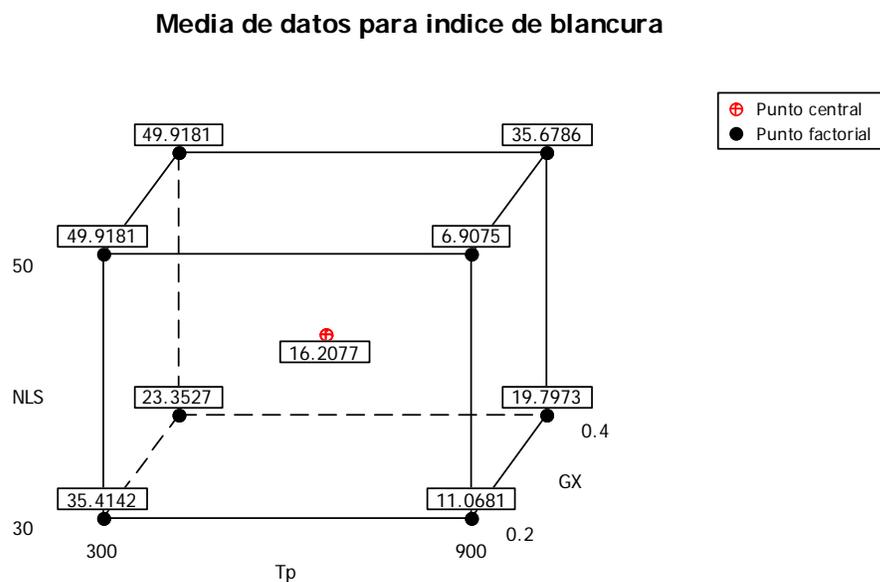
En la Figura 4, se muestra el diagrama de Pareto que pondera la influencia de las variables analizadas sobre el índice de blancura mostrando que la variable de mayor influencia es el tamaño de partícula ( $p = 0.000$ ), seguida de la concentración de NLS ( $p = 0.001$ ) y finalmente de la interacción existente entre el tamaño de partícula y concentración de goma xantana ( $p = 0.027$ ), lo que se asocia a la incorporación de las NLS en la matriz del polisacárido.



**Figura 4. Diagrama de Pareto.**

En la Figura 5 se muestra un grafico de cubos, donde se resalta la interacción existente entre el tamaño de partícula y la concentración de goma xantana sobre

el índice de blancura. Se muestra que a mayor tamaño de partícula y menor concentración de goma xantana se logra disminuir el índice de blancura hasta un 11.06%, por el contrario, si se mantiene una concentración de goma xantana de 0.4%; además al incrementarse el tamaño de partícula el índice de blancura no disminuye sino que aumenta hasta un 19.79%. Por otro lado un incremento en la concentración de NLS y tamaño de partícula da como resultado un menor índice de blancura menor (6.90%). En general lo que muestra el diagrama de cubos con respecto al índice de blancura es un efecto significativo de la interacción de la goma xantana con las otras variables, por esta razón se decidió trabajar con un diseño que considere una menor concentración de goma xantana, mayor talla de partícula y concentraciones de NLS superiores al 50%. Además no será posible recubrir con concentraciones de NLS (30 y 40%) debido a una reacción de degradación de los ácidos esenciales en la cascara del limón, como se observa en la Figura 6, sin embargo este estudio no se llevara a cabo ya que no es objeto de esta tesis.



**Figura 5. Diagrama de cubos.**



**Figura 6. Reacción de las NLS en la cascara del limón sin semilla.**

### **3.2. Caracterización de NLS con cera de abeja**

En el Cuadro 8 se observa que no existió diferencia estadísticamente significativa ( $\alpha = 0.05$ ) con respecto al comportamiento del potencial zeta durante el almacenamiento ya que las variaciones fueron de entre -40 a -55 mV, explicándose las variaciones por efecto de la concentración de NLS, ya que a mayor concentración de NLS (60%) se obtienen valores de potencial zeta bajos (-40) debido al carácter no iónico de la cera de abeja. La línea general entre la estabilidad y la inestabilidad de la dispersión es generalmente entre un valor de  $\pm 30$  mV. Como se observa en los resultados del Cuadro 8 todas las dispersiones se encuentran por arriba de este valor, lo que significa que durante todo el periodo de almacenamiento ninguna de las dispersiones tuvo un comportamiento inestable. A pesar de que las dispersiones con un tamaño de partícula de 568 nm tuvieron valores de potencial zeta menores ( $43.4 \pm 4.8$ ) que los anteriormente mencionados, no significo que fueran inestables ya que el valor estaba por arriba de -30mV.

Attama y Müller-Goymann (2007) en su estudio del efecto de la cera de abeja en la modificación de la matriz lipídica en NLS reportaron que el valor más alto de potencial zeta que obtuvieron con una concentración de cera del 30% fue de -34.3

$\pm 0.49$  y el valor más bajo fue de  $-20.2 \pm 5.3$ . En el estudio reportan que el potencial zeta global de todas las NLS preparadas contribuyó a la estabilidad de las nanodispersiones de los lípidos y que proporcionan superficies fijas para la incorporación de activos y de biomacromoléculas. En contraste con los resultados obtenidos en el almacenamiento de limón, las dispersiones preparadas tuvieron una mayor estabilidad lo cual contribuye a la modificación de las propiedades de barrera del recubrimiento y a su estabilidad durante todo el periodo de almacenamiento.

**Cuadro 8. Potencial zeta de las NLS durante el almacenamiento.**

		1a Semana (mV)		2a Semana (mV)		3a Semana (mV)	
568 nm	55% NLS 1% PG	-46.1	55% NLS 1% PG	-44.4	55% NLS 1% PG	-48.2	
	55% NLS 1% PG	-40	55% NLS 1% PG	-45.7	55% NLS 1% PG	-50.5	
	55% NLS 1% PG	-40.2	55% NLS 1% PG	-47.3	55% NLS 1% PG	-46	
	55% NLS 0.5% PG	-52.6	55% NLS 0.5% PG	-32.4	55% NLS 0.5% PG	-48.2	
	55% NLS 0.5% PG	-53.7	55% NLS 0.5% PG	-33.3	55% NLS 0.5% PG	-53.8	
	55% NLS 0.5% PG	-51.7	55% NLS 0.5% PG	-33.5	55% NLS 0.5% PG	-49.1	
	60% NLS 0.75% PG	-40.7	60% NLS 0.75% PG	-46.8	60% NLS 0.75% PG	-36.5	
	60% NLS 0.75% PG	-43.3	60% NLS 0.75% PG	-45.4	60% NLS 0.75% PG	-38.7	
	60% NLS 0.75% PG	-42.2	60% NLS 0.75% PG	-45.2	60% NLS 0.75% PG	-38.8	
	50% NLS 0.75% PG	-56.2	50% NLS 0.75% PG	-30.2	50% NLS 0.75% PG	-50.9	
	50% NLS 0.75% PG	-60.6	50% NLS 0.75% PG	-26.9	50% NLS 0.75% PG	-55.5	
	50% NLS 0.75% PG	-56.7	50% NLS 0.75% PG	-28.7	50% NLS 0.75% PG	-50.2	
	795 nm	55% NLS 0.75% PG	-48.4	55% NLS 0.75% PG	-33.1	55% NLS 0.75% PG	-35
		55% NLS 0.75% PG	-45.7	55% NLS 0.75% PG	-31.4	55% NLS 0.75% PG	-38.7
		55% NLS 0.75% PG	-45.8	55% NLS 0.75% PG	-31	55% NLS 0.75% PG	-40.9
		60% NLS 1% PG	-44.4	60% NLS 1% PG	-49.2	60% NLS 1% PG	-49.3
		60% NLS 1% PG	-44.2	60% NLS 1% PG	-56.5	60% NLS 1% PG	-48.9
		60% NLS 1% PG	-39.9	60% NLS 1% PG	-47.8	60% NLS 1% PG	-45.9
		50% NLS 1% PG	-55.4	50% NLS 1% PG	-31.9	50% NLS 1% PG	-47
50% NLS 1% PG		-54.4	50% NLS 1% PG	-31.7	50% NLS 1% PG	-47.3	
50% NLS 1% PG	-59.3	50% NLS 1% PG	-32.4	50% NLS 1% PG	-44.7		

	1a Semana (mV)		2a Semana (mV)		3a Semana (mV)	
	60% NLS 0.5% PG	-46.5	60% NLS 0.5% PG	-49.1	60% NLS 0.5% PG	-39.3
	60% NLS 0.5% PG	-41.1	60% NLS 0.5% PG	-49.5	60% NLS 0.5% PG	-39
	60% NLS 0.5% PG	-41.6	60% NLS 0.5% PG	-48.4	60% NLS 0.5% PG	-37.1
	50% NLS 0.5% PG	-43.7	50% NLS 0.5% PG	-30.4	50% NLS 0.5% PG	-35.2
	50% NLS 0.5% PG	-48.8	50% NLS 0.5% PG	-36.7	50% NLS 0.5% PG	-35
	50% NLS 0.5% PG	-46.1	50% NLS 0.5% PG	-33.4	50% NLS 0.5% PG	-34.6
	50% NLS 1% PG	-40	50% NLS 1% PG	-47	50% NLS 1% PG	-35.2
	50% NLS 1% PG	-42.5	50% NLS 1% PG	-47.3	50% NLS 1% PG	-35
	50% NLS 1% PG	-44.6	50% NLS 1% PG	-44.7	50% NLS 1% PG	-34.6
	55% NLS 1% PG	-52.3	55% NLS 1% PG	-36.4	55% NLS 1% PG	-41.5
	55% NLS 1% PG	-56.8	55% NLS 1% PG	-34.8	55% NLS 1% PG	-42.4
	55% NLS 1% PG	-64.7	55% NLS 1% PG	-34.1	55% NLS 1% PG	-38.6
	55% NLS 0.5% PG	-38.2	55% NLS 0.5% PG	-40.6	55% NLS 0.5% PG	-38.4
	55% NLS 0.5% PG	-39.3	55% NLS 0.5% PG	-46.2	55% NLS 0.5% PG	-39.7
	55% NLS 0.5% PG	-38	55% NLS 0.5% PG	-49.1	55% NLS 0.5% PG	-39.2
	60% NLS 0.75% PG	-46.5	60% NLS 0.75% PG	-32.2	60% NLS 0.75% PG	-56.9
	60% NLS 0.75% PG	-55.1	60% NLS 0.75% PG	-32.8	60% NLS 0.75% PG	-49.9
	60% NLS 0.75% PG	-56.2	60% NLS 0.75% PG	-37.2	60% NLS 0.75% PG	-50.8
	50% NLS 0.75% PG	-34.8	50% NLS 0.75% PG	-54.5	50% NLS 0.75% PG	-56.9
	50% NLS 0.75% PG	-34.8	50% NLS 0.75% PG	-52.5	50% NLS 0.75% PG	-49.9
915 nm	50% NLS 0.75% PG	-39.3	50% NLS 0.75% PG	-45.9	50% NLS 0.75% PG	-50.8

### 3.3. Caracterización de recubrimientos “in vitro”

Las propiedades mecánicas son importantes para los recubrimientos comestibles, ya que son el reflejo de la resistencia al impacto y compresión que pueda reducir las pérdidas de producto, además de la capacidad de formar y mantener un nivel constante en el producto recubierto. Por otra parte, la pérdida de integridad en un recubrimiento comestible se debe a las malas propiedades mecánicas que reducen su eficacia como barrera a la transferencia (Moura et al., 2009). Para los recubrimientos utilizados en limón sin semilla se estudió la tensión máxima que puede alcanzar una película o recubrimiento aplicando un esfuerzo (Figura 2); conocido como modulo de Young. Como se observa en el

Cuadro 9 los recubrimientos que presentaron una mayor tensión ( $7.2 \text{ MPa} \pm 1.5$ ) fueron aquellos con una concentración de 50 y 55% de NLS y un tamaño de partícula de 795 nm, los recubrimientos con una talla de partícula de 568 y 915 nm no tuvieron una diferencia significativa en la tensión ya que presentaron resultados similares ( $5.30 \text{ MPa} \pm 0.5$ ) a la misma concentración de 55% de NLS. También se observa que con una concentración de 0.5% de propilenglicol se obtuvieron los mejores resultados de tensión en relación a las concentraciones de 0.75 y 1% del plastificante. Este comportamiento sugiere que con la concentración de propilenglicol se modifican las propiedades de tensión del recubrimiento, ya que el uso de plastificantes tiene por objetivo ser un lubricante que facilita el movimiento de las cadenas de polímeros, y esto reduce la resistencia a la deformación; sin embargo la saturación ocasionada por el plastificante en la cadena puede promover la rápida ruptura y poca manejabilidad de la película sobre el fruto.

Navarro-Tarazaga et al., (2008) reportaron que las propiedades mecánicas de los recubrimientos con cera de abeja emulsificados con ácidos grasos presentaron una tensión de  $5.10 \pm 0.8$ , atribuyendo estos resultados a la disminución de la concentración del ácido para aumentar la tensión del recubrimiento y así poder optimizar las propiedades de barrera sobre las mandarinas "Ortanique". Estos resultados demuestran que la concentración del plastificante aporta una gran habilidad de formar un recubrimiento continuo y flexible sobre la superficie de las frutas.

Sin embargo, los recubrimientos con nanopartículas presentados en este trabajo presentan una tensión por arriba de los 5MPa y por lo tanto una resistencia al impacto que puede evitar pérdidas del producto.

**Cuadro 9. Tensión máxima alcanzada en recubrimientos con NLS.**

<b>Tamaño de partícula (nm)</b>	<b>Recubrimiento</b>	<b>Modulo de Young (MPa)</b>
568	50% NLS, 0.75PG	4.239
	50% NLS, 0.75PG	5.086
	50% NLS, 0.75PG	5.584
	60% NLS, 0.75 PG	5.289
	60% NLS, 0.75 PG	4.536
	60% NLS, 0.75 PG	4.8
	55% NLS, 0.5 PG	5.867
	55% NLS, 0.5 PG	5.289
	55% NLS, 0.5 PG	4.231
	55% NLS, 1 PG	4.931
	55% NLS, 1 PG	6.007
	55% NLS, 1 PG	3.472
	795	50% NLS, 0.5 PG
50% NLS, 0.5 PG		5.265
50% NLS, 0.5 PG		5.385
60% NLS, 0.5 PG		7.141
60% NLS, 0.5 PG		5.558
60% NLS, 0.5 PG		6.857
55% NLS, 0.75 PG		6.639
55% NLS, 0.75 PG		8.232
55% NLS, 0.75 PG		6.984
50% NLS, 1 PG		8.835
50% NLS, 1 PG		4.372
50% NLS, 1 PG		6.431
60% NLS, 1 PG		3.167
60% NLS, 1 PG	6.261	
60% NLS, 1 PG	3.964	
915	50% NLS, 0.75PG	3.652
	50% NLS, 0.75PG	5.61
	50% NLS, 0.75PG	5.13

<b>Recubrimiento</b>	<b>Modulo de Young (MPa)</b>
60% NLS, 0.75 PG	9.758
60% NLS, 0.75 PG	8.402
60% NLS, 0.75 PG	3.439
55% NLS, 0.5PG	4.772
55% NLS, 0.5PG	2.811
55% NLS, 0.5PG	8.341
55% NLS, 1PG	5.374
55% NLS, 1PG	2.399
55% NLS, 1PG	7.704

Como parte de la caracterización de los recubrimientos para determinar la influencia de estos sobre el índice de blancura se hizo una evaluación del color y estos resultados indicaron que entre los trece recubrimientos no existen variaciones en el índice de blancura, por lo tanto el índice de blancura solo es significativo cuando el recubrimiento tiene una interacción con el producto.

### **3.4. Índice de blancura en limón sin semilla**

Una vez que se llevó a cabo el análisis y caracterización de recubrimientos comestibles con diferentes tamaños de partícula y concentración de NLS, se evaluó la efectividad de estos recubrimientos en la conservación de limón sin semilla por lo que a continuación se presentarán los resultados relativos a los cambios fisicoquímicos en el producto.

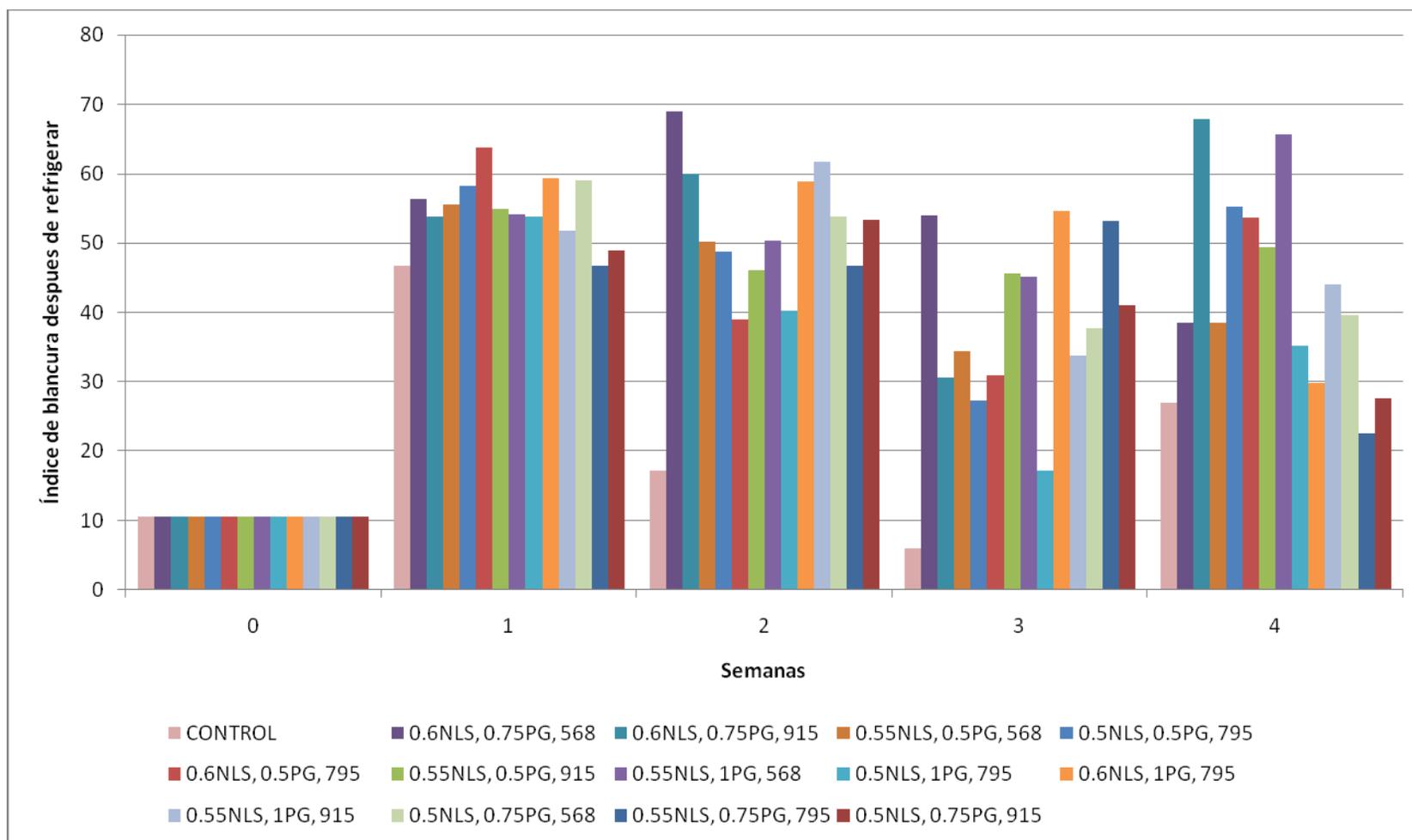
#### **3.4.1. Cambios en índice de blancura durante el almacenamiento por cuatro semanas**

El índice de blancura se midió después del almacenamiento con el fin de medir el “rubor” o blancura generada por la condensación del vapor de agua sobre la superficie del limón (Hagenmaier y Baker, 1994) y así hacer una comparación entre este y el índice de blancura obtenido después de humedecer los limones.

Como se observa en la Figura 7, el índice de blancura en general tuvo un aumento, los recubrimientos que menor índice de blancura obtuvieron fueron aquellos con una talla de partícula de 795 nm a concentraciones bajas de NLS, es decir, a 50 y 55%, obteniendo índices entre 38 y 45 unidades.

Por el contrario los recubrimientos que reportaron un mayor índice de blancura fueron los recubiertos a una concentración de 60% de NLS variando en el tamaño de partícula, es decir, hubo recubrimientos con tallas de partícula de 568 y 915 nm que reportaron índices de blancura entre 50 y 55 unidades. Por lo general, el índice más alto (casi 70 unidades) que se reporta en la Figura 7 es en los recubrimientos de la cuarta semana, debido a que durante el transcurso del almacenamiento, el limón se encontraba en constante contacto con el ambiente refrigerado y entre mas ocurriera una transferencia de vapor de agua, la condensación de este vapor sería mayor obteniendo un índice de blancura significativo sobre la superficie del limón.

Navarro-Tarazaga et al., (2009) reportaron que para obtener un alto brillo en recubrimientos con cera de abeja aplicados en mandarinas "Ortanique" era necesario obtener partículas de cera relativamente pequeñas, asimismo que el brillo de los recubrimientos podría incrementarse con la adición de plastificantes en la formulación del recubrimiento. Contrastando estos resultados, se puede observar que los limones recubiertos con la menor talla de partícula (568 nm) obtuvieron índices de blancura de 54 unidades, es decir, el brillo obtenido después del almacenamiento no fue el mejor en comparación con los recubrimientos con un tamaño de partícula de 795 nm presentando menor índice de blancura (alrededor de 40 unidades) y por lo tanto un mayor brillo. Sin embargo, el uso del propilenglicol como plastificante no mostró un efecto significativo en el índice de blancura, ya que las concentraciones de propilenglicol (0.5, 0.75 y 1%) no siguen un comportamiento, es decir, los recubrimientos que obtuvieron un menor índice de blancura no tenían la misma concentración de plastificante, por el contrario, existía una variación en está.



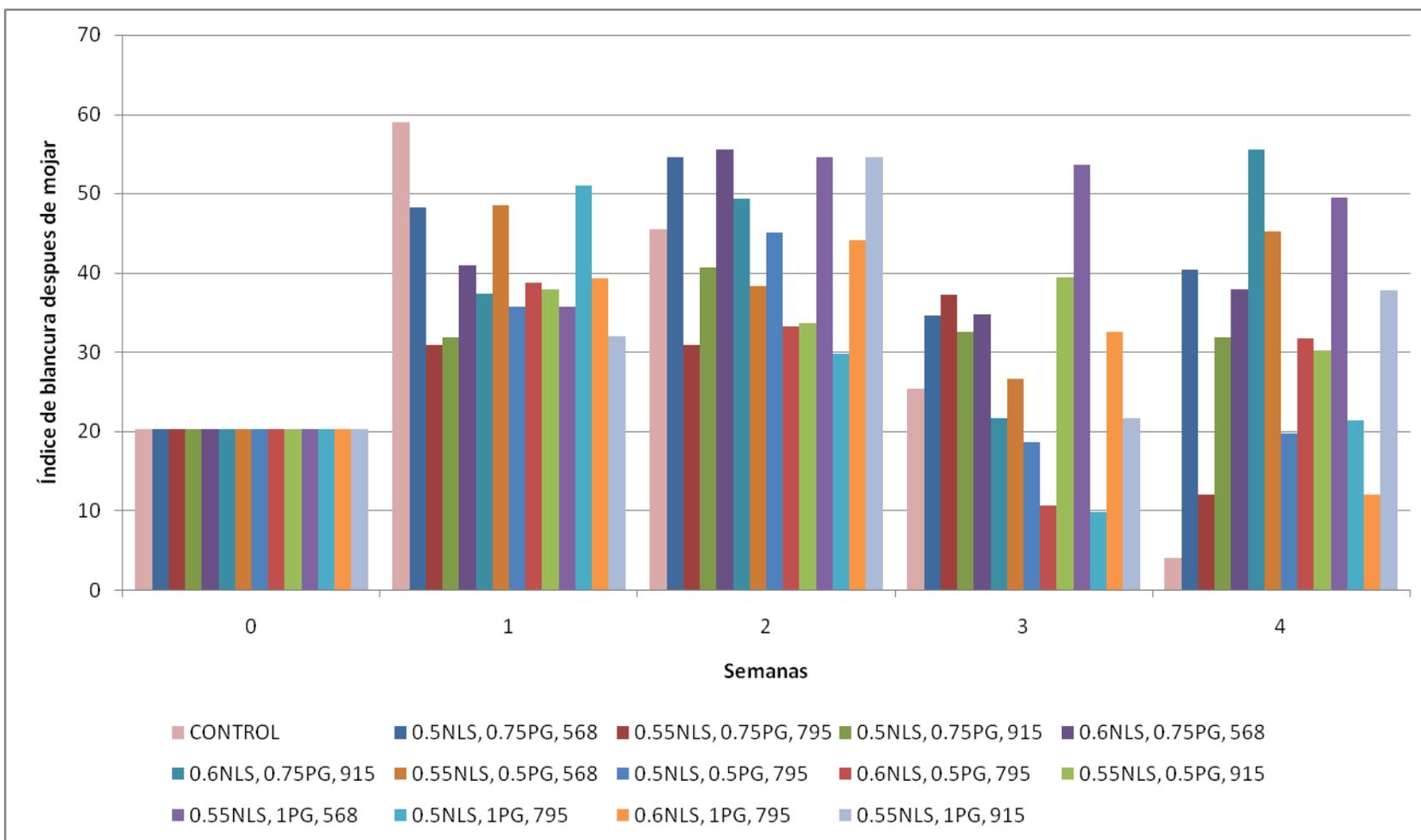
NLS = Nanopartículas Lipídicas Solidas; PG = propilenglicol.

**Figura 7. Índice de blancura durante el almacenamiento por cuatro semanas sin humedecer**

Lo que si mostró un efecto significativo en el índice de blancura es la concentración de NLS y el tamaño partícula, lo que ha llevado a establecer que existe una relación entre estos parámetros para la aplicación de recubrimientos en frutas enteras y que se atribuye al cambio de las propiedades ópticas, debidas al tamaño de partícula.

### **3.4.2. Índice de blancura después de humedecer el recubrimiento**

Por último, se estudió el índice de blancura después de humedecer el recubrimiento, ya que el problema principal de este estudio es la blancura generada en la superficie del fruto al contacto con el agua. Como se observa en la Figura 8 los recubrimientos que tuvieron un menor índice de blancura, entre 27 y 34 unidades, fueron aquellos con un tamaño de partícula de 795 y 915 nm con concentraciones de 55 y 60% de NLS. En comparación con la Figura 7 el recubrimiento que sigue presentando menor índice de blancura es el que contiene 55% de NLS, 0.75% de propilenglicol y un tamaño de partícula de 795 nm, es decir, no hubo cambios significativos en la composición del recubrimiento al interaccionar con el agua. Por el contrario, los recubrimientos con un tamaño de partícula de 568 nm fueron los que presentaron un mayor índice de blancura, entre 38 y 47 unidades, en comparación con la Figura 7, los recubrimientos con 568 nm y concentraciones de 55 y 60% siguieron el mismo comportamiento. En la Figura 8 se observa que la concentración de NLS tiene un efecto significativo en el índice de blancura ya que a menor concentración de NLS se obtuvo un menor índice. Los resultados reflejan que la mejor concentración para obtener un menor índice de blancura es a 55% de NLS (27 unidades). La variable principal que afecta la blancura después de humedecer los limones es el tamaño de partícula, ya que entre mayor tamaño de partícula se tenga el índice de blancura tiende a disminuir. Sin embargo dentro de los recubrimientos con el mismo tamaño de partícula también se encuentran diferencias, por ejemplo el recubrimiento con 915 nm, 50% de NLS y 0.75% de propilenglicol tuvo un menor índice de blancura (34 unidades)



NLS = Nanopartículas Lipídicas Solidas; PG = propilenglicol.

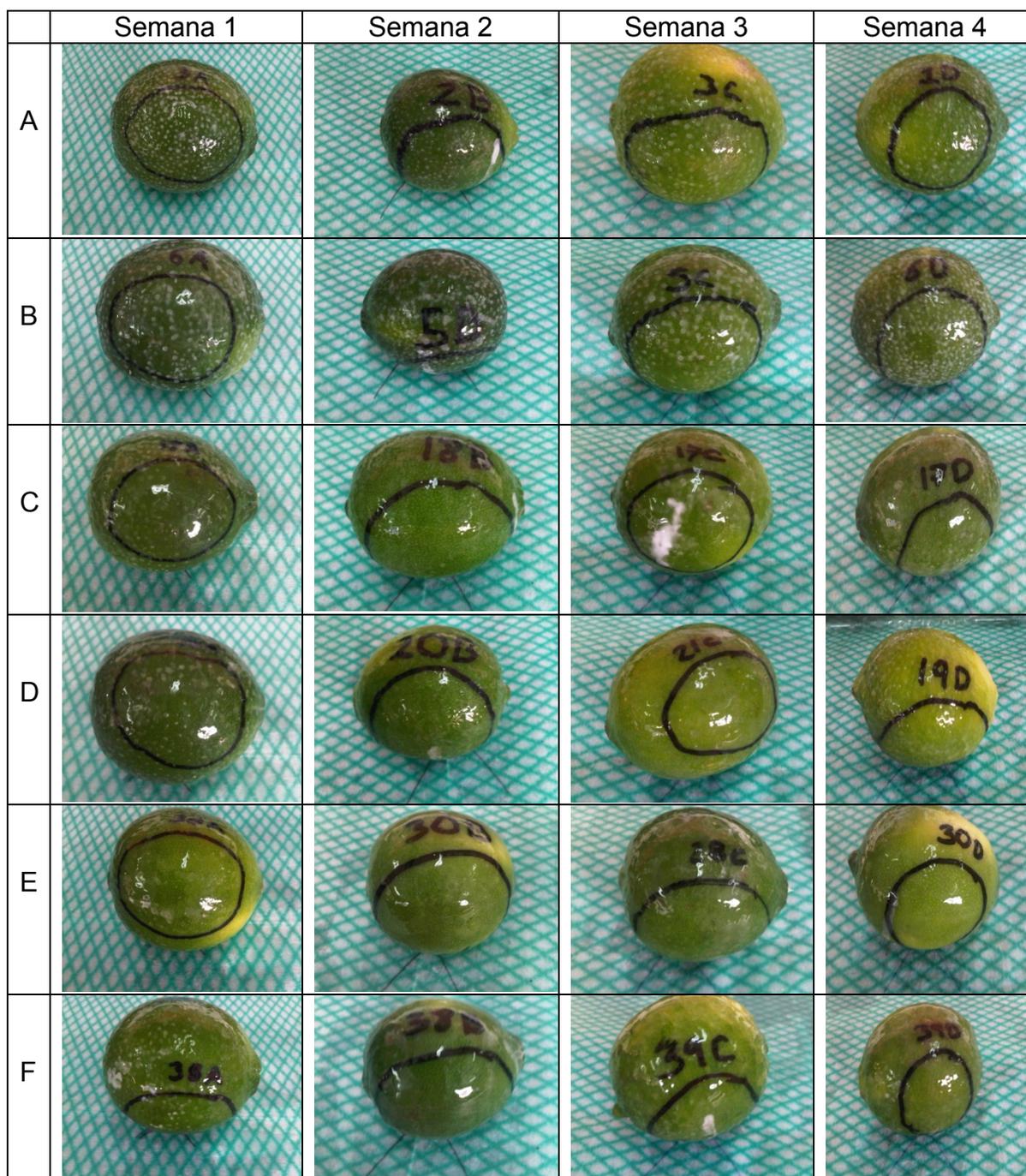
**Figura 8. Índice de blancura en limón sin semilla después de haber estado en contacto con el agua.**

que el recubrimiento con 55% de NLS y 0.5% de propilenglicol con el mismo tamaño de partícula.

La razón de esta blancura presentada en el limón se debe a la composición de la cera de abeja, ya que uno de los componentes principales es el ácido esteárico, el cual es un ácido graso de cadena larga, en general la mayoría de los ácidos grasos al usarlos en recubrimientos tienen la desventaja de presentar una superficie blanca en la superficie de las frutas al estar en contacto con un ambiente húmedo, en este caso el agua. El ácido esteárico, como ya se mencionó anteriormente, es un ácido graso de cadena larga y al interactuar con los componentes del recubrimiento, este reacciona y genera la blancura, es decir, entre mayor concentración de NLS contenga el recubrimiento, este tendrá más oportunidad de interactuar con los enlaces libres que se encuentran en la cadena del ácido (Hagenmaier y Baker, 1994). Por otro lado, si se tiene un mayor tamaño de partícula, estas no tienen la oportunidad de interactuar de manera constante con la cadena en comparación con partículas más pequeñas que están en constante interacción con el ácido esteárico, generando menor índice de blancura.

Hagenmaier y Baker (1994) estudiaron el uso de recubrimientos con cera de candeuba y de candelilla en frutas cítricas. Ellos encontraron que los ácidos esteárico, palmítico y oleico en las formulaciones de los recubrimientos daban una desventaja: al momento de ser humedecidos alrededor del 70% de la superficie del fruto presentaba una blancura.

En contraste con este estudio, los limones también tenían aproximadamente un 70% de superficie blanca después de haber sido humedecidos, como se muestra desde la A hasta la F de la Figura 9, sin embargo en el estudio de Hagenmaier y Baker (1994) no se menciona ningún tamaño de partícula trabajado, es por eso que no se puede comparar la blancura presentada en cada uno de los casos; pero lo que sí se puede saber es que la composición de la cera ayuda a ocasionar la blancura en la superficie de los limones al momento de humedecerlos.

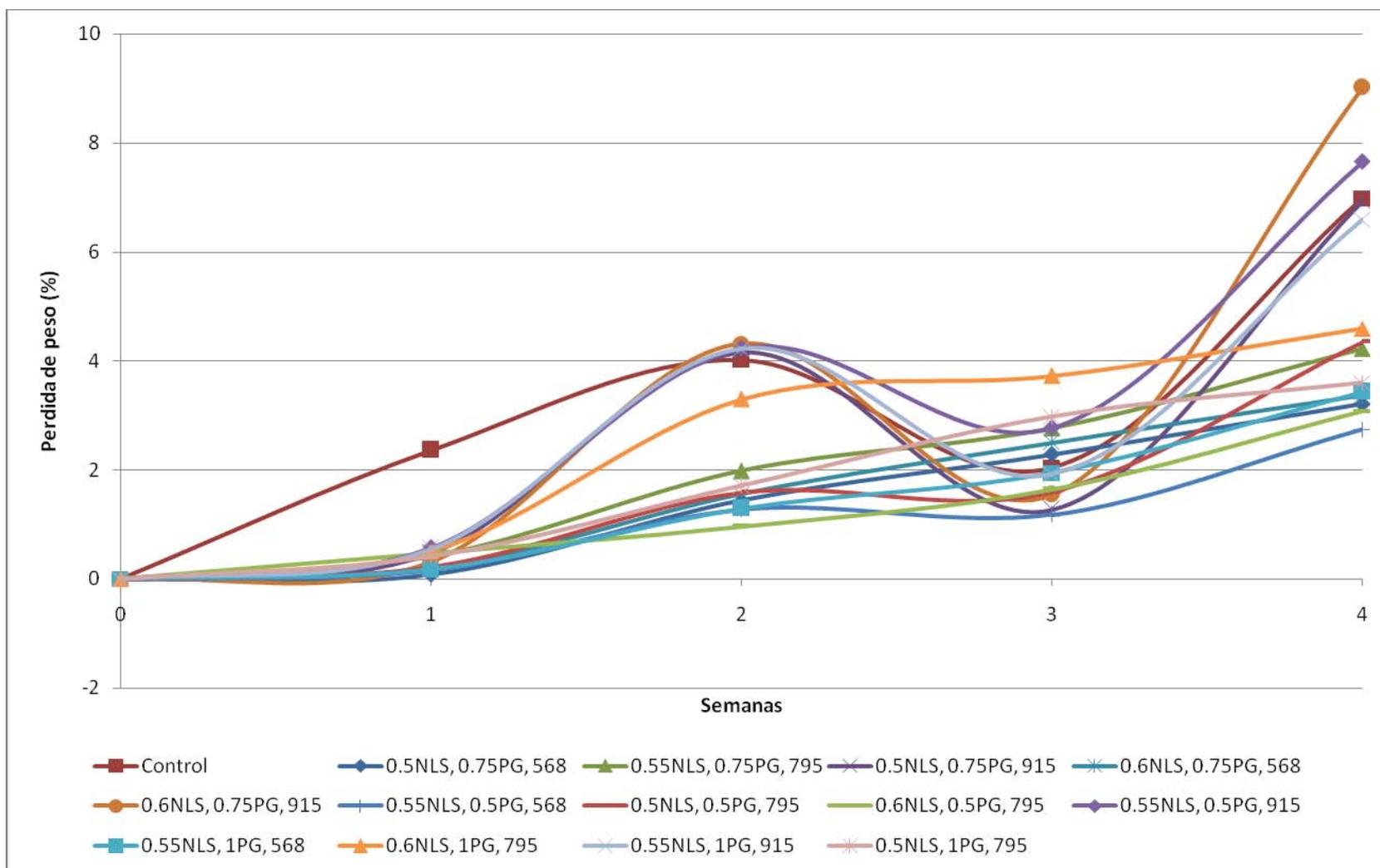


A= 50% NLS, 0.75% PG, 568nm; B= 60% NLS, 0.75%PG, 568nm; C= 60% NLS, 0.5% PG, 795nm; D= 55% NLS, 0.75% PG, 795nm; E= 50% NLS, 0.75% PG, 915nm; F= 55% NLS, 1% PG, 915nm.

**Figura 9. Limones con nanorecubrimientos después de haber sido humedecidos.**

### 3.5. Pérdida de peso y jugosidad

La pérdida de peso y la jugosidad son parámetros importantes que se deben tomar en cuenta para demostrar la efectividad del recubrimiento sobre el limón. Para las frutas, la reducción en la pérdida de peso es muy importante y el uso de recubrimientos comestibles es una excelente herramienta para el control de la reducción del peso (Saucedo-Pompa et al., 2009). Como se observa en la Figura 10, la pérdida de peso máxima alcanzada fue del 7% después de la cuarta semana en las muestras sin recubrir. En comparación con los limones control, los limones recubiertos con 55% de NLS y 568 nm obtuvieron un porcentaje de pérdida de peso cercano al 3%, este recubrimiento fue el que mejor resultado mostró en cuanto a este parámetro. Sin embargo otro recubrimiento que mostró una pérdida de peso similar (3.5%) fue el que está compuesto de 55%NLS y 568 nm, pero a diferencia del primero que mostró la menor pérdida de peso éste está compuesto por 1% de propilenglicol, en comparación con el otro el cual estaba compuesto de 0.5%, lo cual demuestra que la concentración de propilenglicol no tiene un efecto significativo en la pérdida de peso. Por otro lado, con un tamaño de partícula de 795 nm y concentraciones de 50 y 60% de NLS la pérdida de peso que se obtuvo en los limones fue del 4%; sin embargo, fue mayor que con una talla de partícula de 568 nm, lo cual indica que si se aumenta el tamaño de partícula la pérdida de peso aumenta, como ocurrió con los recubrimientos con un tamaño de 915 nm, los cuales llegaron a tener una pérdida de entre el 6 y 9% a las mismas concentraciones de NLS y de propilenglicol, debido a que si existe un mayor tamaño de partícula dentro del recubrimiento significa que no hay una homogeneidad en la formación de la película alrededor del limón y por lo tanto esto favorece al intercambio de vapor de agua durante el almacenamiento, en comparación con recubrimientos con tamaño de partícula menores los cuales llegan a tener esa uniformidad en la atmósfera creada en la superficie del limón sin semilla y por lo tanto la pérdida de peso es menor. En el caso de las frutas no climatéricas, como lo son las frutas cítricas, la disminución de la velocidad de transpiración es muy importante porque el estrés del agua acelera la maduración



**Figura 10. Pérdida de peso en limones sin recubrir y recubiertos con NLS.**

drásticamente reduciendo la vida útil del limón (Bosquez-Molina et al., 2003), es por ello que para obtener esa disminución en la velocidad de transpiración es muy importante obtener un tamaño de partícula pequeño para así poder obtener un control constante en la pérdida de peso y así, el recubrimiento logre una adecuada barrera que se forme alrededor del limón para prevenir la pérdida de vapor de agua. En la Figura 10 se observa que las concentraciones de NLS tienen un efecto en la pérdida de peso, ya que si se tiene el mismo tamaño de partícula pero aumenta la concentración de NLS la pérdida de peso es mayor, un ejemplo de esto es con los limones recubiertos con 795 nm, ya que a una concentración de 55% de NLS la pérdida es del 3.7% sin embargo con una concentración de 60% la pérdida de peso llega aproximadamente al 4.3%.

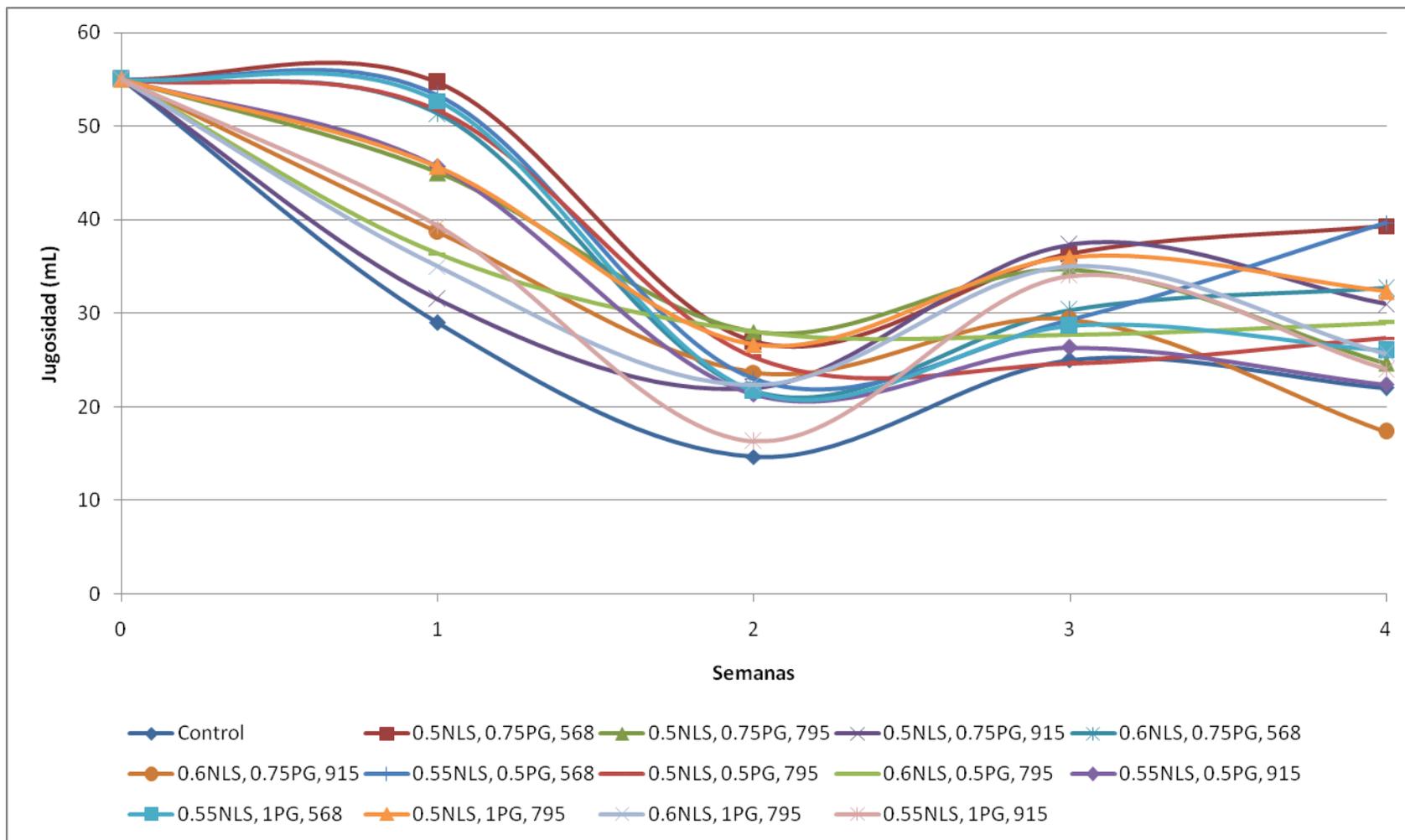
Navarro-Tarazaga y colaboradores (2008) reportaron que la pérdida de peso en mandarinas “Ortanique” sin recubrir después de 6 semanas a una temperatura de conservación de 5°C mas una semana a 20°C, se incrementó en un 13% en comparación con las mandarinas recubiertas con cera de abeja las cuales redujeron esta misma pérdida en un 30%, indicando que la temperatura de almacenamiento es un parámetro importante en el comportamiento del recubrimiento.

Lo mismo ocurrió en el almacenamiento a 10°C del limón sin semilla, el cual tuvo una pérdida de peso significativa en comparación a los limones recubiertos, es decir, la utilización de un recubrimiento con un tamaño de partícula de 568 nm logra disminuir considerablemente la pérdida de peso, incluso por debajo del 10%, por lo tanto el parámetro de mayor influencia en la pérdida de peso es el tamaño de partícula.

Por otro lado, se sabe que la jugosidad es inversamente proporcional a la pérdida de peso y este comportamiento a menudo resulta en estructuras secas y duras que dan lugar a efectos adversos en la calidad del limón (Lin y Zhao, 2007).

En la Figura 11 se puede observar que con el paso de las cuatro semanas los limones fueron perdiendo peso y por lo tanto la relación peso/volumen fue aumentando, esto se refleja en las muestras control sin recubrir ya que estos limones fueron los que menor jugosidad reportaron, debido a que la relación fue de  $1.08 \text{ mL}_{\text{de jugo}}/\text{g}_{\text{de muestra}}$ , es decir entre más grande sea esta relación menor será la jugosidad y esto se debe al constante intercambio de vapor de agua que tuvo el limón sin recubrir durante el almacenamiento. De acuerdo con lo mostrado en el Cuadro 10 los limones que resultaron con mayor jugosidad fueron aquellos con un tamaño de partícula de 568 nm; el Cuadro 10 también refleja que con 568 nm pero a diferentes concentraciones de NLS, las jugosidades tuvieron una variación ya que, a menor concentración de NLS la jugosidad fue mayor, por ejemplo los recubrimientos con 55% de NLS obtuvieron una relación peso/volumen menor, en comparación con los limones recubiertos con 60% de NLS que alcanzaron una relación peso/volumen mayor. Por el contrario, el Cuadro 10 demuestra que con el tamaño de partícula mayor (915 nm) los limones reportaron jugosidades bajas; sin embargo a una concentración de 55% de NLS la jugosidad resultante fue la más baja, además los recubrimientos con un tamaño de partícula de 795 nm fueron los que obtuvieron jugosidades intermedias. Estos resultados demuestran que durante el almacenamiento del limón sin semilla las muestras que obtuvieron una pérdida de peso mayor fueron las mismas que reportaron jugosidades bajas, por lo tanto, el tamaño de partícula tiene un efecto significativo en la efectividad del recubrimiento durante el almacenamiento por cuatro semanas, seguido de la concentración de NLS y que, aunque la diferencia sea mínima, si existe un cambio en el comportamiento del recubrimiento.

La razón de este cambio en la jugosidad de los limones se debe al intercambio de vapor de agua entre la superficie del limón y el medio ambiente en el que se encontraba, ya que los recubrimientos con un mayor tamaño de partícula contribuían a la transferencia de masa lo cual ayudaba a que la relación peso/volumen fuera aumentando a lo largo de las cuatro semanas y por lo tanto la jugosidad se viera afectada, es decir, aunque la cera de abeja es una buena



**Figura 11. Jugosidad en limones sin recubrir y limones recubiertos con NLS.**

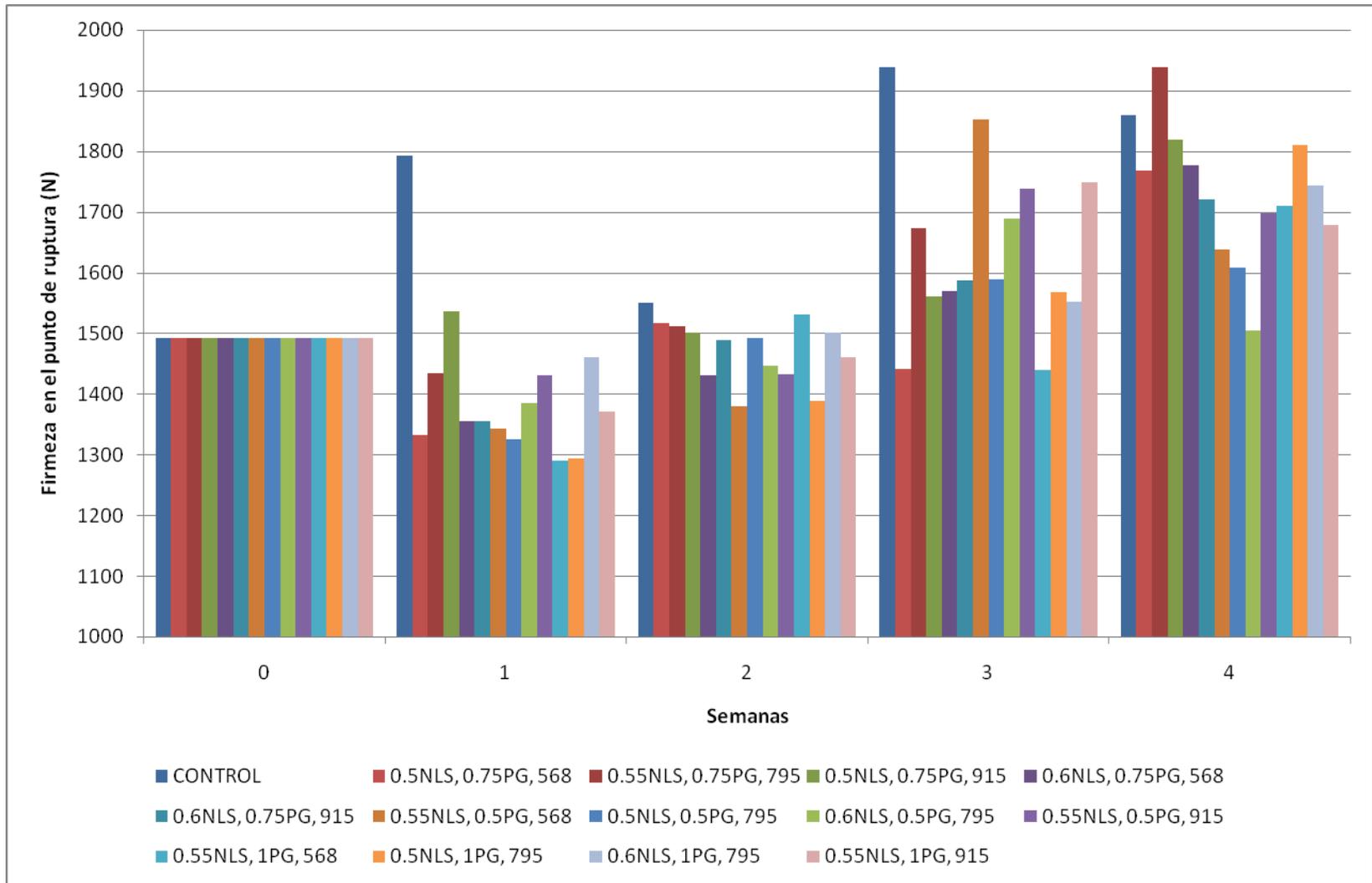
barrera al vapor de agua, no en todos los casos ocurrió así, ya que la constante pérdida de peso que se obtuvo en los limones con un tamaño de partícula mayor fueron los que resultaron más afectados al no poder retener la jugosidad del limón.

**Cuadro 10. Valores de jugosidad para limones recubiertos con NLS**

Tamaño de partícula (nm)	Concentración de NLS (%)	Jugosidad (mL <sub>juco</sub> /g <sub>muestra</sub> )
568	55	0.38
	55	0.38
	60	0.40
795	50	0.40
	55	0.40
915	55	0.41
	60	0.39

### 3.6. Firmeza

La textura de las frutas generalmente se interpreta en términos de firmeza, ésta es un indicador de calidad y un factor en el soporte del estrés de la fruta. Durante el almacenamiento del limón por cuatro semanas, se observó que las muestras que mantuvieron la mayor firmeza durante el periodo de almacenamiento fueron aquellas con un tamaño de partícula de 568 nm y concentración de NLS de 55 %, que se muestra en la Figura 12, lo que explica que si se obtuvo un aumento en la firmeza fue gracias a que estos recubrimientos desarrollaron una barrera eficiente a la pérdida de agua que contribuye a una menor pérdida de peso, una mayor jugosidad y por lo tanto una mejor retención en la firmeza del limón. Por el contrario los recubrimientos con una talla de partícula de 915 nm demostraron una débil barrera a la transferencia de agua, ya que la reducción en la firmeza del limón a lo largo de las cuatro semanas fue considerable, asociado esto a la distribución de las NLS en la superficie del producto ya que a mayor talla de partícula se ha observado una mayor agregación de NLS lo que forma agregados no homogéneos como lo indica Camacho (2010).



**Figura 12. Firmeza en limones sin recubrir y limones recubiertos con NLS.**

Navarro-Tarazaga y colaboradores (2008) reportaron que durante el almacenamiento a 5°C de mandarinas “Ortanique” recubiertas con cera de abeja y ácido oleico fueron los más efectivos en la reducción de la pérdida de firmeza comparado con el control, ellos demostraron que el efecto de la cera de abeja sobre las mandarinas retuvo la firmeza y que ésta se relacionaba con la pérdida de peso.

Asimismo durante el almacenamiento de limón sin semilla se observó la misma relación entre la pérdida de peso y la firmeza a lo largo de las cuatro semanas, ya que los limones que obtuvieron la menor pérdida de peso fueron los mismos que lograron una reducción en la pérdida de firmeza. Para contrastar estos resultados y observar un efecto real en la textura del limón incluyendo la aplicación del recubrimiento, el recubrimiento debe proporcionar una pérdida de peso significativa y en consecuencia una pérdida de firmeza, tal como ocurrió con los limones que fueron recubiertos con una talla de partícula de 915nm.

## CONCLUSIONES

La cera de candelilla contribuyó a un aumento en el índice de blancura en función de la concentración de NLS, mientras que la cera de abeja aportó una disminución del mismo índice en función del tamaño de partícula y la concentración de NLS. Por otro lado, la concentración de goma xantana influye en el índice de blancura, ya que al utilizar la menor concentración se obtuvieron menores índices, logrando un efecto significativo en la interacción con la de cera de abeja y su efecto dependiente del tamaño de partícula y de la concentración de NLS.

El cambio en las propiedades ópticas de un nanorecubrimiento se ven afectados por la modificación en el tamaño de partícula; así como la concentración de las mismas teniéndose entonces cambios en la transparencia e índice de blancura.

La aplicación de recubrimientos con NLS contribuye con menor índice de blancura disminuyendo la pérdida fisiológica de peso cuando la concentración es de 55 % viéndose reflejado en los cambios texturales, por lo que las NLS favorecen la mejora en las propiedades funcionales de los recubrimientos.

El tamaño de partícula que tuvo una mejor funcionalidad para la conservación y disminución del índice de blancura en limón sin semilla fue 795 nm y la concentración de NLS que tuvo mejor interacción y funcionalidad fue 55 %.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASERCA. (2011). "*Limón persa: estudio del mercado mundial*". Enero, 2011. [www.aserca.gob.mx](http://www.aserca.gob.mx)
- Attama, A. y Müller-Goymann Ch. (2007). "*Effect of beeswax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity*". *Colloids and Surfaces*. 30(3): 310-317.
- Bosquez-Molina, E., Guerrero-Legarreta, I. y Vernon-Carter, E. (2003). "*Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings*". *Food Research International*. 36(8): 885-893.
- Camacho O. E. A. (2010). "*Evaluación del uso de nanopartículas lipídicas solidas como modificadores de las propiedades de recubrimientos farmacéuticos*". Tesis para obtener el título de Químico Fármaco Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Cuautitlán Izcalli. Edo. De Mex. P.p. 50-52.
- Castillo. V. E. (2010). "*Recubrimiento de envases de poliestireno expandido con nanopartículas lipídicas sólidas para generar envases activos*". Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Cuautitlán Izcalli. Edo. De Mex. P.p. 48-49.
- Chen, S. y Nussinovitch, A. (2000). "*The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers*". *Food Hydrocolloids*. 14(2): 319-326.
- Chi-Fai. Ch., Shiuan-Huei, W. y Gow-Chin Y. (2007). "*The development of regulations for food nanotechnology*". *Trends in Food Science & Technology*. 18(2): 269-280.

- Cole, G. (2002). "*Pharmaceutical coating technology*". Taylor & Francis. USA. P.p. 7-47, 118-144.
- Dang, K., Singh, Z. y Swinny E. (2008). "*Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit*". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(2): 1361-1370.
- Embuscado, M. y Huber, K. (2009). "*Edible films and coatings for food applications*". Springer. USA. P.p. 1-56, 135-168.
- Fayaz, M., Balaji, K., Kalaichelvan, P. y Venkatesan, R. (2009). "*Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation*". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57(6): 6246-6256
- González-Aguilar, G., Villa-Rodríguez, J., Ayala-Zavala, J. y Yahia, E. (2010). "*Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments*". Trends in Food Science & Technology. 20(3): 1-8.
- Gupta, R. y Kompella, U. (2006). "*Nanoparticle technology for drug delivery*". Taylor & Francis. USA. P.p. 1-37, 103-109.
- Hagenmaier, R. y Baker, R. (1994). "*Wax microemulsions and emulsions as citrus coatings*". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42(6): 899-902.
- HouLi, L., XiaoBin Z., YuKun, M., GuangXi, Z., LingBing, L. y HongXiang L. (2009). "*Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles*". Journal of Controlled Release. 133(2): 238-244.
- Jianshen, A., Min, Z., Wang, S. y Tang, J. (2008). "*Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP*". LWT. 41(3): 1100-1107.
- Jores, K., Mehnert, W., Drechsler, M., Bunjes, H., Johann, C. y 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(2): 217-227.
- Lakkis, J.M. (2007). "*Encapsulation and controlled release technologies in food systems*". Blackwell Publishing. USA. P.p. 1-13.
- Lin, D. y Zhao Y. (2007). "*Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables*". Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 35(6): 60- 75.
- Manresa, A. y Vicente, I. (2007). "*El color en la industria de los alimentos*". Editorial Universitaria. La Habana, Cuba. P.p. 12-41.
- Mehnert, W. y Mäder, K. (2001). "*Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications*". Advanced Drug Delivery Reviews. 47(2): 165-196.
- Moura, M., Aouada, F., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., Krochta, J. y Mattoso L. (2009). "*Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles*". Journal of Food Engineering. 92(4): 448-453.
- Mühlen, A., Schwarz, C. y Mehnert, W. (1998). "*Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery- drug release and release mechanism*". European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 45(1): 149-155.
- Nastruzzi, C. (2005). "*Lipospheres in drug targets and delivery: approaches, methods and applications*". CR Press. USA. P.p. 1-22, 41-46.
- Navarro-Tarazaga, M., Del Rio, M., Krochta, J. y Perez-Gago, M. (2008). "*Fatty acid effect on hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible film properties and postharvest quality of coated "Ortanique" mandarins*". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(3): 10689-10696.

- Paredes-López, O., Camargo-Rubio, E. y Gallardo-Navarro, Y. (1974). "Use of coatings of candelilla wax for the preservation of limes". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 25(3): 1207-1210.
- Rhim, J., Hong, S., Park H. y Perry K. (2006). "Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(5): 5814-5822.
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbo, A., Saenz-Galindo, A., La Garza, H., Jasso-Cantu, D. y Aguilar, C. (2009). "Edible film base on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado". *Food Research International*. 42(5): 511-515.
- Sinha, V., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R. y Trehan, A. (2004). "Poly- $\epsilon$ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview". *International Journal of pharmaceutics*. 27(2): 1-23.
- Souto, E. y Müller, R. (2006). "Applications of lipid nanoparticles (SLN and NLC) in food industry". *Journal of Food Technology*. 4(1): 90-95.
- Sozer, N. y Kokini, J. (2009). "Nanotechnology and its applications in the food sector". *Trends in Biotechnology*. 27(2): 82-89.
- Togrul, H. y Nurhan, A. (2004). "Extending shelf-life of peach and pear by using CMC from sugar beet pulp cellulose as a hydrophilic polymer in emulsions". *Food Hydrocolloids*. 18(2): 215-226.
- Trotta, M., Debernardi, F. y Caputo, O. (2003). "Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique". *International Journal of Pharmaceutics*. 257(7): 153-160.
- Weiss, J., Decker, E., McClements, J., Kristbergsson, K., Helgason, T. y Awad, T. (2008). "Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components". *Food Biophysics*. 3(1): 146-154.

Weiss, J., Takhistov, P. y McClements, J. (2006). "*Functional Materials in Food Nanotechnology*". Concise Reviews/Hypotheses in Food Science. 71(9): 107-116.

Weller, C., Gennadios, A. y Saraiva, R. (1998). "*Edible bilayer films from Zein and Grain Sorghum wax or carnauba wax*". Academic Press. 31(2): 279-285.