



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Efecto del tipo de polisacárido sobre las
cinéticas de liberación y propiedades de
nano-recubrimientos de timol**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

MARIELA ESPEJEL BLANCAS

ASESORES:

DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA

DR. RICARDO MOISÉS GONZÁLEZ REZA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis y Examen Profesional

Efecto del tipo de polisacárido sobre las cinéticas de liberación y propiedades de nano-recubrimientos de timol.

Que presenta la pasante: Mariela Espejel Blancas
Con número de cuenta: 4161108632 para obtener el título de: Ingeniera en Alimentos.

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de junio de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>I.Q. Guadalupe Franco Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza</u>	
SECRETARIO	<u>M. en C. Julieta González Sánchez</u>	
1er. SUPLENTE	<u>I.A. Zaira Berenice Guadarrama Álvarez</u>	
2do. SUPLENTE	<u>Dr. Julio César Morales Mejía</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres ya que por ellos pude culminar esta etapa de mi vida, Humberto Espejel Mejía y Micaela Blancas Almeraya: por todo el cariño, apoyo, enseñanzas y palabras que me motivaron a seguir mis sueños y convertirlos en metas; Amor y cariño infinito ♡.

Papá, eres el hombre que más me ha enseñado de la vida jajaja y reglas de tres, mamá eres la mujer más valiente que conozco y tus regaños siempre me hacen mejorar. Gracias a los dos por siempre estar para mí.

Hermana banana, pasar la vida juntas me enseñó que siempre vas a cuidarme, gracias por caminar a mi lado, enseñarme y guiarme, te admiro.

Familia Mejía y Blancas Almeraya por el apoyo que nunca me negaron como cuando se me hacía tarde, me llevaban a Cuautitlán, buscaban mis documentos perdidos, entre otras muchas situaciones.

A mis profesores por compartir sus conocimientos, experiencias y enseñanzas, que me permitieron llegar hasta este punto de mi vida, en especial a mis asesores, Dr. Ricardo y Dra. Luz por la paciencia y guía que me brindaron desde el primer día en el laboratorio 16.

A la Facultad, agradezco brindarme la oportunidad de una vida universitaria llena de un sinfín de momentos llenos de alegría/frustración y emociones en todo momento, tanto en sus instalaciones como fuera de ellas, con las personas que me dio en el camino.

A mi alma mater, la UNAM.

EL PRESENTE PROYECTO FUE FINANCIADO POR:

El proyecto PAPIIT IN 222520 “Manufactura, evaluación, caracterización y uso de sistemas nanoestructurados en el incremento de vida útil de alimentos” DGAPA-UNAM.

El Programa interno de cátedras de Investigación. CI2233 “Extracción, caracterización y manufactura de sistemas nanoestructurados naturales como coadyuvantes en el proceso con tecnologías emergentes para la conservación de alimentos”.

El proyecto COMECYT FICDTEM-2021-74 “Extracción, Caracterización Y Nanoencapsulación De Péptidos Bioactivos Obtenidos De Subproductos Agroindustriales.”

LUGAR DE REALIZACIÓN

Unidad De Investigación Multidisciplinaria L16: Laboratorio De Procesos De Transformación Y Tecnologías Emergentes De Alimentos

INDICE GENERAL

INDICE DE TABLAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	vi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Generalidades del timol	1
1.1.1. Propiedades físicas y químicas del timol	1
1.1.2. Propiedades antimicrobianas del timol	3
1.1.3. Fuentes de extracción de timol	3
1.2. Recubrimientos comestibles: definiciones y clasificación	4
1.3. Propiedades de los recubrimientos con sustancias activas	7
1.4. Cinéticas de liberación y vida útil	9
1.4.1. Mecanismos de liberación	9
1.4.2. Cinéticas de liberación	11
1.5. Nanopartículas poliméricas	15
1.5.1. Definición	15
1.5.2. Métodos de preparación de nanopartículas	16
1.5.3. Caracterización de nanopartículas	17
1.6. Nanopartículas en recubrimientos	23
1.6.1. Polisacáridos soporte propiedades y función	23
1.6.2. Poli- ϵ -caprolactona en recubrimientos comestibles, propiedades y funciones	24
1.6.4. Importancia de la distribución de activo en el recubrimiento y efecto del polisacárido soporte	26
CAPITULO II. METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN	27
2.1. Objetivos	27
2.1.1. Objetivo general	27
2.1.2. Objetivos particulares	27
2.2. Justificación	27
2.3. Materiales	28
2.4. Preparación de nanopartículas	29

2.5	Caracterización de nanopartículas.	29
2.5.1	Tamaño de partícula e índice de polidispersión	29
2.5.2	Potencial Z (ζ)	29
2.5.3	Eficiencia de encapsulación	30
2.6	Preparación de sistemas formadores de película	30
2.7	Cinéticas de liberación	31
2.8	Análisis estadístico	31
CAPITULO III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS		33
3.1.	Caracterización de nanopartículas de timol	33
3.1.1.	Tamaño de partícula e Índice de polidispersidad	33
3.1.2.	Potencial zeta (ζ)	37
3.1.3.	Eficiencia de encapsulación	39
3.2.	Espesor de las películas	41
3.3.	Cinéticas de liberación	44
3.3.1.	Cinéticas para HPMC	45
3.3.1.1	Cinética de orden cero HPMC	46
3.3.1.2	Cinética de primer orden HPMC	47
3.3.1.3	Cinética Higuchi HPMC	48
3.3.1.4	Korsmeyer y Peppas HPMC	49
3.3.2	Cinéticas para pectina	50
3.3.2.1	Cinética de orden cero en pectina	52
3.3.2.2	Cinética primer orden pectina	53
3.3.2.3	Cinética Higuchi pectina	53
3.3.2.4	Korsmeyer y Peppas Pectina	54
3.3.3	Análisis comparativo de modelos y mecanismo de liberación	55
3.4	Liberación en días	57
CONCLUSIONES		62
REFERENCIAS		64

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de timol (Hyldgaard et al., 2012).	2
Figura 2. Fenómenos de inestabilidad (Estrada, 2013).	19
Figura 3. Potencial Z de una partícula dispersa (Weiner et al., 1993).	21
Figura 4. Polimerización de PCL (Pinos, 2018).	24
Figura 5. Tamaño de partícula nanopartículas de timol.	35
Figura 6. Potencial zeta en muestras de nanopartículas de timol.	38
Figura 7. Cinética de liberación de timol desde película de HPMC.	46
Figura 8. Cinética de orden cero HPMC.	47
Figura 9. Cinética de primer orden HPMC.	48
Figura 10. Cinética Higuchi HPMC.	49
Figura 11. Cinética Korsmeyer y Peppas HPMC.	50
Figura 12. Cinética de liberación de timol desde película de pectina.	51
Figura 13. Cinética de liberación de timol desde película de pectina.	52
Figura 14. Cinética de primer orden en pectina.	53
Figura 15. Cinética Higuchi en pectina.	54
Figura 16. Cinética Korsmeyer y Peppas en pectina.	55
Figura 17. Liberación en días para HPMC y pectinas cargadas con timol.	58
Figura 18. Difusividad efectiva obtenida para las nanopelículas.	59
Figura 19. Concentración de timol en función al tiempo.	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fenómenos de inestabilidad Mengual et al., (1999).	20
Tabla 2. Tamaño de partícula e índice de polidispersidad de NP de timol	35
Tabla 3. Potencial zeta para nanopartículas de timol	38
Tabla 4. Eficiencia de encapsulación de timol	40
Tabla 5. Espesor de películas cargadas con timol	42
Tabla 6. Análisis comparativo de modelos y mecanismos de liberación de Timol	56

RESUMEN

La nanotecnología es una tecnología emergente que ha permitido lograr avances en la aplicación e innovación de nuevos sistemas de conservación de alimentos. El timol presente en el orégano, tomillo, albahacar, etc., ha mostrado tener efecto antioxidante y antimicrobiano; una forma de incorporarlo es en recubrimientos y películas comestibles, además, se logra mejor efectividad a talla nanométrica disminuyendo así el efecto sensorial. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto del tipo de polisacárido sobre la cinética de liberación de timol nanoencapsulado. Las nanopartículas se prepararon por el método de emulsificación- evaporación empleando como polímero pared poli- ϵ -caprolactona (1 g/L) y timol (0.5 g/L), se determinó el tamaño de partícula (T_p), índice de polidispersidad (IPD), potencial zeta (ζ) y eficiencia de encapsulación (%EE). Las dispersiones formadoras de película se prepararon con pectina 2% e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) 0.5%, y 0.16 g/L de timol nanoestructurado. Se determinó el espesor de las películas y el estudio de liberación se llevó a cabo con 1 cm² de película que se colocó en 10 mL de etanol al 95%, se midió el cambio de absorbancia cada 30 min durante 150 min a 280 nm contrastándose una curva patrón. El T_p fue de 360.5 ± 91.96 nm con IPD < 0.3 y ζ de -16.7 ± 7.14 mV, la %EE 66.6 ± 4.3 . El espesor de las películas fue de 111 ± 0.39 μ m, existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre la liberación en pectina e hidroxipropilmetilcelulosa con 10.4 ± 0.3 y 8.5 ± 0.6 % después de 150 min, la difusión del timol fue no Fickiano con “n” de 0.922 y 1.29 explicada por fenómenos de hinchamiento, porosidad y elasticidad de las moléculas de polisacárido, observándose una mayor difusión en pectina que en hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). En base a estos resultados, la liberación depende de la interacción entre los componentes de la película y el polisacárido soporte empleado, marcando así su potencial empleo en alimentos.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado recubrimientos comestibles biodegradables como una forma de protección, funcionalización como barreras bioactivas (Falguera et al., 2011), surgiendo como una alternativa prometedora para conservar la calidad de los alimentos (Arnon-Rips & Poverenov, 2018). Los recubrimientos han sido incorporados con sistemas de talla nanométrica, estas, tienen tamaños de entre 1-1000 nm (Mora-Huertas et al., 2010) y a esta talla se modifican las propiedades de los sistemas, se distribuyen homogéneamente en la superficie de alimentos, disminuyendo la proporción de sustancia activa a utilizar con efecto positivo en la conservación de alimentos, estos modifican las propiedades mecánicas y de transporte de los recubrimientos, las principales nanoestructuras incorporadas son nanopartículas poliméricas, lipídicas, proteicas y mezclas (Zambrano-Zaragoza et al., 2018). Dependiendo de las características deseadas del producto final, y del polímero de encapsulación, es la técnica de elaboración empleada, las cuales se pueden clasificar en métodos físicos y químicos, dentro de los métodos químicos encontramos emulsificación- evaporación con disolvente, éste es utilizado para la elaboración de nanopartículas poliméricas. Las nanopartículas poliméricas han sido ampliamente utilizadas en el área farmacéutica y de alimentos como sistemas de liberación de principios activos, principalmente, debido a que pueden mejorar la estabilidad, la biodisponibilidad, y el direccionamiento para fines específicos (Galdino-Rodríguez et al., 2004) la obtención de nanopartículas se logra a través de métodos, entre los más comúnmente utilizados se encuentran aquellos basados en la formación de una emulsión (Mohanraj & Chen, 2006), tal es el caso del método emulsión- evaporación, en esta técnica primero se disuelve el polímero de pared y el principio activo en una solución orgánica totalmente inmiscible en agua, posteriormente es emulsificada en una solución acuosa que contiene al estabilizante, la dispersión obtenida se pasa a un homogeneizador que reduce la talla hasta un tamaño nanométrico e inmediatamente después se eliminan los residuos del solvente orgánico (Mosqueira et al., 2000). La implementación de nanopartículas poliméricas permite introducir compuestos activos de características hidrofóbicas

sin afectar sus propiedades de interés, de manera que, los recubrimientos hechos con base en polisacáridos han sido ampliamente utilizados por sus propiedades mecánicas de adhesividad y flexibilidad en la superficie de los productos alimenticios (Meza, 2006). El timol, es un compuesto clasificado como mono terpeno tiene propiedades como inhibidor de patógenos alimentarios (antimicrobiano, antifúngicos), y antioxidante que contribuye a retardar las reacciones de deterioro promoviendo un incremento de vida útil, retención de textura, agente organoléptico y reductor de toxicidad, antiespasmódico, antiviral (Wu et al., 2012). Desde el punto de vista tecnológico, la cinética de liberación es estudiada a través de sistemas de liberación, estos sistemas están constituidos por una plataforma o soporte que modulan la rapidez o sitio de liberación del principio activo (Fathi et al., 2014). De manera que en el presente trabajo se demuestra que es posible preparar nanopartículas poliméricas con tamaño de partícula nanométrico, monomodal y con muy buena eficiencia de encapsulación, ya que se obtuvo eficiencia de encapsulación por arriba a las reportadas en la literatura en los últimos años, además, de acuerdo con los modelos cinéticos de liberación el modelo que mejor describió la velocidad de liberación de timol fue el de orden cero, mostrándose además que el mecanismo de liberación es asociado al hinchamiento tanto de la pectina como del HPMC, siendo mayor la velocidad de liberación cuando se emplea pectina como polímero matriz, este análisis de comportamiento es útil e importante para la aplicación de timol como sistema antioxidante y antimicrobiano para el recubrimiento de diferentes tipos de alimentos.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. Generalidades del timol

1.1.1. Propiedades físicas y químicas del timol

Los aceites esenciales son volátiles, naturales y son metabolitos secundarios sintetizados a través de complejas rutas metabólicas (Rai et al., 2017), están compuestos por terpenos, fenoles y compuestos aromáticos, su composición varía dependiendo de las características edafoclimáticas de las plantas (Ribeiro et al., 2007).

El timol ($C_{10}H_{14}O$) es un compuesto sólido y cristalino con masa molar 150.22 g/mol, clasificado como mono terpeno debido a que en su estructura contiene 10 átomos de carbono (Figura 1), de acuerdo con Friedman (2014), su punto de fusión y ebullición es 51.5 °C y 232.5 °C respectivamente, con densidad de 0.965 g/cm³ a 25°C e índice de refracción igual a 1.5227, el timol es extremadamente soluble en alcoholes, disolventes orgánicos y en soluciones acuosas alcalinas debido a la des protonación del fenol, la máxima radicación UV que puede ser absorbida por timol son 274 nm (Norwitz, 1986).

Wade y Reynolds (1997), postularon que la solubilidad del timol es muy alta en alcoholes y otros disolventes orgánicos, pero poco soluble en agua a pH neutro. De manera general los aceites esenciales son sustancias aromáticas producidas como metabolitos secundarios por una especie de planta específica, es considerado como producto del metabolismo secundario de las plantas que lo contienen (Bandoni, 2009).

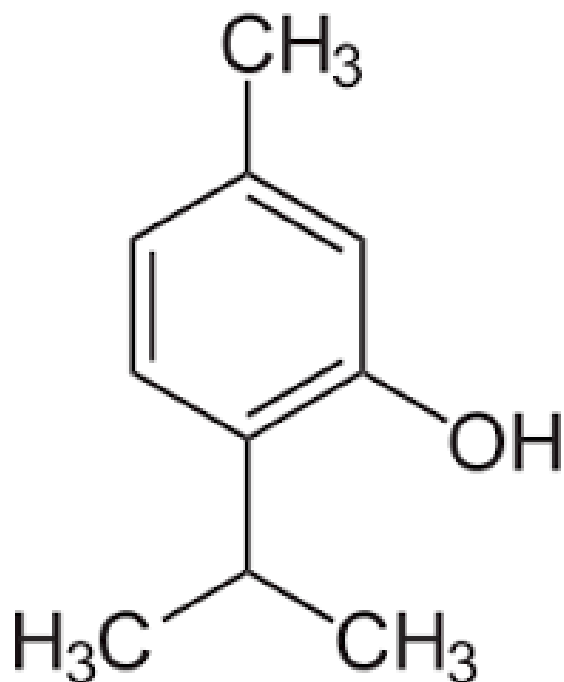


Figura 1. Estructura química de timol (Hylgaard et al., 2012).

Se clasifica como Generalmente Reconocido como Seguros, “GRAS” por la Agencia de medicamentos y alimentación, FDA (Burts, 2004) es considerado un extracto hidrofóbico. Tiene propiedades como; inhibidor de patógenos alimentarios (antimicrobiano, antifúngicos), potenciador de vida útil (antioxidante), promotor de textura, agente organoléptico y reductor de toxicidad, antiespasmódico, antiviral, (Lucera et al., 2012), es decir, es un agente bioactivo natural. Por todas las propiedades, se han reportado el uso de timol en productos farmacéuticos, aplicaciones alimenticias y cosméticos debido a la alta calidad del aceite esencial.

1.1.1 Propiedades antioxidantes del timol

Los compuestos extraídos de plantas son apreciados por sus propiedades antioxidantes que contribuyen a disminuir la acción de los radicales libres. El timol, exhibe una excelente capacidad antioxidante gracias a su rica fuente de compuestos fenólicos (Tohidi et al., 2017), es decir, el efecto antioxidante se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos (Shahidi et al., 1992), esta acción

antioxidante es limitada a temperaturas elevadas debido a su alta volatilidad. De manera que la estructura fenólica del timol le da actividad antioxidante notable, tiene una gran capacidad de neutralización de radicales en su forma libre o encapsulada, Rojano et al., (2008), atribuyen que la propiedad antioxidante del timol destaca la capacidad de regular las alteraciones relacionadas con el estrés oxidativo inducido por las especies reactivas de oxígeno (ROOS) y radicales libres (RL).

1.1.2 Propiedades antimicrobianas del timol

El timol tiene actividad antimicrobiana contra bacterias Gram⁺, Gram⁻ así como contra hongos y levaduras (Campos et al., 2015). Lambert et al., (2001) demostraron también efectos antimicrobianos sobre bacterias, hongo y levaduras. El mecanismo de acción del timol contra los microorganismos se basa en la ruptura de la membrana citoplasmática, el daño de la membrana provoca la fuga de componentes intracelulares (Li et al., 2017) y con ello la desregulación de funciones celulares.

1.1.3 Fuentes de extracción de timol

El timol es un compuesto fenólico mono terpeno presente en diversos aceites esenciales en especial en el aceite esencial de orégano y tomillo, ambos pertenecientes a la familia Lamiaceae cuyo género es *origanum* y *thymus* respectivamente. Existen dos tipos de orégano: Orégano Europeo nativo de la región mediterránea y orégano americano de Suramérica y México (Vernin et al., 2001). Se sinteriza en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, la síntesis viene dada por la ruta del mevalonato, el cual se forma en las plantas a partir de la condensación de tres moléculas de acetyl coenzima A (Friedman, 2014). La producción industrial del timol se lleva a cabo mediante diferentes metodologías como arrastre de vapor (Jiang et al., 2011), hidrodestilación, solventes orgánicos, disolventes verdes y con fluidos supercríticos como CO₂, que es la más reciente técnica para extraer compuestos naturales (Milovanovic et al., 2005).

1.2. Recubrimientos comestibles: definiciones y clasificación

Dentro del desarrollo de sus funciones, los envases pueden dividirse en; primarios, que tienen contacto directo con el alimento, secundarios; que contienen uno o varios envases primarios, y terciarios; que sirven para distribuir, unificar y proteger al producto a lo largo de la cadena comercial. Dentro de los primeros se encuentran los envases flexibles que abarcan a los recubrimientos comestibles, utilizados para proteger productos alimenticios. Los recubrimientos, son una alternativa para mejorar y prolongar la calidad de los alimentos (Espino et al., 2010).

Una alternativa para la conservación de alimentos es la utilización de recubrimientos comestibles los cuales pueden elaborarse con ingredientes básicos adecuados al producto para brindarle la protección de barrera deseada y además, sirven como vehículos para incorporar componentes bioactivos específicos que refuerzan su funcionalidad (Martin-Belloso et al., 2005), es decir, se usan para proporcionar una barrera física entre el ambiente y los alimentos con el propósito de controlar el transporte de masa y extender la vida de anaquel (Acevedo et al., 2017).

Los recubrimientos comestibles son una capa de material que proporciona una barrera para la humedad, mientras que selectivamente intercambia gases de efecto importante como el oxígeno, dióxido de carbono y etileno, que están implicados en el procesos de respiración de los tejidos vivos como frutas y verduras, el propósito de los recubrimientos comestibles es retardar los cambios fisiológicos y proveer una atmosfera modificada, de manera que se logra disminuir la velocidad de respiración con el fin de retardar la senescencia de las células durante almacenamiento (Embuscado et al., 2009). Quintero et al. (2010) definieron a los recubrimientos comestibles, como una delgada matriz continua que se deposita alrededor del alimento, por inmersión o aspersion en una solución formadora del recubrimiento, estos pueden formularse con polisacáridos, proteínas, lípidos o una mezcla de estos. Los recubrimientos hechos con base en polisacáridos han sido ampliamente utilizados por sus propiedades mecánicas de adhesividad y flexibilidad en la

superficie de los productos alimenticios (Meza, 2006). Las películas y recubrimientos comestibles son capas delgadas de materiales comestibles aplicados en los productos alimenticios, pueden ser diferenciados por:

- a) Las películas comestibles son láminas sólidas que ha sido preelaboradas y luego se aplican en la superficie o entre componentes de los alimentos.
- b) Los recubrimientos comestibles forman una película directamente en la superficie del producto, en una o más capas, considerándose parte del producto final (Corbo et al., 2015).

Los recubrimientos pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de polisacáridos, proteínas y lípidos, solos o en combinaciones que logren aprovechar las ventajas de cada grupo, las formulaciones pueden incluir, conjuntamente plastificantes y emulsificantes de diversa naturaleza con la finalidad de ayudar a mejorar las propiedades finales del recubrimiento (Ribeiro et al., 2007), es decir, tal como lo señalan Cazón et al. (2017), los materiales obtenidos a partir de fuentes naturales renovables que se han utilizado para producir película comestible incluyen principalmente proteínas, lípidos, polisacáridos y todas las combinaciones posibles entre ellos y en ocasiones, incorporación de aditivos encaminados a mejorar las propiedades de la película.

Krochta et al. (1994) mencionan que los componentes de los recubrimientos alimenticios se clasifican en tres categorías: Hidrocoloides (incluye polisacáridos y proteínas), lípidos (ceras y ácidos grasos) y mezclas (con componentes lipídicos e hidrocoloides), de manera que los recubrimientos comestibles son considerados como “tecnología amigable con el medio ambiente” para extender la vida útil de los productos alimenticios a través de la reducción en la pérdida de humedad, evitando daño físico y mejorando la apariencia del producto (Dantas et al., 2015). A continuación, se especifica la clasificación con respecto a su composición:

a) Recubrimientos con base en polisacáridos

Los polisacáridos son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como estabilizantes, espesantes y gelificantes; gracias a sus propiedades formadoras de matriz polimérica, que en su mayoría tiene la característica de ser polímeros de cadena larga (Santiago-Santiago, 2015). Los polisacáridos son extensivamente empleados en la nanoencapsulación, para ingredientes alimenticios como soporte de encapsulamiento, dentro de este amplio grupo destacan los almidones, maltodextrinas y gomas (Murúa et al., 2009) se caracterizan por ser insípidos y no alterar las propiedades organolépticas del alimento, pero pueden tener un efecto pronunciado en el gusto y sabor de alimentos, son solubles, de baja viscosidad, poseen características de emulsificación y son muy versátiles para la mayoría de los métodos de encapsulación (Madene et al., 2006)

b) Recubrimientos con base en proteínas

Las proteínas utilizadas en la formación de recubrimientos comestibles se dividen en dos grupos, de origen animal y vegetal, dependiendo del origen muestran una amplia variedad de características moleculares teniendo características de flexibilidad, estabilidad térmica y peso molecular (Aguilar-Méndez & San Martín, 2012). Las proteínas son ampliamente utilizadas como nano encapsulantes en la formulación de recubrimientos, por ejemplo: proteínas alimenticias como caseinato de sodio, proteína de lactosuero, aislados de proteína de soya (Madene, Scher & Desobry, 2006), de acuerdo con Favaro et al. (2010) se utilizan proteínas por sus buenas propiedades de emulsificación, formación de películas, solubilidad de agua y biodegradabilidad.

c) Recubrimientos con base en lípidos

Los lípidos se caracterizan por ser hidrofóbicos y no poliméricos, presentando excelentes propiedades de barrera frente a la humedad, reducen la absorción en la manipulación posterior de los alimentos así como el brillo y apariencia (Valdés &

Baños, 2015), dentro de los principales agentes nano encapsulantes de carácter lipídico están: grasa láctea, lecitinas, ceras, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, parafinas, aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya; son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una nanoencapsulación uniforme (Yañez et al., 2002).

d) Recubrimientos con base en mezclas

Forman redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas, estas les confieren buenas propiedades mecánicas y de barrera a gases (O_2 y CO_2), los sistemas multicomponentes se mezclan con el propósito de complementarse y aumentar sus capacidades (Guilbert, 1986), los que se busca es mejorar las propiedades mecánicas. Si bien existen diferentes tipos de recubrimientos, estos pueden dividirse en recubrimientos y películas, se diferencian principalmente en la forma de aplicarlos en el alimento (Sharma & Rao, 2015), las películas son una capa delgada, se forma por separado sobre una superficie nivelada, posteriormente se coloca sobre el alimento, un recubrimiento, se aplica sobre la superficie de un alimento, ya sea por inmersión en una disolución o por aspersión (Arredondo-Ochoa, 2012).

1.3. Propiedades de los recubrimientos con sustancias activas

Los recubrimientos nanoparticulados tienen potencial en su aplicación como transportadores de entidades con actividad biológica (sustancia activa), desde el punto de vista de la nanotecnología, la incorporación a las membranas poliméricas que recubre un centro con el compuesto de interés alimenticio hace posible promover una liberación controlada, así como protección a los compuestos de los cambios principalmente ambientales. El desarrollo de recubrimientos comestibles con compuestos activos para alimentos (principalmente frescos) ha cobrado interés pues es considerado como tecnología segura y de bajo impacto ambiental por el

potencial que ofrecen contra pérdida de alimentos. Existe un gran número de componentes alimentarios que no se pueden incorporar en los alimentos de forma directa y requieren ser encapsulados en algún tipo de sistema de liberación antes de ser introducidos en la matriz del alimento (McClements, 2012).

Los recubrimientos comestibles con base en polisacáridos tienen características físicas y mecánicas similares a los envases no degradables, pero con la ventaja de funcionar como barreras activas bioactivas, ya que, mediante la adición de extractos vegetales o sustancias activas, pueden presentar actividad antimicrobiana, protección contra la luz UV y visible, servir como acarreadores de antioxidantes y/o colorantes, mejorando con esto las características visuales del producto (Solano et al., 2018).

La adición de sustancias activas no altera las características organolépticas de los alimentos, en particular ejercen una actividad antimicrobiana y antioxidante que forma la base de sus aplicaciones como aditivo natural en el procesamiento y conservación de alimentos, son eficientes para reducir enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S) y al mismo tiempo alargar la vida útil del mismo (Corona, 2018)

El timol ha sido incluido en diferentes tipos de películas o recubrimientos como envase activo para extender la vida útil de los productos alimenticios (Kuorwel et al., 2001). Los sistemas nanocompuestos en la actualidad han sido ampliamente utilizados en el recubrimiento de alimentos con la intención de incrementar la vida útil y disminuir los riesgos de contaminación de los productos.

1.4. Cinéticas de liberación y vida útil

1.4.1. Mecanismos de liberación

De acuerdo con Madene et al. (2006) la liberación puede ser definida como un método por el cual agentes o ingredientes están disponibles en sitios y tiempos específicos. Existen varios mecanismos por los cuales pueden liberarse diferentes principios activos a partir de matrices poliméricas, uno de ellos es sin duda la “difusión”. La cual ocurre cuando un agente activo atraviesa el polímero que formó las nanopartículas, la liberación del principio activo se produce por simple difusión a través de la matriz polimérica y hacia un ambiente externo, si el proceso de liberación es continuo, la cantidad sustancia activa dentro de la matriz polimérica normalmente disminuye con el paso del tiempo (Escobar, 2002). Chávez et al. (2002) indican que, del estudio de la liberación de sustancias incluidas en nanopartículas resultan dos variantes:

- a) Liberación dada por proceso de difusión.
- b) Liberación dada por un proceso de erosión y ruptura de la pared polimérica.

En la mayoría de los sistemas de liberación, la sustancia activa, se introduce en el interior de los que se denomina transportador, siendo en muchos casos material polimérico, la velocidad de liberación de la sustancia deseada está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque, por otra parte, existen otros factores de menor influencia, tales como el pH y temperatura, del medio en el que se libera (Hernández et al., 2004).

El comportamiento de liberación de agentes bioactivos en el resultado del fenómeno de difusión en el polímero y de restricciones de transferencia de masa en la interfase polímero y el líquido (Peppas, 1983), cabe destacar que, el coeficiente de difusión del agente bioactivo a través del polímero depende de los parámetros estructurales y morfológicos del mismo (Reinhart et al., 1981). Kreuter et al. (1994) mencionan que

el mecanismo de liberación, coeficiente de difusión, velocidad de biodegradación y medio biológico son los factores principales que determinan la velocidad de liberación del activo. Para lograr con éxito la liberación deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos: selección de la membrana polimérica, naturaleza química, morfología, temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de cruzamiento también influyen en la difusión de la membrana, aunque pueden disminuir la velocidad de liberación (Yañez et al., 2002).

Los métodos de liberación se pueden llevar a cabo por disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla, temperaturas, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica, de modo que la eficiencia de la liberación depende principalmente de la composición y estructura de la pared, pero también de las condiciones de operación durante la elaboración y uso de las nanopartículas (temperatura, pH, presión, humedad) (Fuchs et al., 2006; Vos et al., 2009).

El mecanismo de liberación a partir de un sistema polimérico nanocompuesto (nano película) depende principalmente de las características fisicoquímicas del polímero si el mecanismo de liberación se da por difusión, de modo que existen tres etapas globales en el proceso de liberación por difusión:

1. Al inicio, el agua o disolvente, disuelve el principio activo que se encuentra en la superficie causando su liberación inmediata. El disolvente penetra la matriz a través de los poros de la película y da lugar a la formación de la capa de gel. La velocidad de penetración en este estado depende de la porosidad del sistema y la formación del gel no constituye necesariamente una capa continua, especialmente cuando las partículas de los polímeros son relativamente largas.
2. En el segundo estado (Fase estacionaria), el disolvente penetra continuamente al sistema, al mismo tiempo que el gel se expande. Durante esta fase la liberación es controlada por el proceso de difusión y no por la disolución del principio activo.

3. La última etapa comienza cuando el agua alcanza el centro del sistema y la concentración del principio activo desciende, este estado se caracteriza por la reducción de la velocidad de liberación.

1.4.2. Cinéticas de liberación

La cinética de liberación de un agente bioactivo a partir de una nano película puede ocurrir debido a varios mecanismos aislados o combinados, como disolución, partición y difusión del compuesto de interés en la matriz, hinchamiento, degradación e incluso disolución del polímero (Carson et al., 2015).

Desde el punto de vista tecnológico, la cinética de liberación es estudiada a través de sistemas de liberación, estos sistemas están constituidos por una plataforma o soporte que modulan la rapidez o sitio de liberación del principio activo (Cruz, 2013). Las principales etapas involucradas en el proceso de liberación son: 1) difusión del compuesto activo a la superficie 2) mecanismo de transporte desde la superficie de la matriz al medio y 3) disolución del compuesto activo en el medio circundante (Pothakamury et al., 1995; Siepmann, et al., 2012).

La liberación de compuestos bioactivos es el resultado del fenómeno de difusión en el polímero y de restricciones de transferencia de masa en la interfase polímero/líquido (Kaunisto et al., 2011). La migración del compuesto activo al medio de liberación puede darse directamente a través de la estructura molecular del polímero o bien a través de macro o microporos existentes en la matriz polimérica (Siepmann & Siepmann, 2012). Los perfiles de liberación de los sistemas encapsulados se pueden analizar mediante diferentes modelos matemáticos semi empíricos, es decir, la cinética de liberación se analiza a través de ecuaciones de modelos matemáticos.

El modelo más común para estudiar la difusión es el propuesto en las leyes de Fick: la primera Ley de Fick establece que, en estado estacionario, la velocidad de

transferencia de una sustancia que difunde a través de la unidad de área de una sección es proporcional al gradiente de concentración:

$$J = -D \cdot \left(\frac{\partial C}{\partial x}\right) \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde J es la velocidad de flujo por unidad de área, D se le conoce como coeficiente de difusión, su valor depende de las sustancias particulares con el que estemos trabajando, la C se refiere a la concentración del compuesto que difunde, x es la dirección espacial.

La segunda Ley de Fick establece que, en estado no estacionario, el flujo de difusión y el gradiente de difusión varían con el tiempo a través de la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2}\right) \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde C es la concentración de la especie que difunde, t es tiempo, D es coeficiente de difusión y x, y, z coordenadas espaciales (Fick, 1995).

Generalmente, el proceso de difusión de solutos desde sistemas en equilibrio de hinchamiento cumple con las leyes de Fick. Esta es cuantitativa y describe diversos casos de difusión de materia y energía en un medio en el que inicialmente no existe equilibrio químico o térmico, afirmando, además, que la densidad de flujo de partículas es proporcional al gradiente de concentración. Sin embargo, en sistemas donde no existe equilibrio, la difusión puede ser o no de tipo Fickiano y en ocasiones la migración en estos sistemas ha sido atribuida a la existencia de fenómenos de relajación macromoleculares lentos. Está relacionado con los tiempos finitos que necesitan las cadenas del polímero, para responder a la presión de hinchamiento osmótico y ordenarse, con el fin de acomodar las moléculas del disolvente que penetran en el sistema. Por consiguiente, dependiendo de la velocidad de relajación del polímero en el proceso de hinchamiento, la migración del soluto puede ser o no de tipo Fickiano (Grenier & Gonzáles, 1994).

Los mecanismos de transporte, difusión, hinchamiento y erosión contribuyen a la velocidad de transporte. Existen varios modelos de cinética que describen la liberación, dichos modelos se basan en diferentes funciones matemáticas, tales como liberación con modelos de orden cero; ampliamente utilizado para sistemas que liberan lentamente el compuesto activo, para este modelo, se asume que el área no cambia considerablemente y que no se forman condiciones de equilibrio material, este es expresado a partir de la siguiente ecuación

$$M_t = M_0 + k_0 t \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde M_t es la cantidad de compuesto activo disuelto en un tiempo t , M_0 es la cantidad de compuesto activo inicialmente en la disolución y k_0 corresponde a la constante de liberación de orden cero (velocidad de liberación) (Singhvi & Singh, 2011).

El modelo de primer orden establece una dependencia de la velocidad de liberación del compuesto activo con su concentración, la cinética de liberación de compuesto activo que sigue la cinética de primer orden puede ser expresada por la ecuación adaptada de Hixson & Crowell como:

$$\frac{dM_t}{dt} = K(M_0 - M_t) \quad \text{Ec. (4)}$$

Donde M_t es la concentración al tiempo t , M_0 es la concentración de saturación en el medio y K es la constante de primer orden expresada en unidades de tiempo⁻¹, la ecuación anterior puede ser expresada en logaritmos decimales como:

$$\log M_t = \log M_0 - \frac{k_1 t}{2.303} \quad \text{Ec. (5)}$$

Donde M_0 es la concentración inicial del compuesto activo, K es la constante de porosidad y t es tiempo, de esta forma, una gráfica del logaritmo decimal de la

cantidad liberada contra el tiempo sería lineal. Es utilizada principalmente para describir la absorción y la liberación de los compuestos activos desde matrices porosas.

En muchos casos, los sistemas se ajustan a la ecuación propuesta por Higuchi (1963), la cual describe el proceso de liberación a partir de una de las caras de la matriz en condiciones de sumidero. Higuchi, también demostró que la fracción de compuesto activo liberado es función de la raíz cuadrada del tiempo y puede representarse de la siguiente forma:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k\sqrt{t} \quad \text{Ec. (6)}$$

Misma ecuación que se puede transformar en:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2} \quad \text{Ec. (7)}$$

Donde; M_t es la cantidad absoluta del compuesto activo liberado, tiempo es igual a t , M_∞ representa la cantidad total liberada a un tiempo infinito y k es la constante de velocidad de liberación y $t^{1/2}$ representa tiempo

Una aproximación que también se utiliza con frecuencia para el análisis de liberación de compuestos activos es la ecuación propuesta por Korsmeyer-Peppas (1983). Esta ecuación emerge de buscar explicar mecanismos de liberación de compuestos activos donde se presenta erosión o disolución de la matriz que se expresa como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Ec. (8)}$$

Donde k es una constante que incorpora características estructurales y geométricas del sistema de liberación y n es el exponente que indica el mecanismo de liberación del compuesto activo.

Cuando n es igual a 0.5 la liberación del fármaco sigue un mecanismo de difusión de tipo Fickiano o transporte caso 1, una difusión anómala o no Fickiana se produce con valores mayores a 0.51 e iguales a 1.

Es decir, los perfiles de hinchamiento, esta controlados por un mecanismo Fickiano, que se describen a través de: Si $n = 1$ la cinética del sistema de liberación es de orden cero y el proceso de liberación es controlado por la relajación de las cadenas poliméricas. En este caso el mecanismo de transporte es particularmente interesante, debido a que la difusión se produce a velocidad constante, si no cambia la geometría del sistema durante el proceso de liberación.

En los casos donde el sistema de liberación es un material poroso, la constante n puede tomar valores < 0.50 , puesto que se combinan los mecanismos de difusión parcial a través de una matriz hinchada y a través de los poros llenos de agua (Korsmeyer et al., 1983). Además, valores de $n < 0.50$ denotan la existencia de otro proceso simultáneo al proceso de difusión.

1.5. Nanopartículas poliméricas

1.5.1. Definición

La nanotecnología es la ciencia emergente que se centra en los objetos de milmillonésima parte de un metro (10^{-9} m) (Bouwmeester et al., 2014), es decir, poseen un tamaño de entre 10 y 1000 nm (Llabot, 2008; Oropesa & Jáuregui, 2012; Pinto et al., 2006) son un puente entre las estructuras atómicas o moleculares y los materiales a granel (Henglein, 1993), formadas por materiales macromoleculares en las que el principio activo se disuelve, engloba, encapsula, se adsorbe y/o se libera en distintas formas (Kreuter, 2014).

La nanoencapsulación y la aplicación de materiales portadores desarrollados a nanoescala ($< 0,2 \mu\text{m}$) no solo mejoran la eficiencia de encapsulación y la estabilidad

física y química debido a la homogeneidad inducida, sino que también mejoran la liberación controlada (Alvarez-Henano et al., 2018; Barnekow et al., 2007) Como consecuencia de su tamaño, muestran diferentes propiedades fisicoquímicas con sus respectivos materiales a granel, incluyendo cambios en las propiedades ópticas, comportamiento térmico, resistencia del material, solubilidad, conductividad, así como actividad catalítica (Rive, 2002).

El interés científico por sintetizar, manipular, caracterizar y aplicar nanopartículas poliméricas o lipídicas se debe a que estas partículas presentan propiedades mejoradas e incluso diferentes a las de tamaño macro. Las nanopartículas presentan gran superficie específica y alta actividad superficial (Lu, 2013), Existe una amplia gama de materiales y compuestos con importancia, la cual radica en su incorporación como sustancias funcionales activas como antimicrobianos, antioxidantes, anti humectantes, saborizantes, colorantes (Naseer et al., 2018)

1.5.2. Métodos de preparación de nanopartículas

La formación de sistemas nanocompuestos poliméricos ha sido descrito por diferentes metodologías donde la elección del método particular depende de la solubilidad de los polímeros compuestos activos. Los métodos de preparación de nanopartículas pueden ser clasificados en dos grandes categorías; polimerización emulsión de monómeros o dispersión de un polímero preformado, Los métodos pueden ser clasificados en cuatro tipos (Quintanar-Guerrero et al., 1999):

- I. Emulsificación-evaporación
- II. Nanoprecipitación
- III. Desplazamiento de disolvente
- IV. Emulsificación-difusión

- La emulsificación fue el primer método desarrollado para preparar nanopartículas poliméricas a partir de polímeros preformados, durante la evaporación, el disolvente se difunde a través de la fase acuosa o fase continua de la

emulsión, dando lugar a la formación de las nanopartículas poliméricas (Rao & Geckeler, 2011).

- La nanoprecipitación está basada en la separación de un disolvente miscible en agua de una solución acuosa mediante un efecto de precipitación salina (Fathi et al., 2014), el disolvente y el agente salino pueden ser eliminados mediante filtración contraflujo (Mendoza-Muñoz et al., 2012).
- Desplazamiento de disolvente, este método también es conocido como nanoprecipitación, se basa en la deposición interfacial de un polímero después de desplazar el disolvente orgánico de una solución lipófila a una fase acuosa, el polímero se disuelve en un disolvente miscible en agua de polaridad intermedia y esta solución se añade a un medio acuoso con agitación constante, ya sea de un solo disparo o con velocidad controlada gota a gota (Agular, 2015),
- Emulsificación-difusión utiliza disolventes parcialmente solubles en agua los que se saturan mutuamente para asegurar el equilibrio termodinámico entre ambos líquidos, el polímero y el compuesto activo se disuelven en la fase orgánica previamente saturada con agua, mientras que un estabilizante es disuelto en la fase acuosa, las dos fases son emulsificadas con agitación vigorosa (Moras-Huertas et al., 2011).

1.5.3. Caracterización de nanopartículas

Las nanopartículas se caracterizan por poseer propiedades físicas y químicas muy particulares y únicas, como: agregación de partículas, fotoemisión, conductividad eléctrica y calorífica, así como actividad catalítica, entre otras (Lui, 2006). Su caracterización se divide de acuerdo con el tipo de propiedad de las nanopartículas que se desea conocer: morfología, características estructurales, tamaño, distribución, concentración y características electromagnéticas, aplicando diferentes técnicas y métodos (Khan et al., 2007).

Propiedades como la dureza, elasticidad, conductividad térmica, magnética y eléctrica mejoran al estar ubicadas en la escala nanométrica, mismas que se estudian para caracterizar al sistema ante factores intrínsecos y extrínsecos al formar y aplicar el sistema sobre un alimento, dicha caracterización es necesaria para estandarizar y satisfacer la calidad requerida para su uso. Dentro de las técnicas que se realizan a los sistemas nanoparticulados encontramos:

Tamaño de partícula e índice de polidispersión:

Para determinar el tamaño y la dispersión de las nanopartículas comúnmente se utiliza la técnica de dispersión de la luz dinámica. La dispersión de luz dinámica (DLS; por sus siglas en inglés) también se conoce como espectroscopía de correlación de fotones. Esta técnica es uno de los métodos más populares utilizados para determinar el tamaño de partículas. Radica en hacer brillar un haz de luz monocromática, como un láser, sobre una solución con partículas esféricas en movimiento browniano provoca un desplazamiento Doppler cuando el haz de luz golpea la partícula en movimiento, cambiando la longitud de onda de la luz entrante. Este cambio está relacionado con el tamaño de la partícula (Sartor, 2000).

De acuerdo con Harding & Jumel (1998), es una técnica que mide principalmente el movimiento browniano de macromoléculas en solución que surge debido al bombardeo de moléculas de disolvente, y relaciona este movimiento con el tamaño de partículas, dicho movimiento de las macromoléculas depende de su tamaño, temperatura y viscosidad del disolvente. La relación entre el tamaño de una partícula y su velocidad debido al movimiento browniano se define con la ecuación de Stokes-Einstein (Xu, 2015).

Sartor (2000), menciona que la DLS se utiliza para medir macromoléculas y partículas pequeñas en suspensión diluidas, los sistemas comerciales operan principalmente con un haz de luz con ángulo de 90° y 675 nm, cuando el haz de luz monocromático encuentra una solución que contiene nanopartículas, la luz se

dispersa en todas direcciones en función del tamaño y la forma de las macromoléculas.

Estabilidad física:

La estabilidad física del sistema indica la perdurabilidad de las nanopartículas, manteniendo sus características iniciales como el tamaño de partícula. La estabilidad y disponibilidad de un principio activo es de gran interés en muchas áreas del conocimiento, incluida la ciencia de los alimentos. Para lograr que los sistemas nanocompuestos que perduren con las características deseadas a través de un determinado tiempo depende entre otros factores de la composición (emulgentes) (Kosegarten-Conde & Jiménez-Munguía, 2012). Los problemas de estabilidad pueden seguir una serie de cambios dependiendo de su composición y estructura (Kumar et al., 2012). En la Tabla 1, se describen los fenómenos de inestabilidad y sus mecanismos de migración que se presentan en los sistemas nanoestructurados y su representación en la Figura 2.

Para evaluar la estabilidad de los sistemas nanoparticulados se emplea el equipo Turbiscan, este equipo es un analizador óptico que predice la desestabilización potencial de los sistemas coloidales (sedimentación, cremado, floculación y coalescencia) mediante el análisis de dispersión de luz múltiple (Cosco et al., 2015).

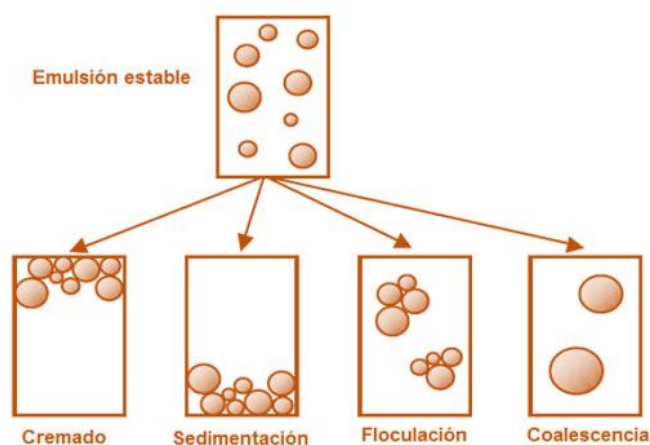


Figura 2. Fenómenos de inestabilidad (Estrada, 2013).

El principio de medición se basa en la detección de los cambios en la transmisión y la retro dispersión de la luz en función del movimiento de las partículas dentro del sistema.

Tabla 1. Fenómenos de inestabilidad Mengual et al., (1999).

Fenómeno	Mecanismo de migración de partícula
Sedimentación	La densidad de la fase dispersa es mayor que la densidad de la fase continua, por lo que la fracción de volumen disminuirá en la parte superior de las celdas y aumentará en la parte inferior.
Cremado	La fase dispersa tiene una densidad menor que la fase continua, por lo que la fracción de volumen aumentará en la parte superior de la fase continua.
Floculación/Coalescencia	En este fenómeno puede cuando dos o más gotas se asocian entre sí manteniendo su identidad individual, se trata de un fenómeno de floculación; mientras que se denomina coalescencia al mecanismo por el cual las gotas se unen para formar una única gota de mayor tamaño

Potencial Zeta:

El potencial zeta (ζ) se define como el potencial en el plano de cizalla en la doble capa eléctrica (Furusawa & Uchiyama, 1998), es decir, es una propiedad de los materiales que miden el potencial electrocinético en sistemas coloidales en la química coloidal (Gileadi et al., 1975).

El potencial zeta es la diferencia de potencial entre el medio de dispersión y la capa estacionaria unido a la partícula dispersada. Desde un punto de vista físico, el

potencial zeta es el potencial eléctrico en la doble capa interfacial; es el punto donde se unen la capa difusa y la de Stern.

La capa líquida que rodea la partícula existe como dos partes: una región interna, llamada capa de Stern, donde los iones están fuertemente ligados y una región externa, capa difusa, donde están menos unidos, tal como se muestra en la Figura 3. Dentro de la capa difusa hay un límite teórico dentro del cual los iones y las partículas forman una entidad estable (Cano-Sarmiento et al., 2018), es decir, la doble capa es dividida en una parte compacta adyacente a la superficie y una parte difusa. En la parte difusa los iones son móviles y obedecen a leyes de mecánica estadística, los contraiones son atraídos a través de la superficie (Ennis & Anderson, 1992).

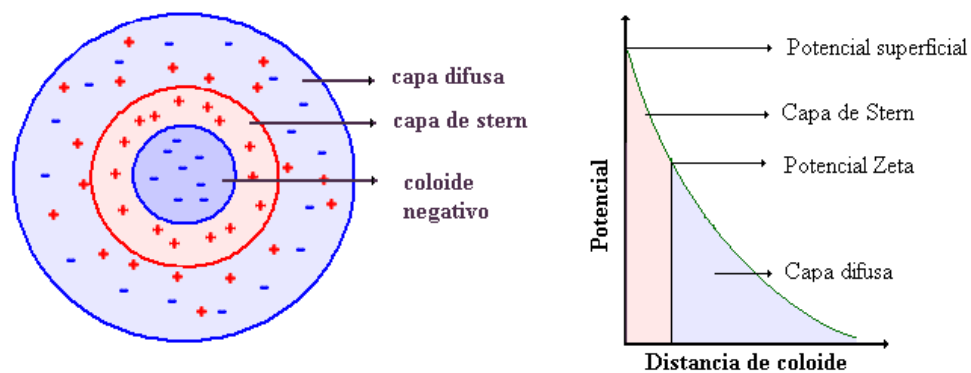


Figura 3. Potencial Z de una partícula dispersa (Weiner et al., 1993).

Está ubicado cerca al plano de corte, en el límite de la capa difusa y representa la ubicación efectiva de interfaz sólido líquido (James et al., 1992), su importancia radica en que su valor puede estar relacionado con la estabilidad de las dispersiones coloidales. El potencial zeta indica el grado de repulsión entre partículas adyacentes, cargadas en una dispersión (Furusawa & Uchiyama, 1998).

Para las moléculas y partículas que son lo suficientemente pequeñas, un alto potencial zeta le confiere estabilidad, es decir, la solución o dispersión se resistirá a la agregación. Cuando el potencial es bajo, se tiene atracción entre las partículas, se supera a la repulsión y se forman flóculos, en lugar de dispersión. Por lo tanto, los

coloides de alto potencial zeta se estabilizan eléctricamente, mientras que, los coloides con bajos potenciales zeta tienden a coagular o flocular (Brian et al., 2004). También la estabilidad de las dispersiones depende del balance entre las cargas electrostáticas repulsivas en la partícula coloidal y las fuerzas de atracción de van der Waals (Hu et al., 1999).

Eficiencia de encapsulación:

La encapsulación es una tecnología ampliamente utilizada en la industria alimentaria para la protección de compuestos bioactivos que son sensibles a la luz, oxígeno, humedad, calor y otros agentes ambientales (Katouzain & Jafari, 2016) es una metodología de donde un compuesto lipofílico de interés es protegido por interacción con un surfactante y/o agente encapsulante o material de pared, permitiendo preservarlo en el tiempo, especialmente cuando debe incorporarse en una matriz alimentaria (McClements, 2016; Ghani et al., 2017).

Existen varias razones por las cuales los compuestos bioactivos se deben encapsular, por ejemplo, para añadirse en los alimentos sin afectar los atributos de calidad, para protegerlos contra degradación química, física o biológica; para enmascarar sabores, para liberarse en algún sitio de acción en particular, para mejorar sus condiciones de almacenamiento, manejo y utilización, además de extender su vida útil (Fang & Bhandari, 2012)

De acuerdo con Piacentini (2016), la %EE se define por la concentración del material incorporado (tales como principios activos, fármacos, fragancias, proteínas, pesticidas, agentes antimicrobianos, etc.) detectados en la formulación sobre la concentración inicial utilizada para elaborar la formulación. La eficiencia de encapsulación se calcula con la siguiente ecuación:

$$EE (\%) = \frac{W_r}{W_i} \times 100 \quad \text{Ec. (9)}$$

Donde W_r representa la concentración de compuesto bioactivo retenido y W_i representa la concentración inicial de compuesto bioactivo

1.6. Nanopartículas en recubrimientos

1.6.1. Polisacáridos soporte propiedades y función

El efecto de las nanopartículas sobre las propiedades mecánicas de las películas ha sido estudiado ampliamente, ya que exhiben varias propiedades, que en general muestran propiedades mejoradas en la mecánica de soporte (Hardwick, 1987). Se ha utilizado un amplio tipo de nanopartículas basadas en polisacáridos para la encapsulación de conservantes naturales con funciones biológicas. Los polisacáridos han sido ampliamente considerados como polímeros versátiles en el desarrollo de sistemas de micro y nanoencapsulación como material de pared debido a sus características, que incluyen biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad (Jang & Lee, 2008). Con el fin de mejorar las propiedades fisicoquímicas del timol (susceptibilidad a la oxidación, solubilidad), la aplicación de la nanotecnología es un enfoque eficiente y adecuado (Shah et al., 2012).

Las sustancias activas, como el timol, que se encuentra dentro de los aceites esenciales, son agentes antimicrobianos y antioxidantes, sin embargo, su volatilidad, baja solubilidad en agua y susceptibilidad a la oxidación limita su uso, por lo que la encapsulación de éstos es una de las opciones para reducir estos efectos y mejorar su actividad biológica (Ribeiro et al., 2017), dejando las gotitas de lípidos incrustadas en la matriz polimérica (Chiralt & Atar, 2016). Las nanopartículas preparadas con poliméricos tienen ventajas que incluyen biocompatibilidad, estabilidad mejorada, liberación y eficacia mejorada (Kumari et al., 2010).

Los polisacáridos de soporte forman redes moleculares cohesionados por una alta interacción entre sus moléculas, estas le confieren buenas propiedades mecánicas y

barrera de gases (O_2 y CO_2) por lo que retardan la espiración y el envejecimiento de productos alimenticios frescos, alargando su vida útil (Valdés & Baños, 2015)

1.6.2. Poli- ϵ -caprolactona en recubrimientos comestibles, propiedades y funciones

La poli- ϵ -caprolactona (PCL) puede obtenerse mediante la polimerización por apertura de la ϵ -caprolactona (Poli- ϵ -caprolactona), es un polímero flexible y biodegradable, no tóxico, hidrófobo y fácil de procesar (John et al., 2002), posee propiedades mecánicas semejantes a la del polietileno de menor densidad, también posee una alta permeabilidad al CO_2 , agua y oxígeno (Aradilla et al., 2012) como se muestra en la Figura 4.

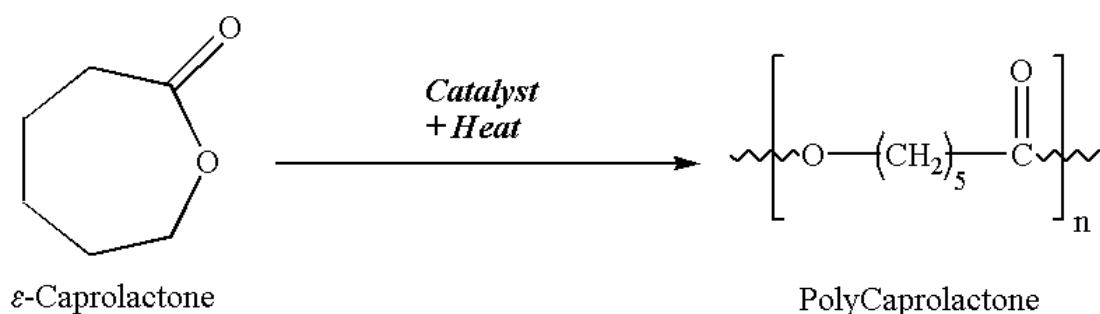


Figura 4. Polimerización de PCL (Pinos, 2018).

La poli(ϵ -caprolactona) (PCL) es un poliéster alifático lineal y semicristalino, tiene su temperatura de fusión (T_m) alrededor de $60^\circ C$ y su temperatura de transición vítrea (T_g) alrededor de $-60^\circ C$ y se obtiene a partir de la ϵ -caprolactona. La repetición molecular de la estructura de homopolímeros de PCL consiste en 5 grupos metilenos apolares y un éster con propiedades polares. Esta estructura le brinda a la PCL propiedades únicas, con propiedades mecánicas similares a las poliolefinas debido a su semejanza estructural (Brode et al., 1972).

Es uno de los poliésteres biodegradables hidrófobo (aunque el agua puede penetrar en las cadenas del polímero), semicristalino aprobado por la FDA, que han atraído

especial atención para ser utilizado en la liberación controlada de ingredientes activos debido a que no es tóxico, lento para degradarse en medios acuosos e inofensivo en el medio ambiente (Sahoo et al., 2010). Dos Santos et al. (2016) indican que la PCL presenta innumerables ventajas sobre otros polímeros, como: bajo costo, facilidad de conformación y fabricación que permite tamaños de poro adecuados que producen la liberación controlada de los componentes activos encapsulados.

Entre sus aplicaciones primordiales están adhesivos, suturas, revestimientos superficiales entre otros (Aradilla, et al., 2012). De acuerdo con la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) la poli- ϵ -caprolactona ha sido aprobada para su utilización en contacto con alimentos (Sanchez-Garcia et al., 2008). En la industria alimentaria la PCL se ha utilizado para la fabricación de envases para alimentos, por ejemplo, se han fabricado películas con aceites esenciales para el control de patógenos y alargar vida útil del alimento (Martínez-Abad et al., 2013)

1.6.3. Importancia de plastificante en recubrimientos comestibles

En la mayoría de los casos, se requiere la adición de plastificantes para obtener películas a base de proteínas y polisacáridos. Sin plastificante agregado, las películas obtenidas de varios polisacáridos son quebradizas generalmente debido a interacciones entre cadenas de polímeros (Han, 2014). Los plastificantes reducen la cohesión dentro de la red de la película al debilitar las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de polímero adyacentes (Espitia et al., 2014). De esta forma, los plastificantes modifican o mejoran las propiedades mecánicas, reducen la tensión de deformación, dureza, densidad y viscosidad y aumentan la flexibilidad de la cadena del polímero, así como la resistencia a la fractura (Vieira, da Silva, dos Santos, & Beppu, 2011). En materiales hidrófilos, los plastificantes modifican las propiedades de barrera y generalmente aumentan la permeabilidad al vapor de agua. Por el contrario, la adición de plastificantes hidrófobos podría resultar en una disminución en la absorción de agua (Espitia et al., 2014).

Algunos plastificantes comúnmente usados son polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), azúcares (glucosa y sacarosa) y lípidos (monoglicéridos, fosfolípidos y tensoactivos) (Espitia et al., 2014).

1.6.4. Importancia de la distribución de activo en el recubrimiento y efecto del polisacárido soporte

En los sistemas nanocompuestos, el compuesto activo es incorporado a un soporte que generalmente es un material polimérico o una combinación de varios y la rapidez de liberación del compuesto activo, viene determinada por las propiedades del propio polímero, su interacción con el bioactivo y en algunos casos factores como pH, la temperatura, entre otros (Sáez, 2002). Desde el punto de vista de los materiales de soporte la tendencia es obtener sistemas inteligentes (Peppas et al., 2006), cargados con el principio activo, que responda para el caso de los alimentos a estímulos del ambiente y puedan liberar su carga en el lugar, tiempo y velocidad necesaria. Es así como los polisacáridos han recibido atención para su uso como polisacáridos de soporte (Langer et al., 1983)

La nanoencapsulación o la inclusión de los activos en matrices sólidos o dispersiones sirve para proteger a los compuestos activos de las condiciones ambientales desfavorables como: oxidación, cambios de pH, degradación enzimática, entre otros (Augustin & Hemar, 2009).

La liberación de agentes antimicrobianos en los recubrimientos se lleva a cabo por mecanismos antimicrobianos, estos se dividen en dos grupos: el primero, de migración de compuestos activos, que pasan parcial o totalmente al alimento o a la superficie y el segundo mediante mecanismos no migratorios, que contienen compuestos con actividad antimicrobiana en la superficie de la película o cubierta (Vázquez-Briones & Guerrero-Beltrán, 2013), por tal razón al distribuir la sustancia activa de manera uniforme en el recubrimiento, se asegura un control adecuado en toda la superficie del alimento.

CAPITULO II. METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y pectina cítrica sobre las cinéticas de liberación y propiedades de nano-recubrimientos cargados con timol como compuesto activo para establecer que polisacárido obtiene sistemas de liberación con mayor eficiencia para alargar la vida útil de los alimentos.

2.1.2. Objetivos particulares

1. Elaborar nanopartículas poliméricas cargadas con timol mediante el método emulsificación- evaporación determinando sus propiedades para garantizar un sistema de talla nanométrica estable y funcional.
2. Caracterizar los sistemas de nanopartículas poliméricas a través del estudio de sus propiedades físicas y químicas para determinar las condiciones en las que se encuentra el sistema para su posterior empleo en películas cargadas con compuesto activo.
3. Analizar las cinéticas de liberación del compuesto activo a través de diferentes modelos matemáticos tales como cinética de orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmery y Peppas para establecer el modelo con coeficiente de determinación más cercano a 1.

2.2. Justificación

Los alimentos se pierden o desperdician a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción inicial hasta el consumo final en los hogares, de acuerdo con la SAVE FOOD (2015), alrededor de un tercio de la producción de los alimentos destinados al consumo humano se pierden en todo el mundo lo que equivale a 1 300 millones

de toneladas al año, con el propósito de alargar la vida útil de los alimentos de manera “natural” surge como alternativa prometedora películas y recubrimientos que están constituidos por finas capas de polímeros naturales biodegradables por lo que es una tecnología amigable con el medio ambiente que además responde la demanda actual de los consumidores hacia alimentos naturales, seguros y saludables (De Arcos et al., 2015). Una de las tecnologías más conocidas es la formación de películas en las que se puedan transportar diferentes materiales y/o sustancias de gran impacto en la vida útil de los alimentos. Además, los materiales pueden ser de forma nanoestructurada lo que les confiere propiedades diferentes, en este sentido las nanopartículas han resultado atractivas en el envasado de alimentos que mejoran la resistencia mecánica y propiedades de barrera, al estar cargadas con principios activos poseen actividades antimicrobianas y antioxidantes (González-Reza et al., 2018). El uso de timol como principio activo en la formación de nanopartículas se ha utilizado recientemente midiendo la estabilidad, permeabilidad al vapor de agua (Xiuxiu et al., 2020), actividad antioxidante (Lukic et al., 2020) cinética de liberación en películas (Torres et al., 2014) entre otros, de manera que en el siguiente proyecto de investigación se utilizó timol como principio activo para recubrimientos midiendo la cinética de liberación, eficiencia de encapsulación, tamaño de partícula, potencial z, para alargar la vida útil de diferentes alimentos.

2.3. Materiales

Para la preparación de las nanopartículas se emplearon polímeros y reactivos de la marca Sigma-Aldrich, Inc., Poly- ϵ -caprolactona ($\rho = 1.145$ g/mL a 25°C ; M_n 80,000; Timol ($P_M = 150.22$ g/mol, $\geq 98.5\%$, $P_v = 1$ mmHg a 64°C , soluble en etanol a 50 mg/mL); pectina cítrica (con ácido galacturónico $\geq 74\%$); Hidroxipropilmetilcelulosa ($\mu = \sim 15$ mPa*s en H_2O a 25°C); Glicerol ($P_m = 92.09$ g/mol, $\text{pH} = 5.5-8$, $\rho = 1.25$ g/mL a 20°C , $P_v < 1$ mmHg a 20°C). Acetato de etilo y todos los reactivos utilizados fueron grado analítico obtenido de Sigma-Aldrich, Inc (México)

2.4. Preparación de nanopartículas

Las nanopartículas fueron preparadas por el método de emulsificación- evaporación, consistente en dos fases una acuosa y otra orgánica inmiscible en agua, el principio activo y el polímero que formará la matriz de las nanopartículas se encontró en la fase orgánica (Lee et al., 2016), el principio activo utilizado fue el timol. Para la preparación de la fase orgánica se adicionaron 0.02 L de acetato de etilo con poli- ϵ -caprolactona (1 g/L), una vez disuelto se agregó a la dispersión timol (0.5 g/L). La fase acuosa se realizó vertiendo en 0.05 L de agua a temperatura de 70°C, 25 g de alcohol polivinílico con agitación. La formación de las nanopartículas se realizó con 0.04 L de fase acuosa y el total obtenido de la fase orgánica, posteriormente se realizó la emulsificación a través de un rotor-estator a 4000 rpm durante 10 min para lograr homogenizar la dispersión, se pasó a un rotavapor para eliminar del sistema nanoestructurado por arrastre de vapor el acetato de etilo.

2.5 Caracterización de nanopartículas.

2.5.1 Tamaño de partícula e índice de polidispersión

El tamaño de partícula y el índice de polidispersión fueron determinados por la técnica de dispersión dinámica de luz usando un Malvern Zetasizer Nano – ZS90 (Malvern® Instruments LTD, RU) con un ángulo de determinación a 90°. Un mililitro de cada dispersión con nanopartículas fue diluido hasta 10 mL con agua destilada para obtener una dispersión diluida. Las mediciones se hicieron por triplicado (Galdino-Pérez et al., 2018).

2.5.2 Potencial Z (ζ)

El potencial zeta fue determinado usando un Malvern Zetasizer Nano –SZ90 (Malvern® Instruments LTD, RU), basado en el movimiento electroforético de las partículas en dispersión, este parámetro indica el grado de repulsión entre las

partículas adyacentes. Las mediciones se realizaron por triplicado (González-Reza et al., 2018).

2.5.3 Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación fue determinada usando un método indirecto que se basa en cuantificar el compuesto activo no encapsulado, donde 2 mL de dispersión con nanopartículas fueron centrifugados a 13,000 rpm por 60 min para separar las nanopartículas y eliminar el estabilizante en el sobrenadante, al sedimento se le adiciono 1 mL de acetato de etilo para disolver el *timol* no encapsulado fue determinado usando un espectrofotómetro (Geneys- 105 UV-Vis Thermo Scientific, EEUU) a 290 nm. Las mediciones fueron realizadas por triplicado y la eficiencia de encapsulación se determinó con la siguiente ecuación (Galdino-Pérez et al., 2018):

$$EE\% = \frac{\text{mg Timol añadido} - \text{mg timol no encapsulado}}{\text{mg timol añadido}} * 100 \quad \text{Ec. (10)}$$

2.6 Preparación de sistemas formadores de película

En la preparación de los sistemas formadores de película se empleó hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) al 0.5% o pectina cítrica al 2%, estas se solubilizaron por separado en agua a 80°C con agitación magnética, se mantuvieron en refrigeración dejando reposar por 48 h para la total hidratación de los polisacáridos, hasta su uso para la formación de las películas. Las películas contenían concentración de 0.16 g/L de timol nanoestructurado, es decir, 0.008 L de dispersión con nanopartículas, adicionando 0.001 L de glicerol como plastificante y 0.0415 L de cada polisacárido, la dispersión se vertió sobre placas de teflón de 15 cm de diámetro con 0.050 L de dispersión a 25 °C dejando secar por 48 h sobre una superficie plana.

2.7 Cinéticas de liberación

Para el estudio de cinética de liberación se cortaron 3 cuadros de 1 cm² utilizando un molde y tijeras de cada una de las películas, se empleó como simulante tipo A (alimentos hidrofílicos) 10 mL de etanol. Se determinó la cantidad de timol liberada con un espectrofotómetro Genesys 10s a una longitud de onda de 280 nm, y se realizaron las mediciones por triplicado, midiendo cada hora durante 10 h para cada polisacárido, la determinación de timol liberado se realizó tomando 2 mL de etanol que se tomó del tubo de ensaye y se reemplazaron con nuevo etanol. El modelo de liberación de orden cero aplica generalmente para sistemas que no se disgregan y liberan lenta y constantemente el compuesto activo (Cascone, 2017), se considera que la velocidad de liberación es independiente a la concentración. La cinética de liberación de primer orden se utiliza para describir sistemas solubles que liberan el compuesto activo desde matrices porosas. Higuchi, desarrollo un modelo que estudia la liberación de compuestos activos a través de matrices semisólidas y sólidas, describiendo las partículas de compuesto activo dispersas en la matriz uniforme que se comporta como medio en difusión (Siepmann, 2011). El modelo descrito Korsmeyer-Peppas describen el fenómeno de liberación del compuesto activo en sistemas hidrofóbicos con la capacidad de formar poros durante la liberación (Cascone, 2017).

2.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron tratados para establecer las diferencias entre tratamientos a través de un análisis de varianza utilizado para comparar las varianzas entre las medidas de los modelos matemáticos y así determinar si existe alguna diferencia. De esta manera se implementó el análisis de los coeficientes de determinación (R^2), para determinar qué tan cerca están los datos entre sí y el modelo con valor más cercano a 1 es el que mejor se ajusta para los modelos estudiados, orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer y Peppas, de manera que

indica que el modelo explica toda la variabilidad de los datos de respuesta en torno a su media.

CAPITULO III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Caracterización de nanopartículas de timol

La incorporación de compuestos bioactivos naturales en soportes poliméricos permite administrar con mayor facilidad aceites esenciales o alguno de sus componentes como el timol de tal manera que protege el agente bioactivo con un mejor control de la liberación, logrando con ello potencializar su efecto durante el tiempo de almacenamiento de los alimentos, logrando así el incremento de la vida útil y contribuyendo a incrementar los tiempos de distribución y comercialización con la ventaja de provenir de productos naturales (Tonyali et al., 2020). A continuación, se muestran los resultados de la caracterización de los sistemas nanoestructurados en función al tamaño de partícula, índice de polidispersidad, potencial zeta y eficiencia de encapsulación, de tal manera que es posible evidenciar la encapsulación de la sustancia activa y sus propiedades con la finalidad de tener estructuras de talla nanométrica.

3.1.1. Tamaño de partícula e Índice de polidispersidad

La primer evidencia de formación de estructuras de talla nanométrica se determina en función al tamaño de partícula, de tal forma que en este trabajo se buscaron las condiciones de proceso que lograran reducción al mínimo el tamaño de partícula, siendo el índice de polidispersidad una forma de establecer la amplitud del tamaño de partícula en relación a una distribución normal, considerando que cuando esta $es \leq 0.3$ se tendrá una distribución de tamaños de partícula estrechos (Galindo-Pérez et al., 2018), es decir, que el tamaño de las partículas es aproximadamente igual, de tal forma que la determinación del tamaño de partícula indicará si los sistemas desarrollados corresponden a nanopartículas con tamaño menor a 1000 nm y de preferencia < 500 nm, esto para mayor estabilidad (Mora-Huertas et al., 2010, Zambrano-Zaragoza et al., 2018).

Para determinar el tamaño de partícula, la dispersión de la luz dinámica tiene en cuenta la variación de la intensidad de dispersión en el tiempo. Es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión (Foord et al., 1970).

En la Tabla 2, se muestra el tamaño de partícula e índice de polidispersidad de nanopartículas de timol, observándose que corresponde a una distribución monomodal con un solo pico con tamaño de partícula promedio de 360.5 ± 91.96 nm e intensidad del 21.1%, lo que implica que las muestras tuvieron un tamaño < 500 nm con lo que se incrementa la probabilidad de interacción con los componentes de un alimento cuando estas sean utilizadas para lograr la conservación de estos, logrando distribuirse más homogéneamente e incrementando así el efecto antimicrobiano y/o antioxidante (Pharm et al., 2017), este comportamiento se visualiza en la Figura 5, observándose que el tamaños de partícula corresponde a un comportamiento que se puede atribuir a una distribución que evidencia la formación de un sistema nanoestructurado con un índice de polidispersidad de 0.148 lo que implica que las partículas presentan una distribución normal y estrecha, como podemos observar, las muestras 2 y 3 resultaron sobrepuestos, con el mismo tamaño de partícula y la misma intensidad, cabe mencionar que cuanto más estrecho es el pico del tamaño de partícula (amplitud de grafica), el tamaño de las nanopartículas son similares entre sí. En este sentido Pharm et al. (2017) aseguran que el tamaño de partícula está relacionado con la concentración de emulsionante, de manera que a cantidades bajas de emulsionante hay una disminución de la viscosidad lo que provoca gotas mínimamente agregadas, caso contrario a cantidades de emulsionante que aporten viscosidad a los sistemas, por otro lado, la influencia de la agitación en la emulsificación puede provocar el fenómeno “maduración de Ostwald” cuando no se realiza a condiciones de proceso adecuadas, provocando sistemas con tamaños de partícula no homogéneos; sin embargo, como se observó en los resultados en este trabajo no ocurrió el fenómeno de Oswald y por ende se asegura que el método de emulsificación- evaporación dio como resultado partículas de tamaño nanométrico, el uso del emulsionante en la concentración utilizada, favoreció a la formación de los sistemas nanoestructurados.

Tabla 2. Tamaño de partícula e índice de polidispersidad de nanopartículas de timol

Tamaño de Partícula (nm)	360.5 ± 91.96
IPD (-)	0.148

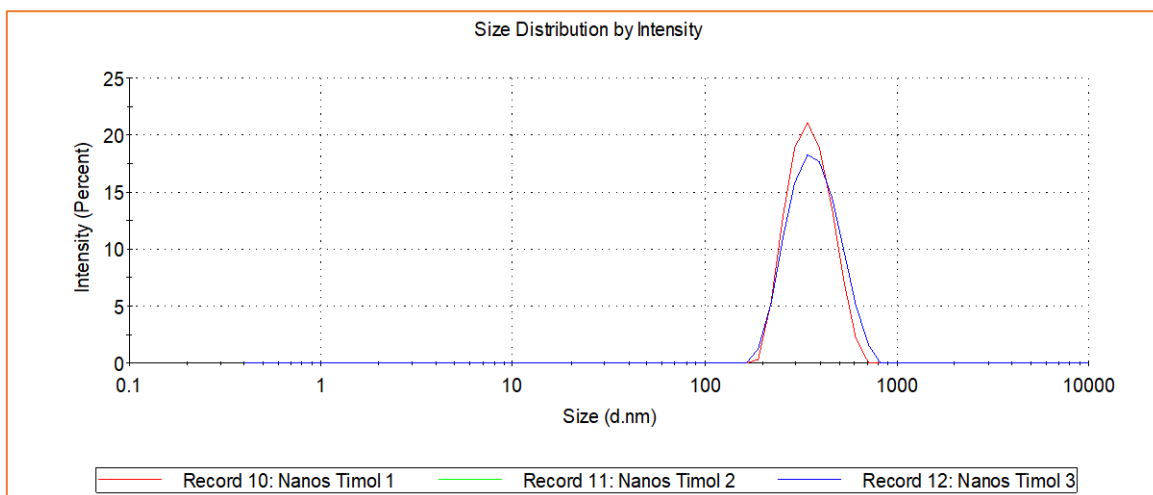


Figura 5. Tamaño de partícula nanopartículas de timol.

Los resultados obtenidos empleando poli- ϵ -caprolactona coinciden con los reportados por Çakir et al. (2020) quienes desarrollaron nanopartículas de quitosano funcionalizadas con timol que mostraron tamaños de partícula de 354 nm y que se atribuyeron a la proporción de emulsificante empleado, con lo que se asevera que el polímero biodegradable es capaz de incorporarse en el desarrollo de sistemas de envasado de alimentos (Çakir et al. 2020). Por otro lado, Tonyali et al. (2020) quienes encapsularon aceites esenciales como el timol con soluciones salinas encontraron que tamaños de partícula promedio de 190 ± 10 nm resaltando que estos mostraron un comportamiento monomodal, por otro lado Salgado y Abugoch (2019) en su trabajo con nanopartículas de quitosano cargadas con timol como compuesto activo, obtuvieron 287.2 ± 10.6 nm, logrando tamaño nanométrico, demostrando de la misma forma, se obtuvo un tamaño de partícula estrecho (tamaños de partícula precisos), los valores de tamaño de partícula son afectados por la aplicación de energía mecánica, variaciones en tiempo de tratamiento, concentración de compuesto bioactivo, así como de la temperatura a la que se

realizaron los sistemas (Lang et al., 2008; Fan et al., 2012). Guiyun et al. (2021) en la incorporación de nanopartículas de zeína/timol para formar un recubrimiento con gelatina como polisacárido de soporte reporta tamaños de partícula de 300 ± 100 nm, mostrando estructura esférica y sin separación de fases, con comportamientos semejantes a los obtenidos en este trabajo.

De acuerdo con Marcet et al. (2018) en la producción y caracterización de nanopartículas de PLA cargadas con timol, obtuvieron tamaños de partícula de 240 ± 20 nm, asegurando que en cuanto mayor es la concentración del polímero en la fase orgánica, mayor es el tamaño medio de las nanopartículas obtenidas, este fenómeno se debe al aumento de la viscosidad, atribuido que aportan los polímeros al formar moléculas grandes, es decir, que se asegura que cuando un sistema tiene una mayor viscosidad, se tendrán tamaños de partículas mayores. Cuando el tamaño de partícula tiene valores aproximados entre sí y el polímero utilizado aporte viscosidad al sistema. El método de emulsificación es el factor clave para la dispersión adecuada de la fase orgánica.

Resultados similares con respecto a este comportamiento monomodal fueron reportados por Médelin-Marques et al. (2016), para la preparación de nanopartículas lipídicas cargadas con carotenoides por la metodología emulsión-evaporación, reportando el mismo comportamiento monomodal con intensidad de 17%. Cuadros-Moreno et al., (2014), describen en su trabajo con el uso de quitosano y timol como compuesto activo, resultados bimodales y trimodales, asegurando que estas diferencias se obtienen debido a factores como; interacciones de los polímeros dadas por los tratamientos previos a la formación de las nanopartículas como la hidratación, así como la cantidad de compuesto bioactivo no encapsulada mismo que se mantienen suspendido en la solución.

En la Tabla 2 se muestra el valor de índice de polidispersidad obtenido para las nanopartículas preparadas y funcionalizadas con timol, con un valor de 0.148 indicativo de un sistema estable con una distribución de tamaño estrecha y con comportamiento monomodal, estos resultados coinciden con los reportados por

Salgado et al. (2019) en la preparación de nanopartículas de quitosano-timol quienes reportaron índices de polidispersidad <0.4 ; por otro lado, Zambrano-Zaragoza et al. (2011) en su trabajo sobre la optimización la preparación de nanopartículas por el método de emulsión-difusión preparadas con poli- ϵ -caprolactona y aceite de girasol, β -caroteno o α -tocoferol, ellos reportaron índices de polidispersidad de entre 0.03 a 0.15 después de una homogenización en un sistema similar al empleado en la preparación de las nanopartículas que aquí se reportan, de tal manera que es posible establecer que el método de emulsificación- evaporación funciona para la preparación de nanopartículas poliméricas cargadas con timol, dando como resultado sistemas de talla nanométrica.

El uso de alcohol polivinílico (PVA) influye de manera directa en el tamaño de partícula por sus cadenas hidrocarbonadas que se agregan a la superficie, generando estabilización por efecto estérico como lo mencionan Piorkowshi & Mc Clements (2014). De esta manera el tamaño de partícula e índice de polidispersidad constituyen evidencia de la estabilidad del sistema de nanopartículas porque indica cómo se distribuyen las partículas en medio acuoso, la composición del sistema se ve afectado positivamente por el uso de agentes estabilizantes en la formulación.

3.1.2. Potencial zeta (ζ)

El ζ es una medida de magnitud de la repulsión o atracción electrostática entre las partículas, generalmente se conoce como el potencial electrostático en sistemas coloidales. En la Tabla 3 se muestra el potencial zeta para nanopartículas de timol, estas tienen un valor de -16.7 mV. En la Figura 6, se muestra la distribución del potencial zeta durante la medición asociada al movimiento electroforético de las partículas, observándose un solo pico de medición.

El ζ se indica como el potencial eléctrico en el borde de la doble capa eléctrica frente al potencial eléctrico general. En los sistemas coloidales, el potencial ζ se usa ampliamente como indicador para reflejar la estabilidad, de acuerdo con Morfesis,

et al. (2009) el valor óptimo para mayor estabilidad reflejado por potencial zeta es igual a 0 y entre más cercano este se asegura estabilidad del sistema. Los valores de potencial ζ altos están asociados con fuertes repulsiones electrostáticas entre partículas coloidales, lo que simultáneamente evita que las partículas se agreguen.

Tabla 3. Potencial zeta para nanopartículas de timol

Potencial zeta (mV)	-16.7 ± 7.14
----------------------------	------------------------------------

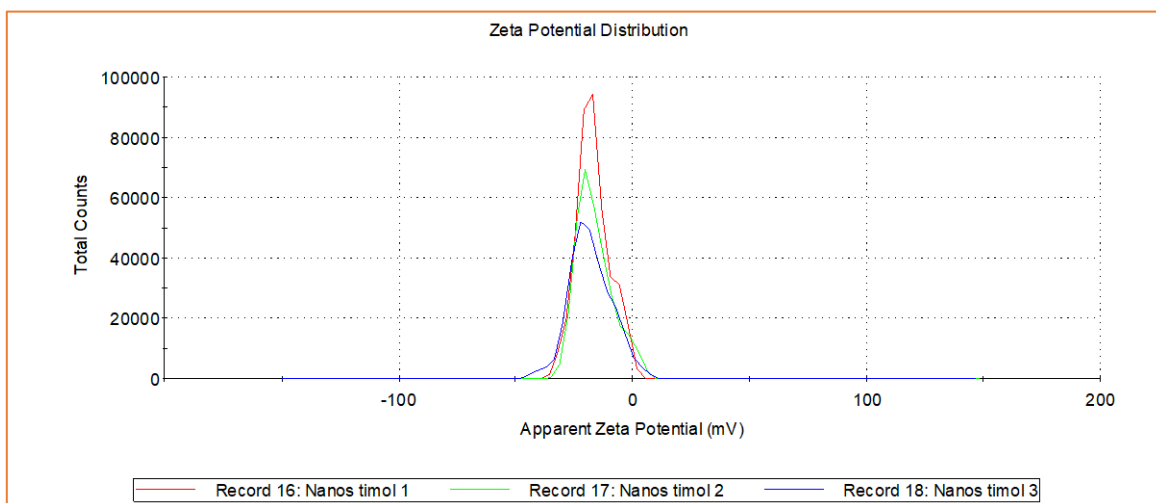


Figura 6. Potencial zeta en muestras de nanopartículas de timol.

De esta manera, el potencial zeta es importante ya que indica la carga superficial de las partículas, reflejando la interacción de las partículas entre sí (Lee & Moon, 2004). La determinación del potencial zeta de -16.7 ± 7.14 mV indica que existió una repulsión media entre las partículas lo que es otro indicio de que con ello se evita la agregación del sistema (Galindo-Pérez et al., 2018; Mozafari et al., 2013). Los valores negativos de potencial zeta obtenidos en este estudio son una consecuencia de la relación PCL-estabilizante, donde la PCL contribuye a la carga negativa de las partículas debido a los grupos carboxilo terminales encontrados en las cadenas poliméricas (Mora-Huertas et al., 2010).

De manera que los valores más alejados a cero indican mayor estabilidad de las partículas en dispersión debido a la repulsión electrostática superficial (Retamal et al., 2017), sin embargo, esto depende de la naturaleza química y la concentración del polímero y los estabilizantes (Moras-Huertas et al., 2010). En general, las partículas con valores mayores de potencial zeta $|30|$ mV se consideran estables (Sullivan et al., 2018), por lo tanto, son menos sensibles a la aglomeración y a la fuerza de desestabilización como las fuerzas de Van der Waals, el movimiento browniano o las interacciones partícula-partícula considerando siempre la concentración del estabilizador.

Galdino-Pérez et al. (2018) en la elaboración de nanopartículas cargadas con compuestos activos por el método de emulsificación-difusión con poli- ϵ -caprolactona describe que con valor máximo de -20 mV se encontraron los sistemas de nanopartículas eléctricamente estables, ya que el valor absoluto de potencial zeta indica grado de repulsión entre partículas adyacentes. Por otro lado, Moras-Huertas et al. (2010) afirmaron que, los valores de potencial zeta inferiores a -10 mV, permite predecir una buena estabilidad coloidal debido a la barrera de alta energía entre las partículas. Los valores negativos pueden explicarse en el caso de PCL por su naturaleza hidrofóbica, en consecuencia, las cadenas del tensoactivo interactúan con las regiones hidrofóbicas de la pared de PCL y la cabeza del tensoactivo frente a la fase acuosa, lo que induce valores de potencial zeta negativos en función de su naturaleza química (Joo et al., 2008).

3.1.3. Eficiencia de encapsulación (EE)

La EE define la cantidad del compuesto que fue cargado, relacionada con la concentración inicial utilizada. En la Tabla 4, se muestran los resultados de eficiencia de encapsulación de timol, el resultado mostrado corresponde al porcentaje que se encapsulo en esta experimentación, siendo un parámetro de suma importancia para evaluar sistemas nanoparticulados empleados como sistemas de liberación de compuestos activos. En alimentos es importante considerar el activo encapsulado ya

que contribuye a incrementar la vida útil del producto al liberarse durante el almacenamiento (Zambrano-Zaragoza et al., 2017).

Tabla 4. Eficiencia de encapsulación de timol

Nanopartículas	Concentración (mg/L)	Eficiencia de encapsulación (%)
Muestra 1	666.88	66.68
Muestra 2	667.51	66.75
Muestra 3	667.58	66.76
<i>x</i>	667.32	66.73
Σ	0.3855	0.043
C.V %	5.78	4.32

La eficiencia de encapsulación fue de 66.7 ± 4.3 , el resto del compuesto bioactivo se fue en la fase continua, sin embargo este porcentaje de encapsulación sigue siendo mayor a el valor reportado por Gong et al. (2021) describiendo valores en su estudio realizado con nanopartículas de zeína y diferentes concentraciones de timol reportan un máximo de $60.7 \pm 3.56\%$ de encapsulación; explicando la importancia del uso de polímeros en la eficiencia de encapsulación radica en retrasar eficazmente la volatilidad del timol durante el almacenamiento.

Salgado-Ramírez & Abugoch (2019), en el sistema de nanopartículas de quitosano cargado con timol como compuesto activo por el método pulverización-congelación, reporta eficiencia en encapsulación 37 ± 0.91 así como 56.53 ± 0.31 por el método gelificación iónica, de manera que se demuestra que la eficiencia de encapsulación en éste sistema es mayor ya que de acuerdo con lo reportado aun aplicando dos métodos se obtienen resultados con menor eficiencia de encapsulación que en este trabajo lo que contribuye a que el sistema mantenga propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antifúngicas por tiempos más prolongados.

Por otro lado, Nobeta (2014) trabajó la encapsulación de timol en nanopartículas mediante el método de pulverización-congelación en líquido de las soluciones, obtuvo un valor de eficiencia de encapsulación igual a 49.78%, explicando que los valores bajos obtenidos son producto de la pérdida de timol durante el proceso de elaboración, lo que indica que el método de emulsificación- evaporación es un método eficaz para la encapsulación de compuestos activos. Resultados similares fueron reportados por Çakır et al (2020) en nanopartículas de quitosano cargadas con timol, con 66.4% el tratamiento con mayor eficiencia de encapsulación, dicho valor es relacionado con baja viscosidad del sistema, ya que al aumentar la viscosidad se forma un gel suave, que afecta la eficiencia de encapsulación disminuyendo la capacidad de atrapamiento de timol, demostrando que la eficiencia de encapsulación alcanzada fue mayor para el sistema nanoestructurado estudiado, Wang et al., (2022) donde los valores de eficiencia de encapsulación oscilan entre $24.56 \pm 9.34\%$, Macet et al. (2018) en la producción y caracterización de nanopartículas de PLA cargadas con timol reporta que a valores de eficiencia de encapsulación menores a 40% se debe a proporciones pequeñas de polímero, ya que produce nanopartículas de intensidad interna baja y alta porosidad, siendo incapaces de retener el timol.

Por otro lado, Galdino-Pérez et al. (2015) alude que la adición de poli- ϵ -caprolactona a la formación de las nanopartículas aumenta sustancialmente la eficiencia de encapsulación ya que demostró visualmente que la presencia de PCL forma una película lisa alrededor de las nanopartículas que contiene el compuesto activo.

3.2. Espesor de las películas

Las películas comestibles pueden ser consideradas envases activos ya que pueden incorporar en la matriz polimérica aditivos naturales como antimicrobianos, antioxidantes, reafirmantes de la textura, nutrientes o ingredientes bioactivos con el objetivo de incrementar la seguridad y las características sensoriales, nutricionales y funcionales, tal es el caso de los sistemas nanocompuestos funcionalizados con timol para la formación de películas formuladas con pectina cítrica e HPMC. En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos del espesor de las películas formadas, que es

un parámetro importante en el estudio de fenómenos de difusión y función de recubrimientos y películas comestibles.

Tabla 5. Espesor de películas cargadas con timol

Medición	Espesor (mm) película con HPMC	Espesor (mm) película Pectina
1	0.039	0.111
2	0.041	0.111
3	0.043	0.111
4	0.041	0.110
5	0.041	0.111
6	0.041	0.111
7	0.041	0.111
8	0.043	0.111
9	0.045	0.111
10	0.041	0.111
11	0.041	0.111
12	0.041	0.112
13	0.041	0.111
\bar{x}	0.0415	0.111
Σ	0.0015	0.0003
% CV	3.5	0.35

En la Tabla 5, se observan variaciones en el espesor de las películas como una función del tipo de polisacárido matriz empleado, siendo mayores en las películas preparadas con pectina cítrica, tal como Nadjat et al., (2021) explican, el espesor de las películas

con pectina es mayor debido al contenido de sólidos atrapados en la matriz del polisacárido, es decir, la pectina sufre un hinchamiento y atrapa mayor contenido de agua, en comparación al HPMC, donde su estructura permite que el agua este mas disponible para evaporarse al formar las películas. Así, la variación en el espesor de un material puede afectar sus propiedades mecánicas y de barrera, comprometiendo el rendimiento del embalaje (Sarantoulos, 2002).

Trujillo-Rivera (2014) en su trabajo con películas biodegradables a partir de almidón, menciona que una variante que modifica el espesor en las películas es el uso de glicerol como plastificante gracias a sus interacciones, de la misma manera Shimazu et al. (2007) reportan espesores de tamaño de 0.07 mm cuando en la formulación no se utilizó plastificante, mientras que al adicionarlo las películas el valor aumenta a 0.1 mm, así mismo Vazquez-Briones, Guerrero-Beltrán (2017), determinaron que el espesor de las películas se incrementó al incrementar la concentración de plastificante obteniendo valores de 0.1 mm.

La mayoría de las películas comestibles son de naturaleza hidrofóbica y se ha encontrado una relación dependiente positiva entre la permeabilidad al vapor de agua y el espesor de las películas (Genadios et al., 1993), el espesor de la película tiene especial relación con la viscosidad de los polisacáridos debido a que gradualmente se hincha y se va formando partículas gelificadas, al tener diferente viscosidad siendo mayor o menor capacidad de retención de agua dentro de la película al secarse (Garín et al., 2012).

McHugh et al. (1993) consideraron que a medida que el espesor de la película aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, de ahí la importancia de regular el espesor de película. Por otra parte, los polisacáridos utilizados para la elaboración de las películas tienen diferente capacidad de ligar agua dentro de ésta, de manera que al ser diferente cada uno tiene capacidad para permitir una salida de agua durante el secado de la película y por consiguiente una diferencia en el espesor (García-Figueroa et al., 2019). El espesor de la película es un factor importante en el intercambio de agua y de gases con el ambiente. El control

en el espesor de la película permite entonces aumentar o disminuir la tasa de difusión (Pavlath & Orts, 2009).

3.3. Cinéticas de liberación

Existen diversos modelos cinéticos que describen la liberación de compuestos activos, éstos de acuerdo con las diferentes formulaciones puede afectar la manera de liberación del compuesto, así como su rendimiento (Jiménez, 2017), de manera que para describir los modelos de liberación se utilizan diferentes modelos que describen el perfil en difusión y/o liberación del compuesto activo desde la matriz del recubrimiento, lo que permite evaluar los perfiles dependiendo de los parámetros derivados del mismo. Entre los modelos se incluyó el modelo de cinética de orden cero, modelos de cinética de primer orden, modelo de cinética de Higuchi, y modelo Korsmeyer y Peppas (Dash et al., 2010).

La selección del material de la pared, el compuesto activo a encapsular y la matriz de soporte para desarrollar el recubrimiento comestible está directamente relacionada con la cinética de liberación del compuesto contenido en la matriz formadora (normalmente con polímeros), otra consideración importante son las diferentes barreras que la sustancias bioactiva debe atravesar para interactuar con la superficie del alimento y cumplir la función principal de aumentar la vida de anaquel manteniendo las características y/o propiedades, de manera que el establecimiento y estudio de la cinética de liberación de materiales bioactivos funcionalizados es nanoestructuras es de gran importancia ya que permite analizar la cinética y relacionarla con el aumento de la vida útil (Dan, N. 2016).

En la cinética de liberación se debe tener en cuenta parámetros como la humedad, la temperatura, pH y el hinchamiento de la matriz, entre otras condiciones que pueden afectar la difusividad de las sustancias (Quirós-Sauceda et al., 2014), la liberación controlada de compuestos activos a partir de una matriz polimérica depende de muchos parámetros como la movilidad de las moléculas, que viene determinada por el tamaño de partícula, el peso molecular y la geometría de los compuestos (Quirós-

Sauceda et al., 2014), otros parámetros importantes que controlan la liberación de los compuestos son su solubilidad, difusividad a través de la matriz en pH, la temperatura, la estructura del polímero, la viscosidad, la tensión mecánica, el tiempo de contacto y si es el caso, la composición del alimento (Huang, Li, Zhou, 2015)

3.3.1. Cinéticas para HPMC

En la Figura 7, se observa la cinética de liberación en función al porcentaje acumulado de timol liberado, observamos que la liberación de timol se da con velocidad rápida en las primeras horas y posteriormente disminuye el porcentaje de timol liberado, es decir, es más lenta. Por lo anterior, el sistema mantuvo una liberación sostenida en las primeras horas y posteriormente la liberación fue constante.

En las primeras horas se observa una liberación sostenida, donde la tasa de liberación alcanza 35.4 % y en esta primera etapa puede implicarse la difusión del timol unido a la superficie de las partículas, en la segunda etapa la tasa de liberación disminuyó significativamente en comparación con la liberación inicial; finalmente se encontró una proporcionalidad donde la concentración total de timol liberada en esta fase fue de 39.4 % y conforme el sistema encontró el equilibrio osmótico, la liberación permaneció constante. Lo anterior se puede explicar con base en lo planteado por Wang et al. (2022) en su estudio con nanopartículas de quitosano cargadas con timol, encontrando valores de liberación inicial de 17.4 % y liberación total de 38.4 %, donde las películas de celulosa con timol disminuyeron su velocidad en la segunda etapa por resultado de la difusión del timol entre las nanopartículas y la disminución del gradiente de concentración. Para el caso de las películas formuladas con de HPMC como polímero matriz, se obtuvo en esta experimentación, velocidad de liberación de 0.187 h^{-1}

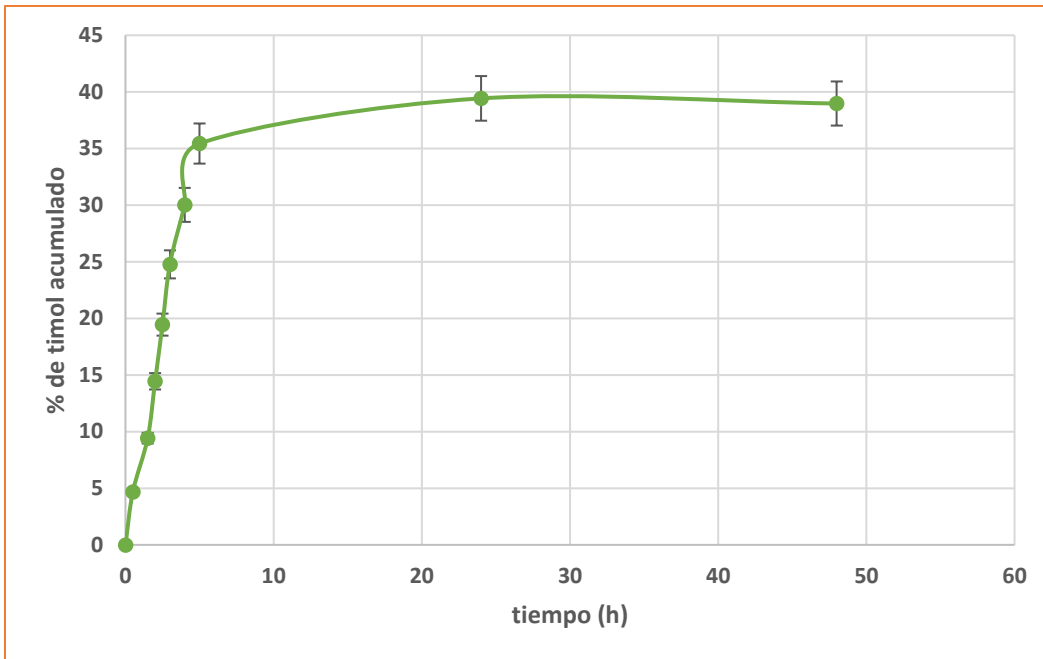


Figura 7. Cinética de liberación de timol desde película de HPMC.

3.3.1.1 Cinética de orden cero HPMC

La liberación de orden cero es aquella en la que el compuesto activo se libera a una velocidad constante, la liberación de orden cero se describe en la Figura 8, donde se observa un comportamiento en la liberación de manera casi lineal lo que es un indicador de que el polisacárido que rodea las nanopartículas cargadas con timol permite que el compuesto activo se difunda a través de las redes del polisacárido produciendo una liberación constante, es decir, la fracción de soluto que se libera es proporcional al tiempo transcurrido.

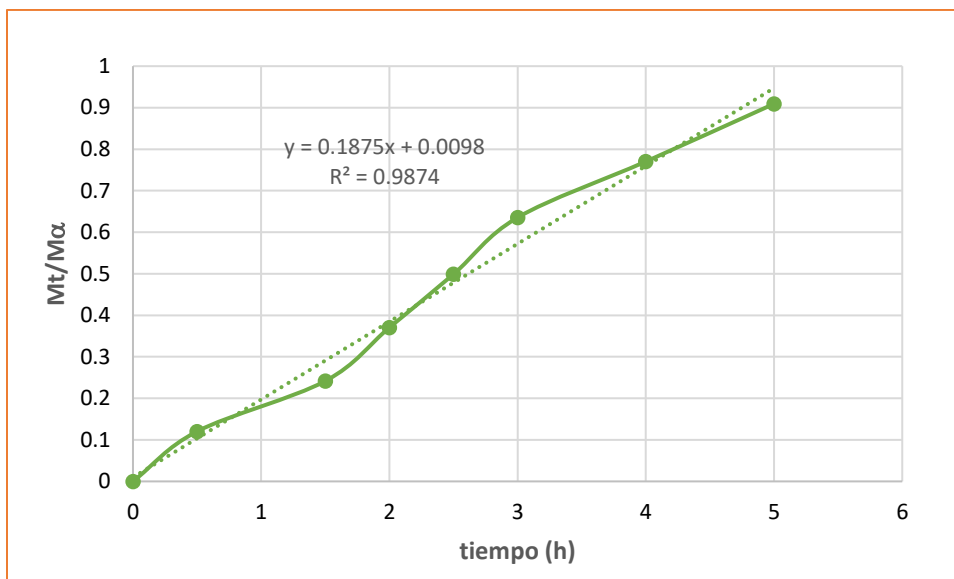


Figura 8. Cinética de orden cero HPMC.

Conforme al valor obtenido por el coeficiente de correlación (R^2), describe al sistema conforme al modelo de liberación orden cero, en el que se asegura que la de liberación de timol está relacionado al hinchamiento del polisacárido, es decir, que la matriz polimérica inicialmente se encontró en estado cristalino, sufrió una transición vítrea y se formó un hidrogel, que a su vez se relaciona con la mayor distancia que tiene que recorrer el timol dentro de la matriz para su liberación.

3.3.1.2 Cinética de primer orden HPMC

En la Figura 9, se observa que el valor de correlación es lejano a 1, por lo que este mecanismo no describe a la liberación del compuesto activo, es decir, que el compuesto depende de la concentración de este en el sistema, esto, de acuerdo con Chávez et al. (2022), se puede atribuir al uso de plastificante y éste le confirió mayor resistencia a la pared nanocapsular, con lo que se retrasó la ruptura de dicha pared polimérica.

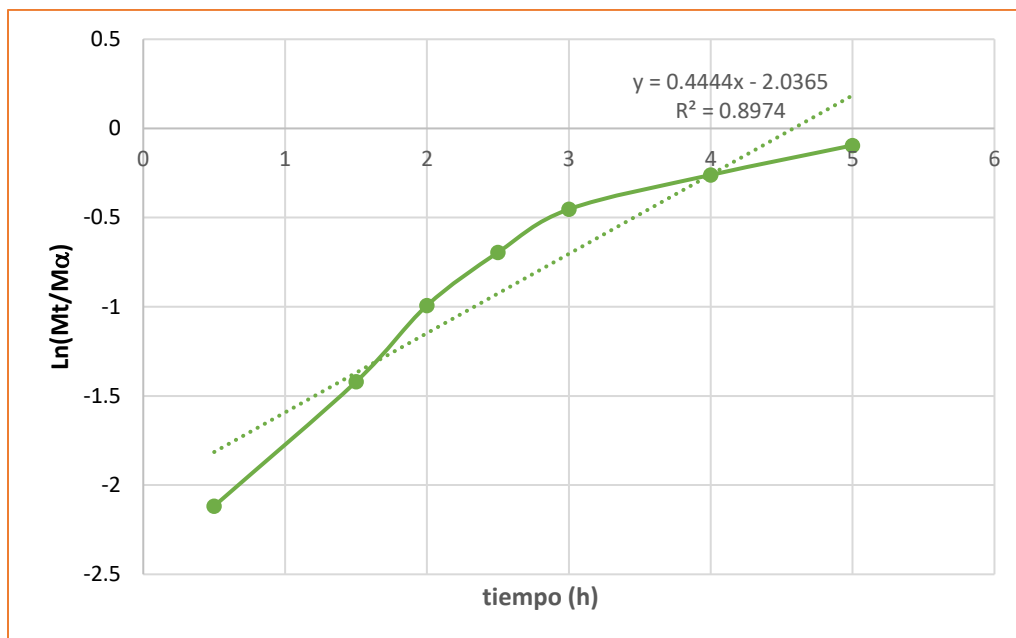


Figura 9. Cinética de primer orden HPMC.

Éste modelo de liberación, no se ajusta al modelo matemático conforme al valor obtenido de R^2 , ya que se requiere que el timol sea liberado de manera proporcional a la cantidad de timol que está en el interior de la matriz polimérica, Dash et al. (2010) mencionan que el modelo matemático debe contener agentes bioactivos en matrices porosas (ya sea poliméricas) y que puedan sufrir hinchamiento, y aunque se cumplen estas características en la formulación de las películas, la liberación no fue proporcional a la cantidad de timol agregada inicialmente.

3.3.1.3 Cinética Higuchi HPMC

La Figura 10, postula que la difusión se lleva a cabo en una sola dimensión; que la disolución y el hinchamiento de la matriz son despreciables, en este sentido, el valor de correlación nos describe compuesto activo poco soluble en medios acuosos.

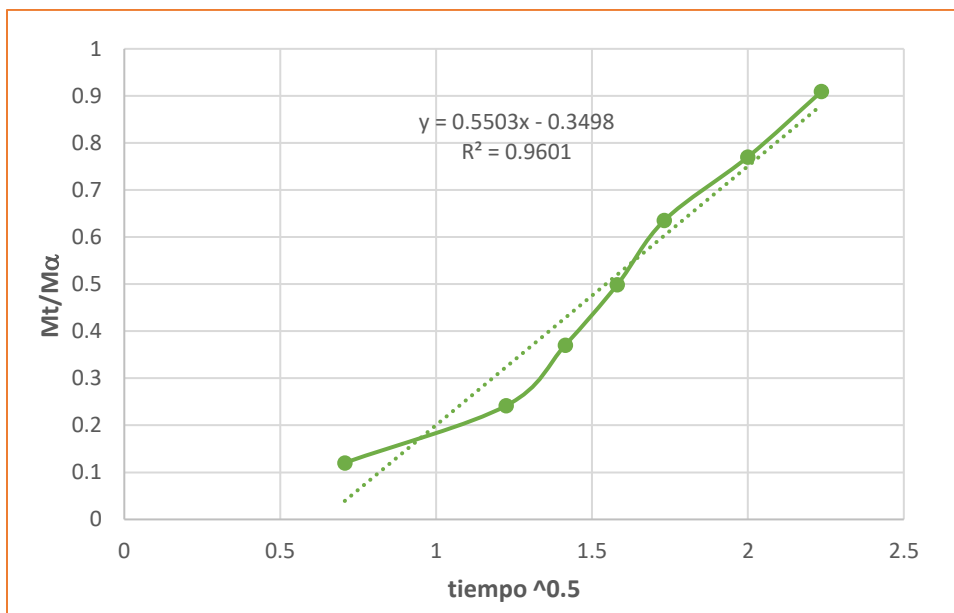


Figura 10. Cinética Higuchi HPMC.

Para que o modelo de Higuchi se apegue a um coeficiente de correlação próximo a 1, deve cumprir com características como: liberação dos compostos ativos, para este caso timol, deve ocorrer devido à ação de difusão, que é proporcional à raiz quadrada do tempo. Observamos que o modelo não se ajusta porque, nas primeiras horas, a fração de timol liberado não é proporcional ao tempo.

3.3.1.4 Korsmeyer y Peppas HPMC

Tal como se mostra na Figura 11, se mostra que o ajuste do modelo se associa ao mecanismo de liberação do composto ativo realizado a partir de erosão e/ou dissolução da matriz. Este modelo matemático é amplamente utilizado em sistemas nanoestruturados poliméricos.

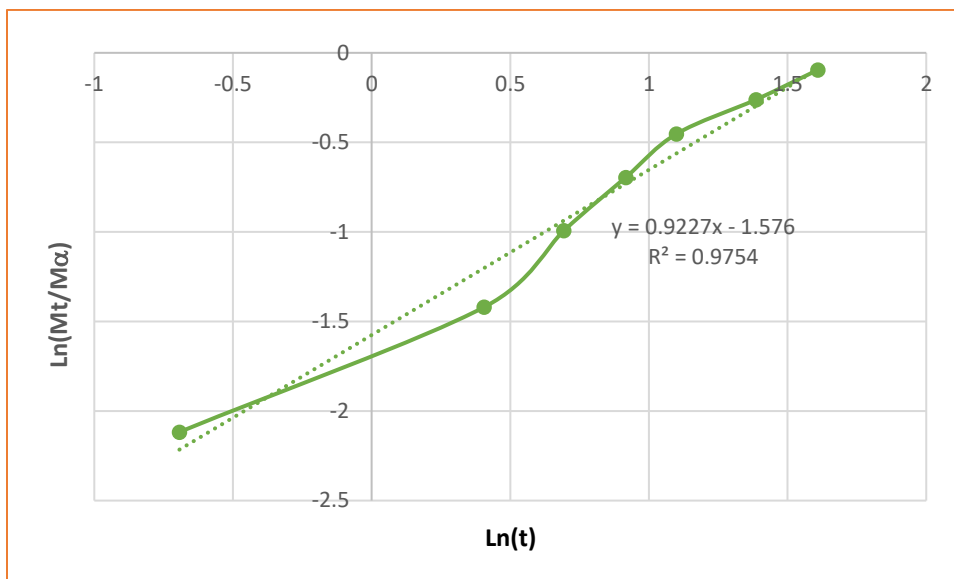


Figura 11. Cinética Korsmeyer y Peppas HPMC.

Para este modelo matemático, el valor de “n”, igual a 0.922, indicando un mecanismo de liberación descrito por la ley de Fick (no Fickiano), es decir, se atribuye a la existencia de fenómenos de relajación lentos y está relacionado con los tiempos finitos que necesitan las cadenas del polisacárido, para responder a la presión de hinchamiento osmótico y ordenarse, con el fin de acomodar las moléculas del disolvente que penetra en el sistema.

3.3.2 Cinéticas para pectina

En la Figura 12, se observa la cinética de liberación en función al porcentaje acumulado de timol liberado, observamos que, como en la cinética de liberación con HPMC, sucede la misma forma de liberación. en la pectina la liberación de timol se da con velocidad rápida en las primeras horas y posteriormente disminuye el porcentaje de timol liberado, es decir, es más lenta.

En las primeras horas se observa una liberación proporcional, donde la tasa de liberación alcanza 29.5 % y en esta primera etapa puede implicarse la difusión del timol unido a la superficie de las partículas, en la segunda etapa la tasa de liberación disminuyó significativamente en comparación con la liberación inicial; finalmente

se encontró una proporcionalidad donde la concentración total de timol liberada en esta fase fue de 30.2 %. Observándose que las nanopartículas de timol en matriz de pectina tienen menor velocidad de liberación en comparación con las de HPMC con valores de 35,4 % y 39.4 % respectivamente. La liberación de un compuesto de bajo peso molecular a partir de una red polimérica se considera resultado de difusión, relajación y contra difusión. Observamos que la liberación se mantuvo sostenida hasta el que el sistema encontró el equilibrio osmótico, posterior a eso, se mantuvo una liberación constante.

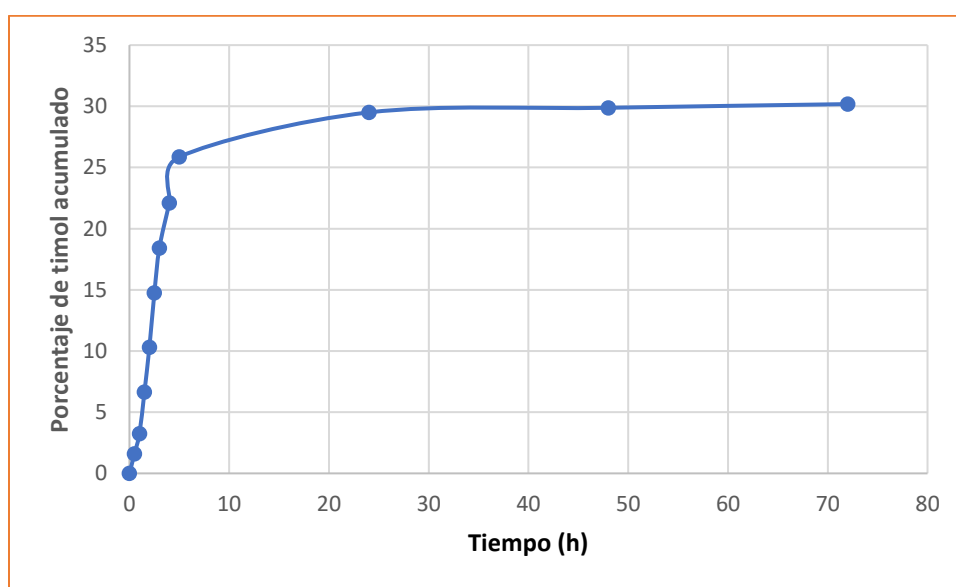


Figura 12. Cinética de liberación de timol desde película de pectina.

La cinética de liberación depende de la morfología, la naturaleza y la interacción con el medio que determina la absorción de agua y la erosión del portador (Holy et al., 1999), el estudio de mecanismos de liberación proporciona información cuantitativa sobre la tasa de migración del compuesto bioactivo con la matriz del polímero y el medio de contacto (Pilati et al., 2013). La liberación del componente activo desde la cadena polimérica en el líquido circundante puede implicar tres diferentes formas de liberación: difusión del líquido en el polímero, difusión del componente activo por hinchamiento del polímero y erosión del polimérico al degradarse (Milovanovic et al., 2016). Cabe señalar que para el modelo de orden cero, la velocidad de difusión es proporcional al tiempo, y es independiente de la concentración de compuesto

activo, para el modelo de primer orden, la velocidad de difusión en función de la concentración del compuesto activo, en el modelo de Higuchi, la liberación depende de algunos factores como el peso molecular, la solubilidad en la matriz polimérica, el área superficial y la geometría y para el modelo de Korsmeyer –Peppas el valor de n describe el mecanismo de liberación del compuesto activo.

3.3.2.1 Cinética de orden cero en pectina

La cinética de liberación de orden cero para la pectina se muestra en la Figura 13, debe estudiarse aplicando regresión lineal ya que, el modelo está propuesto para describir la liberación del compuesto activo en el que la velocidad es constante en el tiempo, se observa en la Figura 13, que la liberación a pesar de no ser constante, se apega a valores cercanos a 1, el valor de 0.9795, es debido a que la fracción de compuesto activo liberado no fue proporcional al tiempo en las primeras horas, al paso de la tercer hora, sufre nuevamente un aumento de liberación.

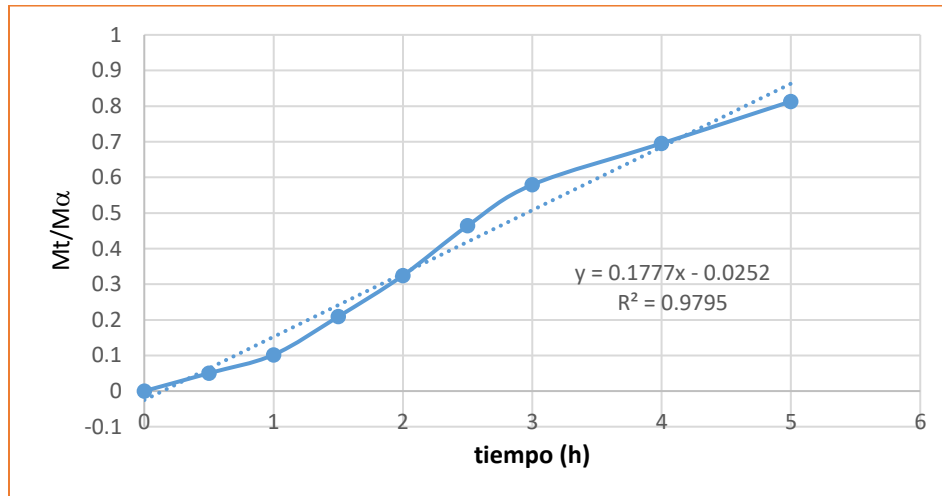


Figura 13. Cinética de liberación de timol desde película de pectina.

Podemos observar que la liberación del compuesto activo en la cual el coeficiente de correlación es menor al de HPMC, se explica por factores como la hidratación, gelificación e hinchamiento que estuvieron involucrados en el proceso para cada uno de los polisacáridos.

3.3.2.2 Cinética primer orden pectina

En la Figura 14, se observa que el modelo para la cinética de liberación de primer orden no se ajusta, esto en base al valor del coeficiente de correlación, el cual no es cercano a 1, tal como en el caso de HPMC, el uso de plastificante influye en la ruptura de la red polimérica para la liberación del compuesto activo.

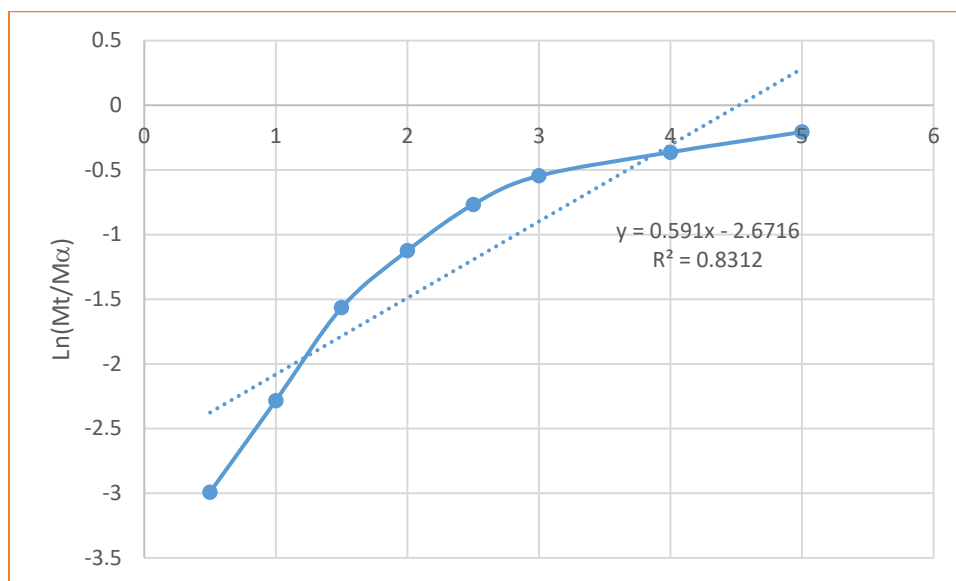


Figura 14. Cinética de primer orden en pectina.

En la cinética de primer orden no se ajusta a la cantidad de timol liberado ya que no se apega a una liberación proporcional al tiempo. Este modelo sugiere que las matrices porosas, logran liberación constante, de acuerdo con Álvarez & Huenchuñir (2008) al graficar aplicando \ln disuelto contra el tiempo, se obtiene una recta.

3.3.2.3 Cinética Higuchi pectina

La Figura 15, revela que la disolución de la matriz es despreciable, en este sentido, el valor de correlación nos describe compuesto activo poco soluble en medios acuosos.

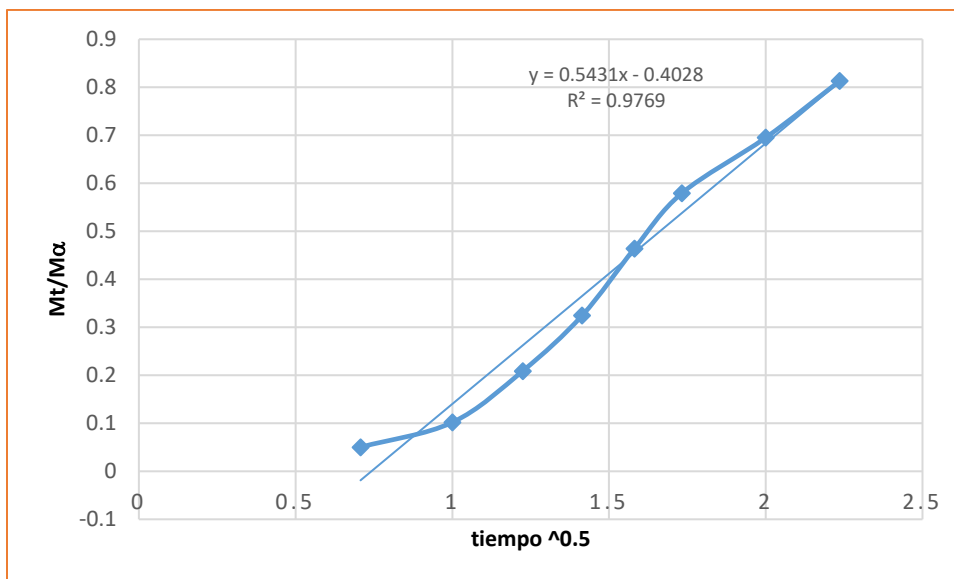


Figura 15. Cinética Higuchi en pectina.

El modelo planteado por Higuchi, indica que la liberación del compuesto activo sólo ocurre desde una de las caras de las películas y para su estudio, se aplicó el inverso de la raíz cuadrada al tiempo. Los resultados denotan no se apega a este modelo de liberación ya debe difundirse por medio de liberación controlada en un proceso de difusión y se aplica a matrices granulares con la correlación de tiempo.

3.3.2.4 Korsmeyer y Peppas Pectina

En la Figura 16, muestra una correlación de 0.9872, de esta manera se sugiere que la liberación es controlada por la relajación de las cadenas poliméricas generando penetración del medio de disolución en la matriz formando poros y erosionándola (Yarce et al., 2016).

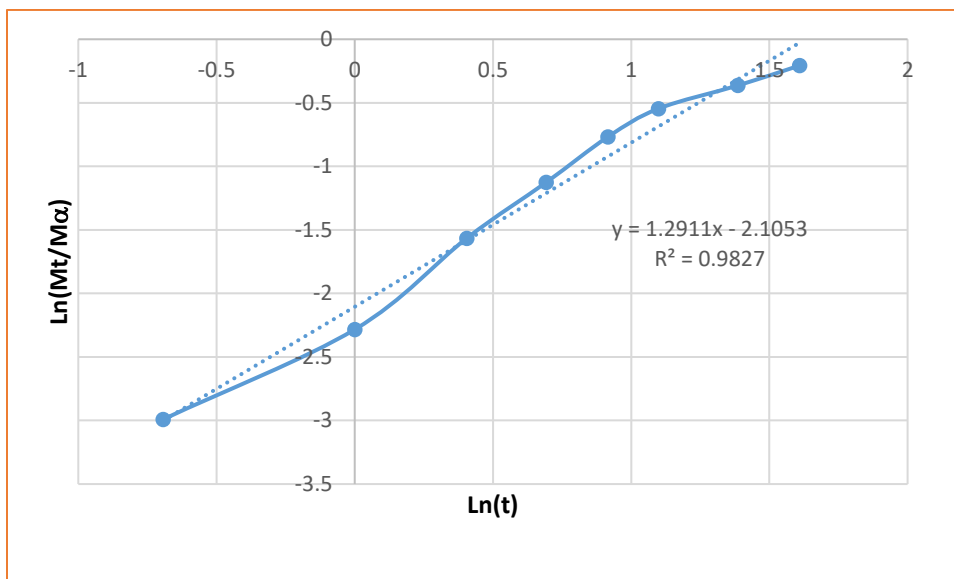


Figura 16. Cinética Korsmeyer y Peppas en pectina.

En este modelo, la difusión se describe por liberación en sistemas poliméricos que presentan hinchamiento, y el mecanismo es descrito por la ley de Fick (no Fickiano) y la liberación se convierte en orden cero, y el proceso de liberación es controlado por la relajación de las cadenas poliméricas, la liberación de timol se realiza a velocidad constante, siempre y cuando la geometría no cambie durante el proceso de liberación.

3.3.3 Análisis comparativo de modelos y mecanismo de liberación

Según Ritger & Peppas (1987), el valor de n del modelo Korsmeyer-Peppas con valor por debajo de 0.5 sugiere que el proceso de liberación de timol sigue el mecanismo de difusión Fickiano, mientras que para los valores superiores a 0.5 el mecanismo de liberación de timol es anómalo descrito por la ley de Fick (no Fickiano), mecanismo que describe la relajación de las cadenas poliméricas.

En la Tabla 6, se muestran los resultados relativos a los parámetros obtenidos de los modelos cinéticos empleados, la preferencia del modelo de liberación se basó en el coeficiente de correlación (R^2) para los parámetros estudiados, y se selecciona el

coeficiente de correlación más cercano a 1 para la selección del modelo que mayor se ajusta a la liberación.

Tabla 6. Análisis comparativo de modelos y mecanismos de liberación de Timol

Película	Orden cero		Primer Orden		Higuchi		Korsmeyer y Peppas		
	K_0	R^2	K_1	R^2	k_H	R^2	n	k	R^2
Nps-HPMC	0.187	0.987	0.444	0.897	0.553	0.961	0.922	1.576	0.978
Nps-pectina	0.177	0.979	0.591	0.83	0.541	0.979	1.291	2.105	0.982

Para el caso de HPMC, el valor de R^2 , 0.987 es el más alto del modelo de orden cero, mientras que para el caso de pectina, el valor de R^2 mayor es el del modelo de Kormeyer y Peppas, pero con el valor de n , el orden se convierte en orden cero, de manera que ambas películas se ajustan al modelo de orden cero, el valor de la velocidad de liberación es mayor para las películas de nanopartículas en matriz de HPMC con velocidad de 0.187 h⁻¹ mientras que las nanopartículas en matriz de pectina tuvieron una velocidad de 0.149 h⁻¹, además de acuerdo con los valores de n obtenidos se observa que las películas tuvieron un mecanismo de liberación no Fickiano, es decir, que el proceso de liberación está sujeto a los procesos de difusión-relajación de las cadenas poliméricas, siendo importante resaltar que para el caso del HPMC el transporte es asociado a la relajación de las cadenas de polímero relacionada con la flexibilidad de los grupos carboxilo presentes, mientras que para el caso de las películas de nanopartículas con pectina el valor de n es >1.0 lo que es indicativo de un proceso de transporte asociado al hinchamiento y relajación del polímero lo que además muestra un ajuste a la ecuación de Higuchi ya que hay combinación de mecanismos de liberación lo que hace que esta se retarde un poco más (Li et al., 2019; Zambrano-Zaragoza et al., 2017).

De manera que la liberación del compuesto activo se produce por difusión a través de la matriz polimérica hacia un ambiente externo, el proceso de liberación es

continuo, la cantidad de compuesto dentro de la matriz polimérica normalmente disminuye en función del tiempo. Tal como Revathy et al. (2018) en su estudio de la liberación de timol con biopolímeros, el modelo que mejor se ajusta (evaluando la cinética a través de los mismos métodos de liberación) fue el de orden cero ($R^2=0.904$) y por el valor de n (0.43) sigue un comportamiento no Fickiano.

3.4 Liberación en días

La difusión de gases, vapores y líquidos sobre sólidos es un proceso complejo; los sólidos normalmente tienen una estructura heterogénea y ello puede provocar la interacción con los medios de difusión, como resultado, la difusividad de moléculas pequeñas en sólidos es menor que en los líquidos, lo cual puede afectar la velocidad de los diversos procesos físicos y químicos que implican transferencia de masa. Tanto en los polímeros como con los alimentos, la difusión es frecuentemente dependiente del gradiente de concentración. El transporte de masa en sólidos porosos puede tomar lugar vía mecanismos diferentes a la difusión molecular, dependiendo del tamaño, forma y conexión de los poros. En los sólidos porosos, la difusión puede expresarse en términos de una difusividad efectiva, la cual es más pequeña que la difusividad molecular.

La difusión de varias sustancias en medios sólidos puede determinarse al menos por cuatro métodos (Saracavos, 1995), de los cuales la cinética de sorción es el método que se apega a los resultados obtenidos, este método asume que la velocidad de adsorción y desorción sigue la ecuación de difusión para un régimen no estacionario a través de una muestra de sólido, además de que la resistencia superficial a la transferencia de masa es despreciable, de manera que la solución de la ecuación de difusión para régimen no estacionario trasciende a la ecuación de Crank (1975). La difusividad efectiva considera que no toda el área normal a la dirección de flujo está disponible para la difusión de las moléculas, es decir, el área de contacto es porosa.

Podemos observar que la difusividad efectiva durante las primeras horas de tratamiento fue menor cuando se utilizó como polisacárido pectina, mientras que se difundía más timol al utilizar HPMC hasta las primeras 72 h, para ambos la difusividad fue disminuyendo conforme pasaba el tiempo, esto debido a factores como la característica estructural de las películas, el entrecruzamiento de los polisacáridos al formarlas, posterior a este tiempo la liberación se realiza de forma constante, ya que en el sistema se encontró un equilibrio osmótico. A diferencia de la Figura 7, donde el grafico se muestra únicamente a 72 h (3 días), esta medición se realizó hasta 145 h, es decir que se midió el porcentaje de timol acumulado durante 6 días (Figura 17).

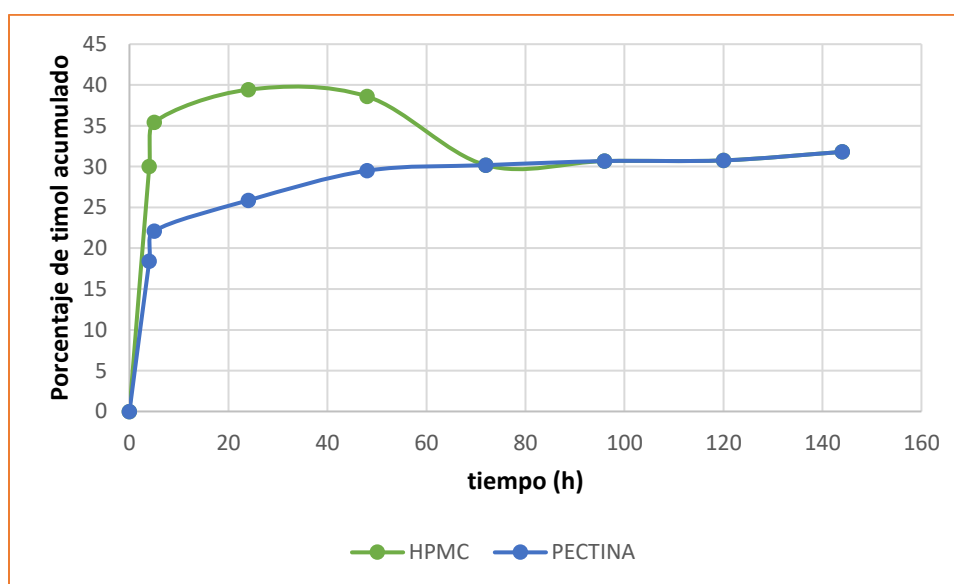


Figura 17. Liberación en días para HPMC y pectinas cargadas con timol.

El timol tiene una solubilidad acuosa muy baja y alta volatilidad (Garg et al., 2016), la incorporación del compuesto activo en nanopartículas poliméricas puede configurar una inclusión total o parcial mediante enlaces no covalentes mientras que la superficie hidrofóbica exterior ayuda a la difusión del complejo en soluciones acuosas, (Sanguansri, Augustin, 2006), esta inclusión puede mejorar la vida útil de los alimentos al proporcionar protección a la oxidación, microorganismos patógenos entre otros.

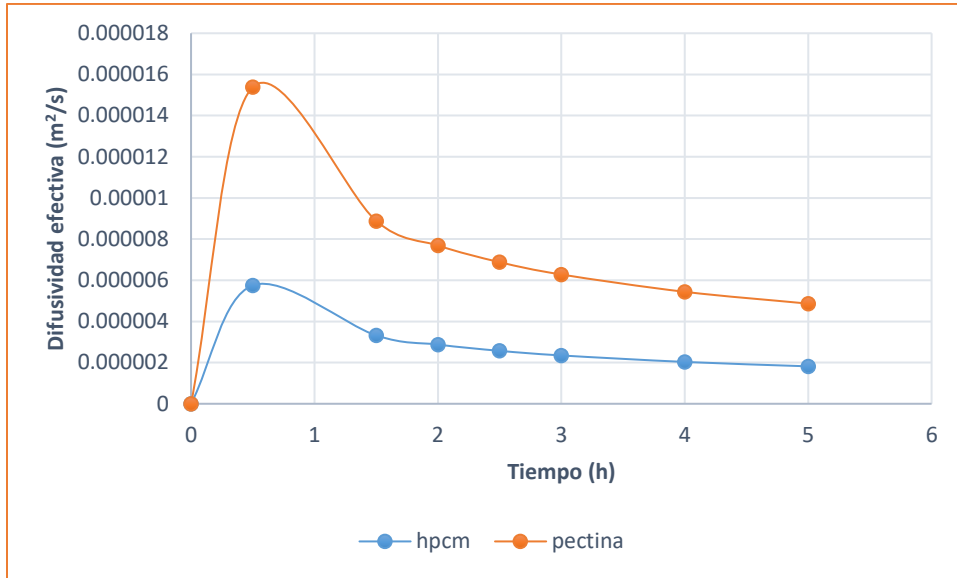


Figura 18. Difusividad efectiva obtenida para las nanopelículas.

La difusividad efectiva es un parámetro de la transferencia de materia en las reacciones fluido-sólido no catalíticas, englobando todos los procesos difusionales que se producen en el sistema reaccionante, en la Figura 18, se observa que inicialmente los sistemas difundieron rápidamente y posterior, disminuyeron, para el caso de pectina, la difusión fue siempre mayor a la de HPMC, esto debido a que es el proceso de transferencia cambia para cada polisacárido por su naturaleza. El entrecruzamiento de los polisacáridos, es decir, las redes poliméricas son un limitante para el movimiento y transferencia de masa. De acuerdo con Yao & Le Maguer (1997), la difusividad efectiva explica la variación de las propiedades físicas de la matriz y su influencia con las características de difusión.

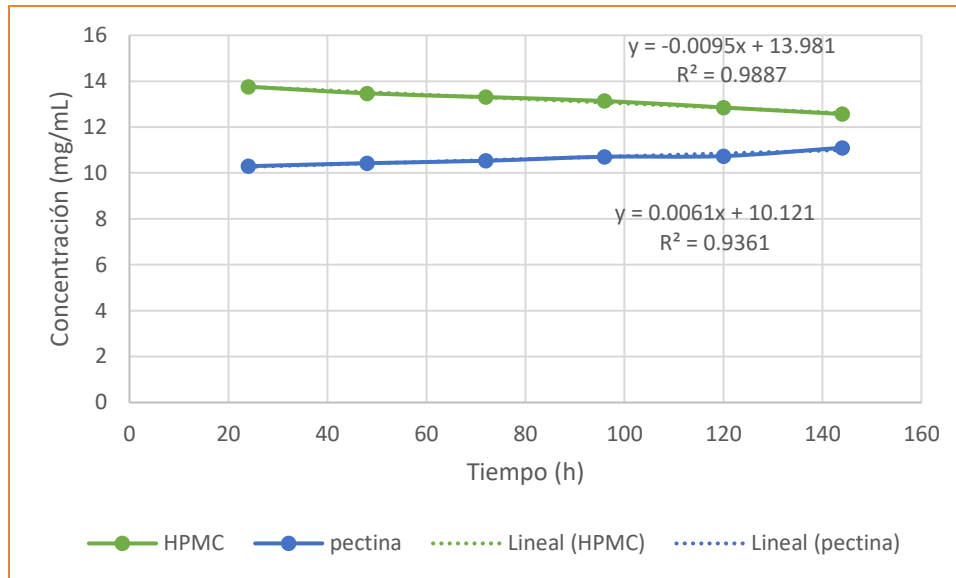


Figura 19. Concentración de timol en función al tiempo.

En la Figura 19, se revela que, para el caso de la HPMC, existió una disminución de la liberación de timol, de manera que se puede definir como liberación descendiente al tiempo, dado que la velocidad de liberación es limitante en el proceso de protección en alimentos, es decir, se busca que las películas liberen compuesto activo de manera constante para así aumentar su capacidad para conservar alimentos.

Por otro lado, al utilizar pectina como polímero matriz, tuvo mayor velocidad de liberación en comparación con HPMC. Este tipo de comportamiento es útil e importante para la aplicación que se busca; ya que el uso de las películas cargadas con timol proporciona propiedades antioxidantes y antimicrobianas a los recubrimientos que pueden ser utilizados en diferentes alimentos. En particular, el grosor de la película y la cantidad de entrecruzamientos del polisacárido, son variables que pueden llegar a modular la liberación de timol, tal como Mastromatteo et al. (2009) plantean que la tasa de liberación de timol disminuye con tiempo en la película, y caso contrario, un aumento significativo en la tasa de liberación de timol está relacionado con el aumento de la concentración al formar los sistemas.

El uso de la aplicación polisacáridos como matriz y cargarlos con compuestos activos antimicrobianos, antioxidantes modelan diferentes cinéticas de liberación, de esta

manera, es preferible una liberación rápida del compuesto activo para dispositivos médicos, por otro lado, liberación más lenta durante más tiempo es deseable en aplicaciones para algunos tipos de envases. Pilati et al. (2013) plantearon que el uso de polímeros adecuados requiere una descripción cuantitativa de la tasa de migración del agente activo en diferentes condiciones, la impregnación de timol en la cadena polimérica define capacidad de disponibilidad de sus propiedades.

CONCLUSIONES

- Es posible utilizar polisacáridos como HPMC y pectina cítrica en la elaboración de película con sistemas nanoestructurados cargados con timol, es decir que, la implementación de nanopartículas poliméricas permite manipular compuestos hidrofóbicos sin afectar sus características de interés, de manera que uso de compuestos bioactivos incorporados en sistemas nanométricos con polisacáridos es una opción viable para aumentar la vida de anaquel de los alimentos y su uso es una alternativa sustentable para el medio ambiente.
- El uso y aplicación de método emulsión-evaporación se consideró el adecuado ya que se realizó con los materiales y equipos adecuados de manera que fue posible elaborar sistemas de talla nanométrica, una vez formado el sistema, la incorporación del compuesto activo y el uso de polisacáridos para la formación de las películas se efecto de manera adecuada ya que las películas se formaron.
- El tamaño de partícula con timol, oscilo dentro de la clasificación de tamaños nanométricos con valores entre 360 ± 91.96 nm, así como $IPD < 0.3$ con comportamiento monomodal y ζ de -16.7 ± 7.14 mV.
- La eficiencia de encapsulación fue buena puesto que este porcentaje de encapsulación obtenido es mayor a los reportados en la literatura, de manera que es posible encapsular porcentajes mayores a 50% aumentando así no solo la eficiencia de encapsulación sino también la eficiencia del uso de películas ya que entre mayor cantidad encapsulada mayor será su capacidad para cumplir su función para la conservación de los alimentos.
- Los espesores de las películas promedio fueron 0.0415 mm para HPMC y 0.111 mm para pectina cítrica, al ser medidos en diferentes posiciones de las

películas indica que éstas no son completamente lisas, debido a la porosidad de los sistemas, la diferencia entre los espesores promedio es función del tipo de polisacárido utilizado por las estructuras y entrecruzamientos que forma en la película.

- La difusividad efectiva es alta en las primeras horas puesto que el timol no encapsulado se difunde en el medio, con el paso del tiempo esta difusión disminuye ya que el uso de polisacáridos de pared en la formación de las nanopartículas y los polisacáridos en la formación de las películas permiten la liberación modulada del compuesto activo teniendo de esta manera menor difusividad.
- El uso de HPMC y pectina cítrica forman barreras que la sustancia bioactiva puede atravesar para interactuar con la superficie del alimento y cumplir la función principal de aumentar la vida de anaquel manteniendo las características y/o propiedades, de manera que el establecimiento y estudio de la cinética de liberación de materiales bioactivos funcionalizados es nanoestructuras es de gran importancia ya que permite analizar la cinética y relacionarla con el aumento de la vida útil
- De acuerdo con los modelos cinéticos de liberación el modelo que mejor describe la velocidad de liberación de timol fue el de orden cero esto de acuerdo con el valor de coeficiente de correlación, mostrándose además que el mecanismo de liberación es asociado al hinchamiento tanto de la pectina como del HPMC, así como la relajación de estos. Por otro lado, la velocidad de liberación fue mayor cuando se emplea pectina como polímero matriz, este análisis de comportamiento es útil e importante para la aplicación de timol como sistema antioxidante y antimicrobiano para el recubrimiento de diferentes tipos de alimentos.

REFERENCIAS

- Acevedo, A., Soliva, R., Martin, O. (2017) Nanoemulsions as edible coatings. *Current opinion in food science*, (15) 43-49.
- Aguilar-Méndez, M., San Martin-Martinez, E. (2012). Caracterización y aplicación de películas a base de jaletina-carboximetilcelulosa para la producción de frutos de guayaba. *Sociedad mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y materiales*. 25 (1) 1-7.
- Agular, R. (2015). Nanoparticulas bioadhesivas poliméricas de polivinil metil éter anhídrido meléico para el tratamiento de cancer cérvico uterino. UNAM: Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas. 1-103.
- Alvares-Henano, M., Saavedra, N., Medina, S., Cartagena, C.J., Alzate, L.M.& Londono-Londono, J. (2018). Microencapsulation of tutein by spray-drying: characterization and stability analyses to promot its use as a functional ingredient. *Food Chem*. 256. 181-187.
- Álvarez, M., & Huenchuñir, P. (2008). Introducción a la farmacocinética y a la biofarmacia. Pontificia Universidad Católica de Chile. 1, 956-978.
- Aradilla, D., Oliver, R., Estrany, C. (2012) Polímeros biodegradables, una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. *Tecnica Industrial* 297, 76-80.
- Arnon-Rips, H., & Poverenov, E. (2018). Improving food products' quality and storability by using Layer by Layer edible coatings. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 81–92.
- Arredondo-Ochoa, T. (2012). Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco (Tesis Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro. 1-82.
- Ashraf, Z., Rafia, M., Seo, S.Y., Knon, K.S., Bodar, M.M., & Zaidi, N. (2015). Kinetic and in silic studies of novel hidroxy-based thymol analogues as inhibitors of mushroom tyrosinase. *European Journal of Medicinal Chemistry*. (98) 203-211.

- Aswathy, J., Sabarish, R., Indu, C., Suchart, S., Jyotishkummar, P., & Radhakrishnan, E. (2021). Polyvinyl alcohol-nanocomposite films incorporated with clay nanoparticles and lipopeptides as active food wraps against food spoilage microbes. *Food Packaging and Shelf Life*. 30.
- Augustin, M., Hemar, Y. (2009) Nano and micro structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical society Reviews* (38) 902-912.
- Bandoni, A. (2009) ¿Son realmente útiles los aceites esenciales?. *BLACP MA*. (5) 317-322
- Barnekow, R., Muche, S., Ley, J., & Sabater, C. (2007). Creation and production of liquid and dry flavours. In R G Barger. Ed. *Flavors and fragrances, chemistry, bioprocessing and sustainability*. Berlin heidelberg: Springer-Verlag.
- Borm, P.J.A., Robbins, D., Haubold, S., Kuhbusch, T., & Kissan H. (2006) The potential risks of nanomaterials a review carried. Review carried out for ECETOC, (3) 11-14
- Bouwmeester, H., Brandhoff, P., Marvin, H., Weigel, S., & Peters. R. (2014). State of the safety assessment and current use of nanomaterials in food and food production. *Trends in food Science and Technology*. 40, 200-210.
- Brian, J., Kirby, E.F., Hasslbrink, J.R. (2004) Zeta potential of microfluidic substrates. Theory experimental techniques and effects on separation. *Electrophoresis*. (25) 187-202.
- Brode, G.L., Koleske, J.V., *Macromol*, S. (1972) Lactone polymerization and polymer properties. *Science chemistry* (6) 1109.
- Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. *International Journal Food microbiologic* (94) 223-253
- Campos, V., Rivas, B., Pérez, M., Galdino, K. (2015). Polymer / clay nanocomposite films as active packaging material: modeling of antimicrobial release. *European Polymer journal*. 71, 461-475.
- Cano-Sarmiento, C., Telléz-Medina, D.L., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazon, M., Figueroa-Hernandez, C., Garcia-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., García, H., Guitierrez-López, G. (2018) Zeta potential of food matrices. *Food engineering reviews*. 10 (3) 113-138.

- Cascone, S. (2017) Modeling and comparasion of reléase profiles: effect of the difussolution method. *European Journal of Pharmaceutical Science*. (106) 352-361
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J.A., Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-base films and coatings for food pakaging. *Food Hydrocoll*. (68) 136-148.
- Chavez, F., Olivera, I., Ganem, A., Quintanar, D. (2002) Liberacion de sustancias lipofilicas a partir de nanocápsulas poliméricas. *Revista de la sociedad Química de México*. 46 (4) 349-356.
- Chiralt, A., Atar, L (2016). Trends in food science and technology essential oils as additives on biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in food science and technology journal* (48) 51-62.
- Chou, S.F., Carson, D., Woodrow, K.A. (2015) Curren strategies for sustaining drug reléase from electrospun nanofibres. *Journal Control Release*, (220) 584-591.
- Corbo, M.R. Campaniello, D., Speranza, B., Bevilacqui, A., Sinigaglia, M. (2015) Nanoconventional tolos to preserve and prolong the quality of minimally processed fruits and vegetables. *Coatings*. (5) 931-961.
- Corona, M. (2018). Enfermedades transmitidas por alimentos. Sistema nacional de vigilancia epidemiológica, Secretaria de Salud.
- Cosco, D., Paolino, D., De Angelis, F., Cilurzo, F., Celia, C., Di Mazizo, L., & Fresta, M. (2015). Aqueous-core, PRE-coated, PLA nanocapsules for an efficient entrapment of water soluble anticancer drugs and a smart therapeutic response. *European Journal of Pharmaceutic and biopharmaceutics*. (89) 445-456.
- Çrakir, A.M., Icer,C.N & Tornuk. F. (2020). Optimization of fabrication of thymol-loaded chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological macromolecules*. 151. 230-238.
- Crank, J. (1975). *Diffusion in a plane sheet the mathematics diffusion*. Oxford University Press. Oxford, Great Britain. 44-68.
- Cruz, G. (2013) Efecto de particulas magnéticas sobre las prioridades y cinética de liberación del hidrogel poli (hema-co-egdma) con estructura controlada cargado de ciprofloxacino. (Tesis de licenciatura) Universidad Nacional Autonoma de México.

- Cuadros-Moreno, A., Casañas-Pimentel, R., San Martín-Martínez, E., & Yañes-Fernández, J. (2014). Dispersion de la luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin American Journal of Physics Education*. 8 (4) 1-5.
- Dan, N. (2016). Transport and release in nano-carriers for food applications. *Journal of Food Engineering*. 176 (6) 136-144.
- Dantas, I.C., Lima de Oliveira, P.D., Lima de Souza Pontes, A., Carniero, A.S.F., Fecchin Taveres, J., Barbosa, J.M., Suelt, M., Leite de Souza, E. (2015) Coatings comprising chitosan and mentha piperita L. or mentha x villosa. Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato. *International journal of food microbiology*. (214) 168-177.
- Dash, S., Murthy, P., Natha, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Polonicae Pharmaceutica Drug Research*. 67 (3) 217-223.
- Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., & Chowdhuy, P. (2010). Kinetic modeling on drugs release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. 67 (3) 217-223.
- De Ancos, B., González-Peña, D., Colina-Coca, C., Sánchez, M., & Moreno, C. (2015). Uso de películas comestibles en productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Post-Cosecha*. 16 (1) 8-17.
- De Ancos, B., Gonzalez-Peña, D., Colina-Coca, C., Sanchez-Moreno, C. (2005) Uso de películas y recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de tecnología post-cosecha*. 16(1) 8-17.
- Disalvo, E.A., Bouchet, A.M., (2014). Electrophoretic mobility and zeta potential of liposomes due to arginine and polyarginine absorption colloids surfaces a physicochem. 440, 170-174.
- Dos Santos, P.P., Flores, S.H., De Olivera, R., Chisté, R.C. (2016) Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. *Food Science and Technology* (53) 23-33.

- Dwivedi, P., Nayak, V., & Kawshik, M. (2015). Role of gold nanoparticles as drug delivery vehicles for chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis. *Biotechnology Progress*. (31) 1416-1423.
- El Asbahani, A., Milad, K., Badr, W., Sala, M., Add, E., Cossabianca, H. (2015). Essential oils from extraction to encapsulation. *International Journal Pharmaceutical*. 483, 220-243.
- Embuscado, M., Huber, K. (2009) Edible films and coatings for food applications. *New York Springer* (18) 212-232
- Ennis, J., Anderson, J. (1997) Boundary effects on electrophoretic motion of spherical particles for thick double layer and low zeta. *Journal of colloid and interface science*. (185) 497-514.
- Escobar, J.L., Zalchvar, D., Issa, K. (2002) Hidrogeles principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista iberoamericana polímeros* (87) 13-19.
- Espino, D., De Jesus, J., Ornelas, P., Martinez, T., Santillán, C., Barbosa, G., Zamudio, P., Olivas, G. (2010) Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica*. *Journal of food science*, 75 (6) 347-352.
- Espino-Díaz, M., Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M., Santillán, G., Barbosa-Cánovas, G., Zamudio-Flores, P., & Olivas, G. (2010). Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L) *Journal Food Science*. 1 (75) 347-352.
- Espitia, P., Du, X., Avena-Bustillos, R., Soares, N., & McHugh, T. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties. *Food hydrocolloids*. (35) 287-255.
- Estrada, K. (2013). Estudio de la liberación de antocianinos y otros compuestos fenólicos de maíz morado desde el interior de una emulsión de leche y determinación del coeficiente de difusión. *Universidad Iberoamericana*.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22(6), 292–303.

- Fan, W., Yan, W., Xu, Z.S., & Ni, H., (2012). Formulation mechanism of monodisperse low molecular: Weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and surfaces b-biointerfaces*. 90, 21-27.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2012) *Sprey drying freeze dryin and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation*. Cambridge, U.K Woodhead Publishin Limited. 92-121.
- Fathi, M., Martin, A., Mc Clements, D.J. (2014) Nanoencapsulation of food ingredientes using lipid based delivery system. *Trends in food Sciencia and technology* (39) 18-39.
- Favaro, C., Santana, A., Monterrey, E., Trindade, M., Netto, F. (2010) The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysat. *Food hydrocolloids*. 24 (4) 336-340.
- Feng, Y., Russell-Kilker, S., Lee, Y. (2020). Chapter seven surface charge (zeta-potential) of nanoencapsulated food in gredients. *Acedemic-press Vol.4 nanoencapsulation in the food industry*. 213-241.
- Férrnandez-Valdés, D., Bautista-Baños, S., Ocampo-Ramirez, A., García-Pereira, A., Falcón-Rodríguez, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles, una alternativa favorable en la conservación post cosecha de frutas y hortalizas. *Revista de ciencias tecnológicas agrícolas*. 24, 52-57.
- Fessi, H., Ellassari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *Internaational Journal of Pharmaceutics*. 385, 113-142.
- Fick, A. (1995) On liquid Difusion. *Journal of membrane Science*. 100 (34)
- Friedman, M. (2014) Chemistry and multibenefical bioactives of carvacrol (4-Isopropyl-2-methylphenol) a component of essential oils produced by aromatic plants ans spices. *Journal of Agricultutal and food chemistry*. 62, 7652-7670.
- Fuchs, h., Xu, W., Lenhert, S., & Chi, L. (2006). Interface interaction-controlled transport of CDTE nanoparticles in the microcontact printing process. *American Chemical Society*. 22 (18) 7807-781.
- Furusawa, K., Uchiyawa, K. (1998) Collaborative studies of zeta measurements and electrophoretic measurements using peference simple colloids and surfaces. *Physicochemical and engineering aspects* (140) 217-226.

- Galdino-Perez, M., Quintanar-Guerrero, D., Cornejo-Villegas, M., Zambrano-Zaragoza, M.L. (2018). Optimization of the emulsification-difusion metod using ultrasound to prepare nanocapsules of differen food core oils. *LWT Food Science and Technology*. 87, 333-341.
- Galdino-Rodríguez, S.A. Allemano, E., Fessi, H., Doelker, E. (2004). Polymeric nanoparticles for oral delivery of drugs vacines: a critical evaluation of in vivo studies. *Critical Review Theapeutical Drug Carrier Systems*. 22 (2) 92-97.
- García-Figueroa, A., Ayala-Aponte, A., Sánchez-Tamayo, M-I. (2019). Efecto de recubrimientos comestibles de aloe vera y alginato de sodio sobre la capacidad poscosecha de fresas. *Revista U.D.C.A. Act & Dic Cient*. 22 (2).
- Garg, A., Gupta, B., Prakash, R., Singn, S. (2010). Preparation and characterization of hydroxypropil- β -clodextrin inclusion complex of eugenol: differential pulse voltammetry and H-NMR. *Cherm Pharmaceutical Bull*. 58, 1313-1319.
- Garin, N., De Pourca, J., Cardona, D., Martin-Venegas, R., Gich, I., Cardenete, J., & Cardenete, J., & Mangues, M. (2012). Cambios en la viscosidad del agua con espesantes por la adición de fármacos altamente prescritos en geriatía. *Nutriciaon Hospitalaria*. 27 (4) 1298-1303.
- Genadios, A., Weller, C., Hanna, M., & Fronning, G. (1996). Mechanical and Barrie properties of egg alloumen films. *Journal Food Science*. (3) 585-589.
- Ghani, A., Adachi, S., Shigo, M., Neoh, T.L., Adachi, S., Yoshil. (2017) Effect of different dextrose equivalents of maltodextrin on oxidation stability in encapsulated fish old by spray drying. *Bioscience biotechnology and biochemistry*. (81) 701-705.
- Gileadi, E., Kirowa-Eisner, E., Penciner, J. (1975) Interfacial electro chemistry: an experimental approach. *Addison-Wesier*. 80 (8) 826-831.
- Gong, S., Wan, D., Tao, S., Hu, S., Wang, C., Sun, Y., Zhao, B., & Li, V. (2021). Facile encapsulation of thymol within deamideted zein nanoparticles for enhanced stability and activacterial properties.
- Gong, S., Wang, D., Tao, S., Hu, X., Wong, C., Sun, Y., Zhao, B., & Li, Y. (2021). Facile ancapsulation of thymol within deamideted zein nanoparticles for enhancer stability and antibacterial properties. *Colloid and surfaces A; Physicochemical and engineering aspects*. 626.

- Gonzalez-Reza, R., García-Betanzos, C., Sánchez-Valdes, L., Quintanar-Guerrero, D., Cornejo-Villegas, M., & Zambrano-Zaragoza, M. (2018) The functionalization of nanostructures and their potential application in edible coatings. *Coating* 8 (5) 160.
- Grenier, L., & Gonzáles, R. (1994). Sistema biomaterial-droga para la liberación controlada de antibioticos. *Medica*. 14 (1) 30-38.
- Guilbert, S. (1986). Technology and application of edible protective films. *Food packaging and preservation: theory and practice*. Ed: M. Mathlouthi, Elsevier applied science publishers, New York, USA. 371-394.
- Guiyun, C., Huiying, J., Ye, C., & Zhenya, Z. (2021) Incorporation of antibacterials zein/thymol nanoparticles dispersed using nanotube technology improves the functional performance of gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 121.
- Gustavsson, J., Cederberg, C. (2015). Perdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. *SAVE FOOD*. 4-7.
- Han, J.H. (2014). Chapter 9, Edible films and coating. *Innovations in food packaging*, 2nd ed. Academic. Press, San Diego. 213-255.
- Harding, S.E., Jume, K. (1998) *Light scattering: current protocols in protein science*. New York: John Wiley and Sons. (2) 271-305.
- Henglein, A. (1993). Physicochemical properties of small metal particles in solution-microelectrode reaction, chemisorption. *Metal particles and the atom-to-metal*. *Journal Phys Chem*. 97. 5457-5471.
- Hernaéz, E., Sáen, V., Sanz, L.A. (2004) Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Revista iberoamericana de polímeros*. 5(1) 55-70.
- Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication theoretical analysis rate of release of solid drug dispersed in solid matrices. *Journal Pharmaceutic Science*. 52 (12) 1145-1149.
- Holy, C.E., Dang, S.M., Davies, J.E., Shoichet, M.S., (1999). In vitro degradation of a novel poly (lacte-co-glycolide) 75/25 foam biomaterials. 20, 1177-1185.
- Hu, H., Yu, A., Kim, E., Zhao, B., Itkis, M.E., Bekyarova, E., Lopes, M., Monteiro, F. (1999) Hydrophobicity Surface tensión and zeta p measurements of glass reinforced hydroxyapatite composites. *John Wiley and Sons*. (19)

- Huang, J.Y., Li, X., Zhou, W. (2015). Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. *Trends Food Science*. 45, 187-199.
- Hunter, R.J., (1988) Zeta potential. *Colloid Science: principles and applications*. School of Chemistry, University of Sydney, New South Wales Australia.
- Hyldgaard, M., Myging, T., & Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation mode of action, synergies and interaction with food matrix components. *Frontiers in microbiology journal*. 3, 12-15.
- Hyldgaard, M., Mygund, T., & Meyer, R.L. (2012) Essential oils in food preservation; mode of action, synergies and interaction with food matrix components. *Front Microbiol* (3) 12-17.
- InfoAgro (2019) Deterioro de frutas y hortalizas en post-cosecha. *Revista InfoAgro México*.
- James, M., Hunter, R.J., Brien, R.W. (1992) Effect of particle size distribution and aggregation on electroacoustic measurements of potential. *Langmuir* (8) 420-424.
- Jang, K., & Lee, H. (2008). Stability of chitosan nanoparticles for L-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (6) 1936-1941.
- Jiang, X., Liang D., Liu, W.B., Xia, W., & Lu, K. (2011) Apparent digestibility of eight unconventional feed ingredients for *Megalobrama amblycephala*. *Journal Kish*. 35 (6). 932-939.
- Jiménez, J. (2017). Evaluación de la cinética de liberación de un fármaco modelo con clasificación biofarmacéutica por materiales poliméricos aniónicos. Tesis de doctorado, Universidad ICESI, Santiago de Cali.
- John, J., Mani, R., Battacharya, M. (2002) Evaluation compatibility and properties of biodegradable polyester blends. *Journal of Polymer Science* (40) 2003-2014.
- Joo, H.H., Lee, H.Y., Guan, Y.S., Kim, J.C. (2008). Colloidal stability and *in vitro* permeation study of poly (ϵ) caprolactone nanocapsules containing hinokitiol. *Journal Int Eng Chem*. 14, 608-613.

- Kamat, P. V.; Huehn, R.; Nicolaescu, R. (2002). A "Sense and shoot" approach for photocatalytic degradation of organic contaminants in water. *Journal of Physical Chemistry B.*, 106: 788.
- Katouzain, I., Jafari, S.M. (2016) Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends in food science and technology.* (53) 34-48.
- Khan, I., Saeed, K., Khan, I. (2007) Nanoparticles: properties, application and toxicities. *Arabian Journal of chemistry*, (3) 56-68.
- Klevenz, H. (2004) Nanobiotechnology: from molecules to systems. *Engineering in life Science.* 4 (3) 211-218.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E.M., Buri, P., Peppas, N.A. (1983). Mechanism of release from porous hydrophilic polymers. *International Pharmaceutical.* 15 (1) 25-35.
- Kosegarten-Conde, C.E., & Jimenez-Munguia, M.T. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsion doble. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos.* 6 (2) 1-18.
- Kreuter, J. (2014). Drug delivery to the central nervous system by polymeric nanoparticles: what do we know?. *Adv. Drug deliv.* (71) 2-14.
- Kreuter, J. Ed, Marcel, D. (1994) *Colloidal Drugs Delivery Systems.* Inc New York. (7) 219-315.
- Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. (1994). *Edible coatings and films to improve food quality.* Florida, United States of America: CRC Press.
- Kumar, R., Kumar, M.S. & Mahadevan, N. (2012). Multiple emulsions. *International Journal of Recent Advances in pharmaceutical Research.* 2 (1) 9-19.
- Kumari, A., Yadav, S.K., Yadav, S.C. (2010) Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and surface. B. interfaces.* 75 (1) 1-18.
- Kuorwel, K.K., Cran, M.J., Sonneveld, K., Miltz, J., Bigger S.W. (2011) Essential oils and the principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films. *Journal Food Science* (50) 432-438.

- Lambert, R., Skandam's, P.J., Coote, P., & Nychas, G. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied Microbiology*. 91 (3) 453-462.
- Lang, T., Wei, S., & Huei, R. (2008). Cavitation effects versus stretch resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*. 71, 441-457.
- Langer, R., Peppas, N.A. (1983) Chemical and physical structure of polymers as carriers for controlled release of bioactive agents. *Polymer Reviews*, 2(3) 61-126.
- Leabot, J. (2008). Nanopartículas poliméricas sólidas. *Research Gate*. 53, 1-47.
- Lee, B.K., Yun, Y., & Park, K. (2016). Micro and nanoparticles. *Drug Delv.* (107) 176-191.
- Lidén, G. (2011) The European commission tries to define nanomaterials. *Oxford University press on behalf of the british occupational hygiene society*. 55 (1) 1-5.
- Liu, W.T. (2006) Nanoparticles and their biological and environmental applications. *Journal of bioscience and bioengineering*, 10 (2) 1-7.
- Lu, K. (2003) Nanoparticulate materials synthesis characterization and processing. *John Wiley and sons. USA: Wiley*.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., & Del Nobile, M.A. (2012) Food application of natural antimicrobial compounds. *front Microbiol* (3), 287-293.
- Lukic, I., Vulic, J., & Ivonovic, J. (2020). Antioxidant activity of PLA, PCL films loaded with thymol. *Food packaging and shelf life*. (26) 105-108.
- Madene, A., Scher, J., & Desodry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release. *International Journal of food science and technology*. 4 (1) 21-31.
- Madene, A., Sher, J., Desobry, S. (2006) Flavour encapsulation and controlled release. *International Journal of foods Science and Technology*. 4(1) 1-21.
- Marcet, I., Weng, S., Sáenz-Orviz, S., Renndueles, M., & Díaz, M. (2018). Production and characterization of biodegradable PLA nanoparticles loaded with thymol to improve its antimicrobial effect. *Journal of food engineering*. 239, 26-32.

- Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Baldwin, A. (2005) Conservación mediante recubrimientos comestible. Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. 56-84.
- Martinez-Abad, A., Sanchez, G., Fuster, V., Lagoron, J.M., Ocio, M.J. (2013) Antibacterial performance of solvent cast polycaprolactone (PCL) films containing essential oils. *Food control* (34) 214-220.
- Mastromatteo, M., Barbuzzi, G., Cote, A., Del Nobile, M.A. (2009). Controlled release of thymol from zein based film. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10, 222-227.
- McClements, D. (2016) *Food emulsions: principles, practice and techniques*. Estados Unidos: Ed. CRC Press.
- McClements, J. (2012) *Requirements for food ingredient and nutraceutical delivery systems*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing limited. 5-21.
- McHugh, T., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal Food Science*, 58 (4) 899-903.
- Médelin-Marques, S., Nora, L., Flores-Cantillano, R., Paese, K., Stanescuaski, S., Raffin, A., Hass, T., & De Olivera, A. (2016) The production characterization and the stability of carotenoids loaded in liquid-core Nanoparticles. *Food and products processing* 105, 86-94.
- Mendoza-Muñoz, N., Quintanar-Guerrero, D., Allemann, E. (2012) The impact of the salting-out technique on the preparation of colloidal particule systems for pharmaceutical application. *Recet Patents on drugs delivery y formulation* 6(3) 236-249
- Mengual, O., Meunier, G., Puech, K., & Snabre, P. (1999). Turbiscan MA 2000: Multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*. 50 (2) 445-456.
- Meza, A. (2006). *Desarrollo e películas o recubrimientos comestibles con potencial para el recubrimientos de frutas frescas*. Proyecto de especialización biológica. Universidad Autonoma Metropolitana. 76-98
- Meza, V.J.A., Guzmán, G., García, C.L., Fostis, H.M., Preciado, R., & Esperanza, R. (2013). Effect of a film of hydroxypropyl methylcellulose – paffin in

- cantaloupe melon (*Cucumis melo*) stored in cold. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4 (2) 259-271.
- Milovanovic, S., Markovic, D., Aksentijevic, K., Stojanovic, D., Ivanovic, J., Zizovic, I. (2016). Applications of cellulose acetate for controlled release thymol. *Journal Carbohydrate Polymers*. 147, 344-353.
- Milovanovic, S., Stamenic, M., Markovic D., Ivanovic, J., Zizovic, I. (2005) Supercritical impregnation of cellulose acetate with thymol. *Journal Supercritic fluid* (97) 107-115.
- Mitchell, K. (1993) The influence of drugs on the properties of gels and swelling characteristics of matrices containing MC and HPMC (100)
- Mohanraj, V.J & Chen, Y. (2006). Nanoparticles a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5 (1) 561-573
- Moras-Huertas, C., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanoparticles for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 385, 113-142.
- Moras-Huertas, C.E., Fessi, H., Elaissari, A. (2011) Influence of process and formulation parameters on the formulation of submicron particles by solvents displacement and emulsification-diffusion methods critical comparison. *Advances in colloid and interface Science*. 163 (2) 90-122.
- Morfesis, A., Jacobson, A.M., Frollini, R., Helgeson, M., & Billica, J. (2009). Role of zeta potential in the optimization of water treatment facility operation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 48, 2305-2308.
- Mosqueira, V.C., Legrand, P., Pinto-Alphandary, H., Puisieux, F., Barratt, G. (2000). Poly(D,L-lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: influence of the composition on physicochemical and structural properties. *J. Pharm. Sci.* 89, 614–626.
- Murúa, B., Beristain, C., & Martinez, F. (2009). Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering*. 9 (3) 380-386.
- Nadjat, A., Shiv, S., Nacera, C., Stephane, S., & Monique, L. (2021). In situ synthesis of silver nanoparticles in pectin matrix using gamma irradiation for the

- preparation of antibacterial pectin / silver nanoparticles composite. *Food Hydrocolloids*, 121.
- Nafise, M., Sajad, P., & Jafar, F. (2022). Biodegradable films based on lemon peel powder containing xanthan gum and TiO₂- Ag nanoparticles. Investigation of physicochemical and antibacterial properties. *Polymer Testing*. 106.
- Naseer, B., Srivastava, G., Shafiq, O., Ahmad, S., & Ypunis, Y. (2018) Importance and health hazards of nanoparticles used in the food industry. *Nanotechnology Reviews*. (7).
- Nobeta, H. (2014). Elaboración y caracterización de nanopartículas de quitosano y quitosano/timol mediante pulverización-congelación en nitrógeno líquido (SFL) y su incorporación a películas quitosano/proteína de quinoa. Facultad de ciencias Químicas y Farmacéutica, Universidad de Chile.
- Ojeda-Piedra, s., Zambrano-Zaragoza, ML. (2020) Incorporación de sistemas antioxidantes nanoestructurados, por infiltración con ultrasonidos para alargar la vida útil de la papa fresca cortada. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Oropesa, R., & Jáuregi, U. (2012) Las nanopartículas como portadores de fármacos características y perspectivas. *CENIC*. 43, 1-22.
- Overbeek, J. T.G (1952) *Colloid science*. Elsevier, Amsterdam (1).
- Palaniappan, K., Holley, R, A. (2010). Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacterial. *Int J Food Microbiol* (140), 164-168
- Pavlati, A.E., Orts, W. (2009). Edible films and coatings: why what and How?. En: Embuscado, M.E, Huber, K.C. (eds) *Edible Films and Coating for food applications* Ed. Springer. 12.
- Peltzer, M., Jiménez, A. (2009). Determination of oxidation parameters by DSC for polypropylene stabilized with hydroxytyrosol 3-4-dihydroxy-phenylethanol. *Journal Therm, Anal, Calorim*. 96, 243-248.
- Peppas, N.A., & Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release: III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal Pharmaceutic*.

- Peppas, N.A., Hilt, J.Z., Khademhosseini, A., Langer, R. (2006) Hydrogels in biology and medicine from molecular principles to bionanotechnology. *Advanced materials*, (18) 1345-1360.
- Peppas, N.A. (1983) *Controlled drug bioavailability*. Wiley New York. (1) 274-281.
- Pharm, N.S., Ph, D.K., Pharm, N.S. (2017) Optimization of formulation parameters and characterization of simvastatin loaded chitosan nanoparticles. *International Journal Aditives*. 5, 2386-2400.
- Pilati, F., Degli-Esposti, M., Bondi, M., Isepp, R., & Tasell, M. (2013). Designing of antimicrobial plastics: thymol release from photocured thymol-deped acrylic resins. *The Journal of Materials Science*. 48, 4378-4386.
- Pinos, J. (2018) Estudio de la dosificación del almidon extraido del banano en un polímero de tipo termoplástico. *Revista colombiana de química* (48)
- Pinto, C., Neufeld, R., Ribeiro, A., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I, methods for preparation of drug loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine-nanotechnology Biol Med*. 2 (1) 8-21.
- Piorkowshi, D.T., McClements, D.J. (2014). Beverage emulsions recent developments in formulation production and applications. *Food hydrocolloids*. 42, 5-41
- Piorkowsk, D.T., McClements, D.J. (2014). Beverage emulsions: recent developments in formulation, production and applications. *Food Hydrocolloids*. 42, 5-41.
- Placentini, E. (2016) Encapsulation efficiency. *Encyclopedi of membranes*. Springer (22) 26-27.
- Pothakamury, U., Barletta, B., & Barbosa, G. (1993). Inactivacion de microorganismos en alimentos utilizando campos magnéticos osilantes. *Revista española de ciencia y tecnologia de alimentos*. 33, 479-489.
- Ppapadoppulou, V., Kosmidis, K., Vlachou, M., & Macheras, P. (2006). On the use of the wiebull function of the discernment of the drug release mechanisms. *International Journal opf Pharmaceutics*. 309, 44-50.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., Doelker, E. (1998). Tecnicas de preparación y mecanismos de formación de nanopartículas biodegradables a

- partir de plimeros preformados. *Revista desarrollo de fármacos y farmacia industrial*. 24 (12) 1113-1128.
- Quintero, C., Falguera, V., Muñoz, A. (2010) películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga* (5) 93-118.
- Quintili, M, (2019) Nanociencia y nanotecnología ... un mundo pequeño. *Cuadernos del centro de estudios de Diseño y Comunicación*, 42 (42), 125-154
- Quirós-Sauceda, A.E., Ayala-Zavala, J.F., Olivas, G.L., Gonzales-Aguilar, C.A. (2014). Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds. *Journal Food Science*. 51, 1674-1685.
- Rai, M., Paralilar, P., Jogee, P., Agarkar, G., Ingle, P., Derita, M., Zacchino, S. (2017) Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: emerging trends and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*. (519) 67-78.
- Rao, J.P., Geckeler, K.E. (2011) Polymer nanoparticles: preparation techniques and size control parameters. *Progress in Polymer Science* 36 (7) 887-913.
- Reinhart, C.T., Korsmeyer, R.W., Peppas, N.A (1981) *Pharmaceutical Journal* *Pharmaceutic Technology* (2) 9
- Revathy, V.N., Shefin, N., Suresh, A., Anoop, K.P., Narr, C. (2018). Sustained release thymol maleate loaded ocusert base don biopolymer composite. *International Journal of Biological Macromolecules*. 110, 308-317.
- Ribeiro, C., Vicente A. A., Teixeira J. A., Miranda C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology* (44) 63 – 70.
- Ritger, P., Peppas, N.A. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and Non-Fickian release from non-swellable device in the form of slabs, spheres cylinder of discs. *Journal Controlled Release*. 5 (1) 23-26.
- Ritger, P.L., & Peppas, N.A., (1987). A simple equation for description of solute release II Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Control Release*. 5, 37-42.

- Rojano, B.A., Gaviria C.A., Saenz, J.A. (2008) Antioxidant activity determinations in a lipidic peroxidation model of butter inhibited by isoespintanol Vitae, *Journal Pharmaceutic* (21) 212-218
- Rojas, A., Torres, A., Martínez, F., Salazar, L., Villegas, C., Galotto, M.J., Guarda, A., & Romero, J. (2017). Assessment to kinetic release of thymol from LDPE nanocomposites obtained by supercritical impregnation: effect of despressurization rate and nanoclay content. *European Polymer Journal*. (93) 294-306.
- Sáenz-Orviz, S., Marcet, I., Weng, S., Rendueles, M., & Días, M. (2020). PLA nanoparticles loaded with thymol to improve its incorporation onto gelatine films. *Journal of Food Engineering*, 269, 109751.
- Sáez, V. E. H. (2002) Sistemas de liberación controlada de medicamentos. *Revista Iberoamericana de polímeros*, (3) 29-36.
- Salgado-Ramírez, D., Abugoch, L. (2019). Elaboración de nanopartículas de quitosano-timol mediante el método pulverización-congelación en nitrógeno líquido, evaluación de su capacidad antifúngica frente a micelio de *botrytis cinérea* y comparación con nanopartículas obtenidas por gelificación iónica. Tesis de Licenciatura, Universidad de Chile.
- Sanchez-Garcia, M.D., Ocio, M.J., Gimenez, E., Lagaron J.M. (2018) Novel polycaprolactone nanocomposites containing thymol of interest in antimicrobial films and cuanting application. *Journal of Plastic Flims and Sheeting* (24) 239-251.
- Sanguansri, P., Augustin, M.A. (2006). Nanoscale materials development: a food industry perspective. *Trends Foods Science Technology*. 17, 547-556.
- Santiago-Santiago, M. (2015). Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana.
- Saracavos, G.D. (1995). Mass tranfer properties of food. *Engineering properties of food* Rcio, M.A. Marcel Beker Inc. New York USA 169-221.
- Sarontópoulos, C.I.G.L., Oliveira, L.M., Padula, M. (2002). Principais polimers e Avaliacao de propiedades. *Embalagens Plasticas Flexiveis*. 267.

- Sartor, M (2000) Dynamic light scattering to determine the radius of small beads in Brownian motion in a solution. University of California San Diego. 2-18.
- Shah, B., Ikeda, S., Davidson, P.M., Zhong, Q. (2012) Nanodispersing thymol in whey protein isolate-maltodextrin conjugate capsules produced using the emulsion evaporation technique. *Journal Food Engineering* (113) 79-86
- Shahidi, F., Janitha P.K., Wanasundara, P.D. (1992) Phenolic Antioxidants. *Food Science Nutrition* (32) 67-103
- Sharma, S. & Rao, T. R. (2015). Xanthan gum based edible coating enriched with cinnamic acid prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut pears. *LWT-Food Science and Technology* , 62(1), 791-800.
- Shimazu, A.A., Mali, S., Grossmann, M.V.E. (2007). Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca semina. *Gências Arárias, Londrina.* (28) 79-88.
- Siepmann, J., Siegel, R., & Siepmann, F. (2012). Fundamentals and application of controlled release drug delivery. *Advances in delivery science and technology.* 34, 245-251.
- Siepmann, J., Siepmann, F. (2011) Mathematical modeling of drug release from lipid dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics* (418) 42-53.
- Silva-Weiss, A., Ihl, M., Sobral, P., Gómez, M., & Bifani, V. (2013). Natural additives in bioactive edible films and coatings: functionality and application in foods. *Food Eng Rev.* 5. 200-216.
- Singhvi, G., & Singh, M. (2011). Review: in vitro drug release characterization models. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*, 2, 77-84.
- Solano, L.G., Alamilla, L., Jimenez, C. (2018) Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas.* (21) 30-42.
- Sullivan, D.J., Cruz-Romero, M., Collins, T., Cummins, E., Kerry, J.P., & Morris, M.A. (2018). Synthesis of monodisperse chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 83, 355-364.
- Thu Pham, A. (1994) Probing the mechanism of drug release from HCPM matrices. *Pharmaceutical Review.* (11) 110-119.

- Tohidi, B., Rahimmalek, M., Arzani, A. (2017) Essential oli composition, total phenolic, flavoid contents and antioxidant activity of thymus species collectd from different regions of Iran. Food Chemistry (220) 153-161
- Tonyali, B., McDaniel, A., Ammamcharla, J., Tricetta, V., & Yucel, U. (2020). Release hinetics of cinnamaldehyde, eugenol and thymol from sustainable and biodegradable active packaging films. Food Packaging and Shelf Life. 24, 100484.
- Torres, A., Romero, J., Macan, A., Guarda, A., & Galotto, M.J. (2014). Near critical and super critical impregnation and kinetic release of thymol in LLDPE films used for food packaging. The Journal of Supercritical Fluids. (85) 41-48.
- Trujillo-Rivera, C.T. (2014). Obtención de películas biodegradables a partir de almidon de Yuca *manihot esculenta crantz* doblemente modificado para uso en empaque de alimentos. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Amazónicas de Madre de Dios Perú.
- Valdés, D., Baños, B., Rodrigue, F., Pereira, G., & Ramírez, A. (2005). Películas y recubrimientos comestibles, una alternativa favorable en la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. Revista ciencias tecnológicas Agrícolas. 24 (3) 52-56.
- Vazquez-Briones, M., Guerrero-Beltran, J. (2013) Recubrimientos de frutas con biopelículas. Temas selectos de ingeniería de alimentos, 7(2)5-14.
- Vazquez-Briones, M.d.C., Guerrero-Beltrán, J.A. (2017). Efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre propiedades fisicoquímicas en películas de quitosano. Scientia Agropecuaria. 8 (4) 401-407.
- Velasco-Rodriguez, V., Cornejo-Mazón, M., Flores-Flores., J.O., Gutierrez-López, G.F., Hernandez-Sánchez, H. (2012). Preparation and properties of alpha-lipoic acid-loaded chitosan nanoparticles. Revista mexicana de in genieria quimica, vol.II (1) 155-11.
- Vergnaud., J.M. (1993) Liquid transport controlled release processes in polimeric materials. Aplication to oral dosage forms International Journal Pharmaceutical. (90)
- Vernin, G., Lageot, C., Gaydou, E. (2001) Analysis of the essential oil of Lippia graveolens. Flavour Fragrans Journal (16) 219-226

- Vieira, M., Da Silva, M., Dos Santos, L., Beppu, M. (2011). Natural-based plasticizer and biopolymer films. *European polymer Journal*. 47 (3) 254-263.
- Vos, P., Faas, M., Spasojevic. M., & Sikkeme. J. (2009) Review multiscale requirements for bioencapsulation in medicine and biotechnology. *Biomaterials*. 30 (13) 2259-2570.
- Wabg, X., Hu, Y., Zhang, Z., & Zhang, B. (2022). The application of thymol-loaded chitosan nanoparticles to control the biodeterioration of cultural heritage sites. *Journal of Cultural Heritage*. 53, 206-211.
- Wade A., Reynolds J.E.F (1997). *Martindale-la Farmacopea Extra*. Londres: The Pharmaceutical Press; 536–537.
- Weiner, B., Tscharnuter, W., Fairhurst, D. (1993) *Zeta potential: A new approach*. Brookhaven instruments corporation Holtsville. (5).
- Weiss, J., Takhistor, P., McClements, D. J. (2006) Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*. 71(9) 1-10.
- Wu, Y., Luo, Y., & Wang, Q. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid–liquid dispersion method. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2), 283–290.
- Xiuxiu, L., Xi, Y., Hong, D., Guo, Y., Jia, X. (2020) Gelatin films incorporated with thymol nanoemulsion: physical properties and antimicrobial. *International of Biological*. 150 (1) 161-168.
- Xu, R. (2015) Light scattering. A review of particle characterization applications. *Particuology* (18)11-21.
- Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jimenez, J., Marquez, M., Ramos, E. (2002) Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista avance y perspectiva*. (21) 313-319.
- Yao, Z., Le Maguer, M. (1997). Mathematical modelling and simulation of mass transfer in osmotic deshydration process part III study. *Journal os food engineering*. 32, 33-46.
- Yarce, C.J., Pineda, D., Corea, C., & Salamanca, C. (2016) Relationship between Surface properties and in vitro drug release from a compressed matrix containing on amphipilic polymer material. *Pharmaceuticals* 9 (34) 1-20.

- Zambrano-Zaragoza, M. L. M. L., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T. F., Mendoza-Elvira, S., & Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3).
- Zambrano-Zaragoza, M.L., Mercado-Silca, E., Gutierrez-Cortes, E., Castaño-Tostado, E., & Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of nanoparticles preparation by the emulsion-difusion methods for food aplicaciones. *LWT Food Science and Technology*. 44 (6) 1362-1368.
- Zambrano-Zaragoza, M.L., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, A., Pion-Segundo, E., & Zambrano-Zaragoza, J.F. (2017). The release kinetics of b-caronene nanocapsules/xanthana gum coating and quality changes in fresh-cut melon (contaloupe). *Carbohydrate Biology Hydrocolloids*. 57 (3) 138-144.