



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS
PARA LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS”**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. Moises Job Galindo Pérez

Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Ciudad de México, noviembre de 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

TEMA DE TESIS

**“DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE NANOPARTÍCULAS
POLIMÉRICAS PARA LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS”**

**T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Moises Job Galindo Pérez

**Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM**



Ciudad de México, noviembre de 2019

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. María del Carmen Durán Domínguez

Primer Vocal: Dra. Laura Patricia Martínez Padilla

Segundo Vocal: Dr. Mario Enrique Rodríguez García

Tercer Vocal: Dra. María del Carmen Wachter Rodarte

Secretario: Dr. Miquel Gimeno Seco

Tutora: Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza

Miembros del Comité Tutor: Dr. David Quintanar Guerrero

Dr. Mario Enrique Rodríguez García

LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO EXPERIMENTAL Y LA TESIS:

Laboratorio 16, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4.

DECLARATORIA

Declaro conocer el código de ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o en referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales.

M. en C. Moises Job Galindo Pérez

El presente trabajo fue financiado por los proyectos PAPIIT: IT201617 “Efecto de recubrimientos nanoparticulados y tratamiento con luz UV-C sobre la actividad antioxidante, enzimática e integridad de frutas y hortalizas cortadas” e IT201717 “Desarrollo, caracterización y evaluación de sistemas de liberación controlada armados por asociación entre nano y micropartículas” de la DGAPA-UNAM; así mismo, por los proyectos de CONACyT CB-221629 e INFRA 251940 y los proyectos internos PIAPI 1801 y 1804.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por la formación académica de calidad.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM por los apoyos otorgados para la asistencia a congresos y su apoyo en los trámites de obtención del grado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante mis estudios de doctorado (Becario: 288884).

A mi tutora Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza por el apoyo y la supervisión durante el desarrollo de este proyecto.

A los miembros de mi Comité Tutor Dr. David Quintanar Guerrero y Dr. Mario Enrique Rodríguez García, por sus aportaciones y sugerencias.

A la M. en I.Q Alicia del Real López del laboratorio de microscopía del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM por su asistencia en la microscopía electrónica de barrido.

A la Técnico Académico Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas, por su apoyo con los equipos de laboratorio.

A los miembros del Jurado, por su sustancial aporte para mejorar la calidad de este manuscrito.

A la Dra. Carmen Durán Domínguez de Bazúa y la Dra. Laura Patricia Martínez Padilla por sus importantes aportaciones.

A los amigos del L-323, Eduardo Serrano, Armando Soto, Guillermo Aguas, Alejandro Ortiz, Mauricio Hernández, Gilberto García, Oscar Escalona, Citlalli Alonso, Paulina Fuentes, Cristian Escalona y Abraham Ramírez.

A Tania Bernal y Marleny Lozano quienes hicieron amenas las horas en el laboratorio.

A Gustavo Vidal con quien he compartido este largo camino, gracias amigo.

Con todo mi amor a mi hijo Emiliano,

A mis padres Humberto y Georgina,

A mis hermanos Ezel e Isaac,

A Lizbeth, gracias por tu cariño.

ARTÍCULO PUBLICADO

Galindo-Pérez, M. J., Quintanar-Guerrero, D., Cornejo-Villegas, M.d.l.A., Zambrano-Zaragoza, M.d.l.A. (2018). Optimization of the emulsification-diffusion method using ultrasound to prepare nanocapsules of different food-core oils. *LWT-Food Sci. Technol.*, 87, 333-341.

PRESENTACIÓN DE TRABAJOS EN CONGRESOS

Galindo-Pérez M.J., Zambrano-Zaragoza M.L., Quintanar-Guerrero D., García-Betanzos C.I. (2016). Preparation and characterization of β -carotene/shellac and β -carotene/ethyl cellulose nanocapsules. Congreso Internacional Latin Food 2016. Cancún, Quintana Roo, México.

Galindo-Pérez M.J., Quintanar-Guerrero D., Cornejo-Villegas M.A., Zambrano-Zaragoza, M.L. (2017). Preparación y caracterización de nanocápsulas de curcumina y aceite de limón para uso cosmético. XXIII Congreso Latinoamericano e Ibérico de Químicos Cosméticos, Cancún, Quintana Roo, México.

Galindo-Pérez M.J., Quintanar-Guerrero D., Martínez-Acevedo L., and Zambrano-Zaragoza M.L. (2018). Optimization of nanoencapsulation of β -carotene using the emulsification-diffusion method coupled with ultrasound. 11th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Granada, Spain.

Galindo-Pérez, M.J., Lozano-Amaro, M., Quintanar-Guerrero, D., Zambrano-Zaragoza, M.L. (2018). Evaluation of OSA-starch and carboxymethyl cellulose as edible coatings on the preservation of fresh-cut 'Maradol' papaya'. Congreso Internacional Latin Food 2018. Puerto Vallarta, Jalisco, México.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	xvi
GLOSARIO.....	xviii
RESUMEN	xxvi
ABSTRACT	xxviii
CAPÍTULO I: PROBLEMÁTICA	1
1.1. Introducción	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos particulares	3
1.3. Hipótesis	3
CAPÍTULO II: ANTECEDENTES.....	4
2.1. Generalidades de la nanotecnología.....	4
2.1.1. Definición de los nanomateriales	5
2.2. Métodos de preparación de nanopartículas.....	6
2.2.1. Nanopartículas poliméricas y su obtención	6
2.2.1.1. Emulsificación-evaporación de disolvente	7
2.2.1.2. Método de precipitación salina	9
2.2.1.3. Desplazamiento de disolvente.....	10
2.2.1.4. Método de emulsificación-difusión	11
2.3. Polímeros usados para la preparación de nanocápsulas poliméricas	13
2.3.1. Poli-(ϵ -caprolactona), PCL.....	14
2.3.2. Etilcelulosa	15
2.4. Equipos para homogeneización	17
2.4.1. Homogeneizadores de alta presión	18
2.4.2. Microfluidificadores	18
2.4.3. Homogeneizadores tipo rotor y “estator”	19
2.4.4. Homogeneizadores ultrasónicos	20
2.5. Caracterización de las nanopartículas.....	22

2.5.1.	Tamaño de partícula e índice de polidispersión	22
2.5.2.	Potencial zeta.....	25
2.5.3.	Estabilidad física.....	27
2.6.	Nanopartículas aplicadas en alimentos	29
2.6.1.	Nanopartículas para conservar alimentos	30
2.7.	Aceites esenciales	32
2.7.1.	Aceite esencial de limón.....	34
2.7.2.	Aceite esencial de romero.....	36
2.7.3.	Curcumina	38
2.8.	Frutas frescas cortadas	40
2.9.	Generalidades de la papaya (<i>Carica papaya</i>)	42
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....		49
3.1.	Materiales.....	49
3.1.1.	Materiales químicos.....	49
3.1.2.	Material biológico	49
3.2.	Optimización para la preparación de nanocápsulas	50
3.2.1.	Diseño experimental para la optimización	50
3.2.2.	Optimización del proceso de preparación de nanocápsulas	51
3.2.3.	Preparación de nanocápsulas	51
3.2.3.	Caracterización de las nanopartículas.....	52
3.2.3.1.	Tamaño de partícula e índice de polidispersión.....	52
3.2.3.1.	Potencial zeta de las nanopartículas.....	52
3.2.3.2.	Eficiencia de encapsulación.....	52
3.2.3.3.	Densidad de las nanopartículas.....	53
3.2.3.1.	Verificación del método y versatilidad	53
3.2.3.2.	Caracterización morfológica de las nanocápsulas	54
3.3.	Determinación de la estabilidad de las nanocápsulas	54
3.4.	Aplicación de las nanocápsulas sobre papaya fresca cortada	55
3.4.1.	Pruebas de aceptabilidad sensorial	55
3.4.2.	Aplicación de los recubrimientos en papaya fresca cortada.....	55
3.4.3.	Pruebas físicas sobre la papaya fresca cortada, tratada y refrigerada.....	55

3.4.3.1. Consumo de O ₂ y producción de CO ₂	55
3.4.3.2. Determinación del color.....	56
3.4.3.3. Determinación de la firmeza en la papaya fresca cortada.....	56
3.4.4. Pruebas bioquímicas en la papaya fresca cortada tratada con las diferentes nanocápsulas	57
3.4.4.1. Evolución de la actividad polifenoloxidasas (PFO)	57
3.4.4.2. Medición de la actividad de la pectinmetilesterasa (PME).....	57
3.4.4.3. Determinación de proteína.....	58
3.4.5. Evaluación de compuestos químicos en la papaya fresca cortada con los diferentes sistemas nanocapsulares	58
3.4.5.1. Medición de fenoles totales	58
3.4.5.2. Determinación de carotenoides totales	58
3.5. Análisis estadístico.....	59
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
4.1. Optimización para la obtención de nanopartículas usando homogeneización con ultrasonido y el método de emulsificación-difusión.....	60
4.1.1. Ajuste del modelo obtenido y análisis estadísticos	60
4.1.2. Condiciones óptimas para obtener las nanocápsulas.....	63
4.1.3. Tamaño de partícula	64
4.1.4. Índice de polidispersión.....	66
4.1.5. Potencial zeta.....	67
4.1.6. Eficiencia de encapsulación	69
4.1.7. Densidad	71
4.1.8. Versatilidad del método.....	72
4.1.9. Morfología de las nanocápsulas	76
4.1. Comparación del índice de estabilidad medido con el equipo <i>Turbiscan (TSI)</i> de las nanocápsulas poliméricas con diferentes aceites alimenticios	78
4.1.1. Nanocápsulas de β -caroteno	80
4.1.2. Nanocápsulas de aceite de limón.....	80
4.1.3. Nanocápsulas de aceite de romero.....	81
4.1.4. Nanocápsulas de curcumina	82

4.2.	Determinación de los mecanismos de inestabilidad física de las nanopartículas preparadas y almacenadas a temperatura ambiente por 665 horas	82
4.3.	Evaluación de aceptabilidad de la papaya fresca cortada recubierta con los diferentes sistemas nanométricos.....	88
4.4.	Caracterización de las nanopartículas antes de ser aplicadas en la papaya fresca cortada.....	89
4.5.	Efecto de recubrimientos con nanopartículas sobre propiedades fisicoquímicas de papaya fresca cortada.....	92
4.5.1.	Cambios en el pH y la acidez	92
4.5.2.	Contenido de sólidos solubles totales (SST) en la papaya fresca cortada y recubierta con las nanocápsulas	96
4.6.	Propiedades físicas de la papaya recubierta con los diferentes nanosistemas	99
4.6.1.	Respiración de la papaya fresca cortada tratada con nanocápsulas.....	99
4.6.2.	Efecto de las nanopartículas en la velocidad de producción de CO ₂	99
4.6.3.	Efecto de las nanopartículas en la velocidad de consumo de O ₂	103
4.6.4.	Evolución de los cambios de color de la papaya fresca cortada y recubierta con los diferentes tratamientos.....	105
4.6.5.	Cambios en el valor de a* de la papaya recubiertas con las nanodispersiones	109
4.6.6.	Cambios en los valores de b* de la papaya recubiertas con las diferentes nanodispersiones	112
4.6.7.	Cambios en la firmeza de la papaya fresca cortada.....	116
4.7.	Cambios bioquímicos de la papaya troceada recubierta con las nanodispersiones	121
4.7.1.	Evolución de la actividad de la PME en la papaya tratada con las nanodispersiones	121
4.7.2.	Evolución de la actividad de la PFO	124
4.8.	Modificación de los compuestos químicos en la papaya fresca cortada y tratada con nanodispersiones	128
4.8.1.	Contenido de fenoles totales en la papaya fresca cortada	128
4.8.2.	Evaluación del contenido de carotenos	131

CONCLUSIONES	136
PERSPECTIVAS.....	138
REFERENCIAS	139
ANEXOS	172
A.I. Análisis estadísticos.....	172
A.II. Análisis de deseabilidad	186
A.III. Disposición de residuos de esta investigación	187

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Fenómenos de inestabilidad determinados por el equipo <i>Turbiscan</i> (Mengual et al., 1999).....	28
Tabla 2: Composición porcentual de aceite de limón (Teixeira et al., 2013).....	34
Tabla 3: Composición química del aceite de romero (Jiang et al., 2011)	37
Tabla 4: Diferentes compuestos químicos utilizados para conservar papaya	45
Tabla 5: Métodos físicos y combinados (físicos y químicos) utilizados para incrementar la vida útil de papaya fresca cortada.....	47
Tabla 6: Variables codificadas y no codificadas usadas para generar el diseño central compuesto.....	50
Tabla 7: Características y eficiencia de encapsulación de las nanocápsulas preparadas a diferentes condiciones de acuerdo con el diseño central compuesto.....	61
Tabla 8: Análisis de varianza y coeficientes de determinación de las variables dependientes estudiadas como función de las variables independientes.....	62
Tabla 9: Funciones de deseabilidad de las variables independientes bajo las condiciones óptimas	63
Tabla 10: Comparación de nanocápsulas usando diferentes aceites encapsulantes y poli-(ϵ -caprolactona) (PCL) y etilcelulosa como polímeros	73
Tabla 11: Tiempo de estabilidad, mecanismo de inestabilidad y velocidad de migración de las nanocápsulas de β -caroteno, aceite de limón y curcumina, fabricadas con poli-(ϵ -caprolactona) PCL o etilcelulosa como polímeros barrera y Pluronic F-127 (PF-127) o alcohol polivinílico (PVA) como estabilizantes.....	84
Tabla 12: Valores promedio de la evaluación sensorial de la papaya fresca cortada recubierta con las nanodispersiones	89
Tabla 13: Caracterización de las nanopartículas antes de ser utilizadas como recubrimientos en papaya fresca cortada.....	90
Tabla 14: Cambios en el pH y acidez de papaya tratada con nanocápsulas de aceite de limón y curcumina usando etilcelulosa y PCL como polímeros barrera.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura de la poli-(ϵ -caprolactona), PCL (Labet y Thielemans, 2009)	15
Figura 2: Estructura de la etilcelulosa (Rekhi y Jambhekar, 1995).....	16
Figura 3: Mecanismo de cavitación durante la homogeneización por ultrasonido (Izadifar et al., 2019).....	21
Figura 4: Coeficiente de correlación de las partículas de diferentes tamaños en función del tiempo	23
Figura 5: Representación esquemática del potencial zeta (Cano-Sarmiento et al., 2018)...	26
Figura 6: Representación esquemática del mecanismo antibacteriano de las nanopartículas inorgánicas (Hoseinnejad et al., 2018)	31
Figura 7: Sitios de acción y mecanismos de los aceites esenciales en una célula bacteriana (Burt, 2004)	33
Figura 8: Estructura química de la curcumina (Strimpakos y Sharma, 2008).....	39
Figura 9: Aspecto visual de la papaya ‘Maradol’ en cada estado de madurez. V: verde sin rayas naranjas; 1: piel verde con ligeras rayas amarillas; 2: piel verde con rayas amarillas bien definidas; 3: una o más rayas naranjas en la piel; 4: piel de color naranja con algunas áreas verdes; 5: piel color naranja característico de la papaya ‘Maradol’; color de la piel similar al estado 5, pero más intenso (Basulto et al., 2009)	49
Figura 10: Gráfica de superficie de respuesta del tamaño de partícula de las nanocápsulas en función de la potencia ultrasónica y la relación PCL/ β -caroteno	64
Figura 11: Gráfica de superficie de respuesta para el índice de polidispersión de las nanocápsulas de a las diferentes condiciones de potencia y relaciones PCL/ β -caroteno.....	66
Figura 12: Gráfica de superficie de respuesta del potencial zeta obtenido para las nanocápsulas preparadas a diferentes condiciones de potencia y relación PCL/ β -caroteno	68
Figura 13: Gráfica de superficie de respuesta de la eficiencia de encapsulación de las nanocápsulas preparadas en función de la potencia ultrasónica y la relación PCL/ β -caroteno	70
Figura 14: Nanopartículas de aceites esenciales y curcumina preparadas a las condiciones óptimas con PCL y etilcelulosa como polímeros barrera.....	74

Figura 15: Micrograffías de las diferentes dispersiones formadas con el método de emulsificación-difusión acoplado con ultrasonido. a) Nanocápsulas de β -caroteno/PCL; b) nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa; c) nanocápsulas de A. Limón/PCL; d) nanocápsulas de A. Limón/etilcelulosa; e) nanocápsulas de A. Romero/PCL; f) nanocápsulas de A. Romero/etilcelulosa; g) nanocápsulas de curcumina/PCL; h) nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa.....	77
Figura 16: <i>TSI</i> de las nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina preparadas con etilcelulosa o PCL como polímeros barrera. (a) Usando Pluronic F-127 (PF-127); (b) usando alcohol polivinílico (PVA).....	79
Figura 17: Representación de la sedimentación como mecanismo de inestabilidad de las nanocápsulas. La zona 1 es la parte inferior de la celda; la zona 2 es la parte intermedia, y la zona 3 es la parte superior, el menisco del líquido.....	83
Figura 18: Sólidos solubles totales en la papaya fresca cortadas almacenadas por 17 días a 4°C. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	97
Figura 19: Velocidad de formación de CO ₂ de los lotes con trozos de papaya tratados con nanocápsulas conteniendo aceite de limón o curcumina. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	101
Figura 20: Velocidad de consumo de O ₂ de la papaya tratadas con nanopartículas conteniendo aceite de limón o curcumina. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	104
Figura 21: Evolución en los valores de L* de la papaya recubierta con los diferentes sistemas nanocapsulares. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	107
Figura 22: Cambios en los valores de a* de la papaya recubiertas con los diferentes sistemas nanocapsulares. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	110
Figura 23: Cambios en el valor de b* en la papaya tratada con los diferentes sistemas. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	113
Figura 24: Firmeza de la papaya recubierta con las diferentes dispersiones durante 17 días de almacenamiento. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	117

Figura 25: Cambios en la actividad de la enzima PME de la papaya tratada y almacenadas. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	122
Figura 26: Evolución de la actividad enzimática PFO de la papaya recubierta y almacenadas en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	125
Figura 27: Contenido de fenoles totales en la papaya recubierta y almacenada en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	129
Figura 28: Contenido de carotenos en la papaya recubierta y almacenada en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl ₂	132
Figura 29: Proceso de oxidación del β-caroteno (Boon et al., 2010)	133
Figura 30: Gráfica de deseabilidad para la formación de nanocápsulas usando como variables independientes la potencia de ultrasonido, la cantidad de PCL y β-caroteno. IPD: índice de polidispersidad; ζ: potencial zeta; TP: tamaño de partícula; EE: eficiencia de encapsulación.	186

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
°C	Grados Celsius
μL	Unidad de volumen en microlitros
μm	Unidad de longitud en micrómetros
a*	Espacio de color de verde a rojo en la medición de color
Abs/min	Absorbancia por minuto
b*	Espacio de color de azul a amarillo en la medición de color
cm	Unidad de longitud en centímetros
D	Coefficiente de difusión
DCCR	Diseño central compuesto rotatable
E	Fuerza de campo eléctrico
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EE	Eficiencia de encapsulación
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
$g^{(1)}$	Función de correlación normalizada del campo eléctrico (Ecuación 2-2)
$g^{(2)}$	Función normalizada del tiempo de correlación (Ecuación 2-1 y 2-2)
g	Unidad de masa en gramos
g/cm ³	Unidad de densidad en gramos sobre centímetro cúbico
GRAS	Generalmente reconocido como seguro, por sus siglas en inglés
H	Altura de la muestra en la celda de medición. Ecuación (3-4)
h	Unidad de tiempo en horas
ha	Unidad de medida de área en hectáreas
IPD	Índice de polidispersión
I	Intensidad de la luz dispersada
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, por sus siglas en inglés
L*	Espacio de color de la luminosidad en la medición de color
min	Unidad de tiempo en minutos
mL	Unidad de volumen en mililitros
NC	Nanocápsulas
nm	Unidad de longitud en nanómetros
Almidón-OSA	Octenil succinato anhidro de almidón
PCL	poli-(ε-caprolactona)
PET	Tereftalato de polietileno, por sus siglas en inglés
PF-127	Pluronic F-127; poloxámero 407
PFO	Enzima polifenoxidasas
PG	Enzima poligalacturonasa

pH	Potencial de hidrógeno
PHB	Polihidroxibutirato
PLA	Ácido poliláctico, por sus siglas en inglés
PLGA	Ácido poli(láctico-co-glicólico), por sus siglas en inglés
PFO	Enzima polifenoloxidasas
PME	Enzima pectinmetilesterasa, por sus siglas en inglés
POD	Enzima peroxidasa, por sus siglas en inglés
PVA	Alcohol polivinílico, por sus siglas en inglés
PVC	Cloruro de polivinilo, por sus siglas en inglés
PVP	Polivinilpirrolidona
RCO ₂	Velocidad de formación de CO ₂
RO ₂	Velocidad de consumo de O ₂
SEM, MEB	Microscopía electrónica de barrido, por sus siglas en inglés
scan _i (h)	Promedio de retrodispersión para cada tiempo (<i>i</i>). Ecuación (3-4)
scan _{i-1} (h)	Promedio de la retrodispersión para el tiempo <i>i-1</i> . Ecuación (3-4)
SST	Sólidos solubles totales
TP	Tamaño de partícula
TSI	Índice de estabilidad medido por <i>Turbiscan</i> , por sus siglas en inglés
V	Velocidad de la partícula
W	Unidad de potencia en watts
X _{1,2,3}	Variables en estudio (X ₁ =potencia del dispositivo, X ₂ =cantidad de β-caroteno, X ₃ =cantidad de poli-(ε-caprolactona))
xg	Unidad de la fuerza centrífuga relativa
Y _{1,2,3,4,5}	Variables de respuesta (Y ₁ =tamaño de partícula. Y ₂ =índice de polidispersión, Y ₃ =potencial zeta, Y ₄ =eficiencia de encapsulación, Y ₅ =densidad.

Caracteres griegos

β	Factor de coherencia (ecuación 2-2)
βG	Enzima β-galactosidasa
Γ	Velocidad de decaimiento (ecuación 2-3)
ΔBS	Cambio de la retrodispersión
η	Viscosidad (ecuación 2-5)
μ	Movilidad electroforética (ecuación 2-11)
ζ	Potencial zeta (ecuación 2-12)
τ	Correlación del tiempo de retardo (ecuación 2-1)

GLOSARIO

Ácido poliláctico (<i>PLA</i>)	Es un polímero biodegradable, termoplástico siendo su precursor el ácido láctico. Utilizado para la producción de hilo para suturas, implantes, cápsulas para la liberación de fármacos, prótesis, producción de envases y empaques para alimentos
Ácido poliláctico-co-glicólico (<i>PLGA</i>)	Es un material biodegradable y altamente biocompatible aprobado por la <i>FDA</i> . Es un copolímero de ácido poliláctico y ácido poliglicólico empleado para la liberación de compuestos activos
Alcohol polivinílico (<i>PVA</i>)	Es una resina sintética que sirve como agente de recubrimiento. Se obtiene por polimerización del acetato de vinilo seguida por una hidrólisis parcial del éster. El proceso se basa en el remplazamiento parcial del grupo éster en el acetato de vinilo con grupos hidroxilo. Es usado en alimentos como agente de glaseado, espesante y formador de películas. Clasificado como aditivo químico por el Codex Alimentarius, SIN:1203. (Codex Alimentarius, 1995)
Alimento	Cualquier sustancia o producto, sólido, semisólido, natural o transformado, que proporciona al organismo elementos para su nutrición
Almidón-OSA	Almidón alimenticio esterificado con n-octenil-succinato anhidro, tratado con β -amilasas. Es usado como estabilizante o emulsificante en bebidas no alcohólicas y bases de bebidas. Clasificado como aditivo químico por el Codex Alimentarius, SIN: 1450. (Codex Alimentarius, 1995)
Bixina	La bixina es una sustancia cristalina de color rojo, naranja o amarilla, soluble en alcohol, aceites y grasas e insoluble en agua. Se extrae comúnmente de semillas de <i>Bixa orellana</i> (comúnmente conocido como axiote), utilizando aceites o disolventes como el cloroformo o la acetona
<i>BS</i>	Siglas para <i>Back Scattering</i> en inglés, se usa como un gradiente ΔBS . Es un cambio en la retrodispersión de la luz con respecto al tiempo y mide la estabilidad de una suspensión u otras mezclas de fases
Coeficiente de difusión de traslación (<i>D</i>)	Indica el movimiento aleatorio de las partículas suspendidas en un fluido o gas. El coeficiente de difusión de las partículas es inversamente correlacionado con su tamaño. Ecuación 1-5
Coenzima Q ₁₀	También llamada ubiquinona, es un compuesto liposoluble esencial que se encuentra integrado en la cadena respiratoria mitocondrial desempeñando un papel clave en la transferencia de electrones para la producción de energía celular. Además, es un potente antioxidante

	que actúa en la prevención del daño oxidativo del ADN, membranas biológicas y lipoproteínas
Constante de Boltzmann (k_b)	Es una constante física fundamental que relaciona la constante de los gases ideales R y la constante de Avogadro (L). Tiene un valor de $1.38065 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$. Ecuación (2-5)
Correlación de tiempo de retardo (τ)	Es el patrón de correlación entre la luz dispersada en el tiempo $t=0$ y cualquier otro tiempo diferente de cero, utilizada en las determinaciones de tamaño de partícula. Ecuación (2-1)
Deseabilidad (función de deseabilidad)	Es una función que se utiliza para resumir los objetivos de análisis de una superficie de respuesta en una sola ecuación. También es conocida como grado de satisfacción de la función con respecto a una variable de respuesta
Diseño central compuesto	Es un diseño factorial completo 2^3 con ocho puntos factoriales, seis puntos centrales y seis puntos axiales. Es utilizado en diferentes áreas para la optimización de métodos y procesos
Dispersión de luz dinámica	Es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión, o macromoléculas en disolución tales como proteínas o polímeros. La técnica no toma en cuenta la dependencia del ángulo, sino la variación de la intensidad de dispersión de luz en el tiempo
Diámetro hidrodinámico	Cuando un medio líquido mueve una partícula suspendida, la mayoría de las veces se adhiere una capa eléctrica dipolar a su superficie. Debido a que esta capa influye en el movimiento de la partícula, en la dispersión dinámica de luz el diámetro medido de la partícula se conoce como diámetro hidrodinámico
Ecuación de Helmholtz-Smoluchowski	Es útil en la determinación de las cargas superficiales de las partículas en suspensión. La movilidad electroforética está relacionada con la permitividad relativa del medio de suspensión, la carga superficial de las partículas y la viscosidad. Ecuación (2-13)
Ecuación de Henry	Modelo general matemático desarrollado por Henry (1931) que tiene como casos extremos los modelos de Smoluchowski y Hückel, usado para la determinación del potencial zeta. Ecuación (2-12)
Eficiencia de encapsulación	Es el porcentaje de compuesto activo encapsulado dentro del material barrera respecto a la cantidad total de compuesto activo usado. Ecuación (3-1)

Etilcelulosa	Es un etil éter de la celulosa, preparada por el tratamiento de la celulosa purificada con una solución alcalina seguida de una etilación con cloroetano. Se utiliza en alimentos como espesante, incrementador de volumen, agente de glaseado, antiaglutinante, diluyente para otros aditivos, agente de recubrimiento, agente de relleno y sustancia inerte. Clasificado como aditivo químico por el Codex Alimentarius, SIN: 462. (Codex Alimentarius, 1995)
Etoxi (%)	Pertenece al grupo funcional de los alcoxiéteros, el sustituyente etoxi está formado por $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O-R}$, donde el radical (-R) puede ser un grupo alquilo o arilo. En el caso de la etilcelulosa, es celulosa parcialmente <i>o</i> -etilada que debe contener no menos de 44% y no más de 51% de grupos etoxi, calculado sobre la sustancia seca
Factor de coherencia (β)	Es una constante instrumental que refleja la desviación de la correlación ideal ($\beta=1$) y depende del área del detector, la alineación óptica y las propiedades de dispersión de las partículas o macromoléculas. Ecuación (2-2)
Filtración tangencial	La filtración tangencial sobre membranas se caracteriza principalmente porque el flujo de alimentación se mueve de forma tangencial sobre la membrana y perpendicular al flujo que la atraviesa. La fracción rechazada que continúa en la dirección del flujo se denomina retenido o concentrado y el flujo que pasa a través de la membrana, permeado
Fuente de luz coherente	Aquellas fuentes donde la radiación tiene una relación de fase constante entre las fases espaciales y temporales, es decir, todas las ondas emitidas tienen la misma longitud de onda y la misma orientación, por ejemplo, los láseres
Función de autocorrelación $g^2(\tau)$	Indica como está correlacionado un proceso (o una variable) consigo misma a diferentes tiempos. Ecuación (2-1)
Función de Henry	Mide la relación entre el radio de la partícula y el grosor de la doble capa eléctrica. Ecuación (2-12)
Gelana	Es un polisacárido utilizado como agente gelificante que se obtiene mediante la biotransformación de glucosa con bacterias de la familia <i>Sphingomonas</i> . Se propone emplear en bebidas de soya, avena, arroz, almendras o <i>Aloe vera</i> , leches vegetales, salsas, aderezos para ensaladas, caramelos y helados
GRAS	Sustancias Generalmente Reconocidas como Seguras (GRAS, por sus siglas en inglés). Es un sistema para revisar y aprobar los ingredientes adicionados en alimentos procesados

Homogeneizador rotor y “estator”	La característica distintiva de un mezclador rotor y “estator” es que está compuesto por un rotor o elemento giratorio con velocidades típicas entre 10 a 50 m/s, colocado muy cerca de un “estator” (el elemento mezclador fijo o estático). También son llamados dispositivos de alto corte porque la disipación de energía local y las velocidades de corte generadas son mucho más altas que en un recipiente convencional mecánicamente agitado
<i>ICH</i>	Siglas para el Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos para Productos Farmacéuticos (<i>International Council for Harmonisation; ICH</i> , por sus siglas en inglés). El consejo ha avalado y publicado una lista de las clases de disolventes residuales en medicamentos, considerándolos como: 1) disolventes que deben evitarse, 2) disolventes que deben limitarse y 3) disolventes con bajo potencial tóxico
Índice de polidispersión	El índice de polidispersión obtenido mediante dispersión de luz dinámica, es un número calculado a partir de un ajuste de dos parámetros de los datos de autocorrelación (análisis de cumulantes). El índice de polidispersión es adimensional y valores por debajo de 0.3 indican sistemas monodispersos o distribuciones de tamaños bajas
Intensidad de luz dispersada (I)	Es la cantidad de luz dispersada debido a las partículas en suspensión en un medio. Es utilizada en la evaluación del tamaño de partícula en el análisis de dispersión de luz dinámica. Las partículas suspendidas crean un patrón de intensidad de luz dispersada al tiempo cero ($t=0$). Ecuación (2-1)
Masa molecular	Relación entre la masa de una molécula y la unidad de masa atómica unificada. Algunas veces se llama masa molecular o masa molar relativa
Método de <i>cumulantes</i>	Es un método matemático que correlaciona los datos del equipo de dispersión de luz dinámica a partir de una función de distribución normalizada para obtener el tamaño de partícula y el índice de polidispersión. Es usada para determinar la función de distribución de las intensidades en pequeños intervalos de tiempo. Ecuaciones (2-6 a 2-9)
Movilidad electroforética	La movilidad electroforética de una partícula o molécula cargada que se mueve en un campo eléctrico, se define como el cociente entre su velocidad y el campo eléctrico aplicado. Es decir, la velocidad que adquiere la partícula en función del campo eléctrico aplicado

Nanocápsula	Nanopartículas huecas compuestas de una cubierta sólida que crea un centro disponible para encapsular sustancias. Son de tamaño nanométrico
Nanoesfera	Nanopartículas de forma esférica sin membranas o capas externas. Una nanoesfera está compuesta por una matriz, donde la sustancia puede estar permanentemente o temporalmente embebida, disuelta o covalentemente ligada. Son de tamaño nanométrico
Nanopartícula	Partícula de cualquier forma con dimensiones en el intervalo de 1×10^{-9} m y 1×10^{-7} m
<i>Paclitaxel</i>	Es un fármaco que usa para tratar el sarcoma de Kaposi, el cáncer de ovario y el de mama. El <i>paclitaxel</i> impide la formación de células porque bloquea su multiplicación
Pectinmetilesterasa (PME)	La pectinmetilesterasa, PME, con número de clasificación E.C. 3.1.1.11 (Grassin y Coutel, 2010), es la primera enzima que actúa sobre la pectina, produciendo pectinas con diferentes propiedades funcionales y estructurales. Tiene una relación importante en la fisiología de las plantas. La desmetilación de las pectinas por acción de la PME produce la formación de grupos carboxilo terminales en las pectinas, metanol y agua
Permitividad relativa (ϵ_r)	Relación entre la intensidad de un campo eléctrico en el vacío y la de un medio dado. Anteriormente se llamaba constante dieléctrica. Ecuación (2-12)
Polifenoloxidasas (PFO)	La polifenoloxidasas, PFO, con número de clasificación E.C. 1.10.3.1 (van Oort, 2010), está implicada en dos reacciones de transformación de los compuestos fenólicos, hidroxilación y oxidación. Cuando realiza la primera actividad se conoce comúnmente como cresolasa y se refiere a la hidroxilación de un monofenol en la posición <i>orto</i> para producir difenoles. Para la segunda reacción se le conoce como creseolasa; la misma enzima oxida los difenoles para convertirlos en quinonas, que después de varios procesos de polimerización con otros compuestos, forman melaninas
Poligalacturonasa (PG)	La poligalacturonasa, PG, con número de clasificación E.C. 3.2.1.15 (Grassin y Coutel, 2010), produce la hidrólisis aleatoria de los enlaces $\alpha(1-4)$ de las pectinas y otras galacturonanas, formando cadenas pécticas más cortas o ácido poligalacturónico
Polivinilpirrolidona (PVP)	Su denominación química es pol[1-oxo-1-pirrolidinil-etileno]. Es un polímero vinílico que se produce a partir del monómero vinilpirrolidona, por polimerización vinífica por radicales libres. Se usa en alimentos como agente de retención de color, agente clarificante, agente de glaseado, espesante y estabilizante. Clasificado como

	aditivo químico por el Codex Alimentarius, SIN: 1201. (Codex Alimentarius, 1995)
Poloxámero 407 (Pluronic® F-127)	Es un copolímero no iónico condensado de óxido de etileno y óxido de polipropileno, teniendo una masa molecular de 12 500 kg/mol. Es fácilmente soluble en agua y en alcohol, pero es insoluble en etilenglicol y en propilenglicol. Es usado en alimentos como agente solubilizante y estabilizante para saborizantes concentrados
Potencia ultrasónica	Es la cantidad de energía que emite un instrumento de homogeneización ultrasónica. Sus unidades son los watts (W)
Potencial zeta (ζ)	Es definido como el potencial eléctrico superficial de las partículas en dispersión, generado en la doble capa eléctrica difusa, es decir entre la partícula y el plano de deslizamiento. También es una medida de estabilidad de las partículas ya que se consideran partículas neutras e inestables cuando tienen potenciales zeta cercanos a cero. Mientras que las partículas con potenciales zeta mayores a 30 mV y menores a -30 mV son consideradas estables
Primer cumulante ($k_1\Gamma$)	Es obtenido a partir del análisis de dispersión de luz dinámica y el método de <i>cumulantes</i> . El primer cumulante está relacionado con los valores promedios de los coeficientes de difusión traslacional de las partículas. Con el cual se obtiene el tamaño de partícula promedio
Rarefacción	Acción de dilatar un cuerpo gaseoso haciéndolo menos denso. Las rarefacciones son áreas de ondas ultrasónicas que tienen baja presión, ya que la distancia entre las ondas y las burbujas de gas es mayor. Lo opuesto es la compresión que es la acción de tener áreas donde las ondas tienen más alta presión a medida que la distancia entre las burbujas es menor
Recubrimiento comestible	Un recubrimiento comestible es definido como una capa delgada de un material comestible, que es aplicada sobre la superficie del alimento en forma líquida. Usualmente el alimento se sumerge en una solución formada con sustancias como carbohidratos, proteínas, lípidos o una mezcla de estas u otras sustancias
Ruta fenilpropanoide o del ácido shikimico	Esta ruta convierte a los carbohidratos simples derivados de la glucólisis y la ruta de la pentosa fosfato en aminoácidos aromáticos. La enzima clave en la biosíntesis es la fenilalanina amonio-liasa. Es la ruta principal para la biosíntesis de compuestos fenólicos en la mayoría de las plantas
Segundo cumulante ($k_2\Gamma$)	Obtenido a partir del método de cumulantes en el análisis de dispersión de luz dinámica, corresponde a la varianza

	de la distribución de tamaños de las partículas en suspensión
Separación isopícnica (densidad)	Las partículas son separadas con base en su densidad. El tamaño solamente afecta la velocidad a la cual las partículas alcanzan su posición isopícnica. Las separaciones son realizadas a condiciones de densidad constante. La temperatura y la presión pueden alterarse durante su ejecución
<i>Sonotrodo</i>	El “sonotrodo” o cuerno ultrasónico, es la parte del equipo de homogeneización que se encuentra en contacto con el líquido. Normalmente fabricados de titanio, su función es suministrar hacia el medio las ondas acústicas generadas por un transductor
Tamaño de partícula (TP)	Para describir el tamaño de las partículas líquidas o sólidas (por ejemplo, aerosoles) se usa el diámetro promedio o equivalente. En la medición del tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica, el tamaño de partícula es el promedio de los diámetros hidrodinámicos calculados
Tensoactivo	Una sustancia utilizada para modificar las propiedades de superficie de los componentes líquidos de un alimento, para una variedad de efectos diferentes a los emulsificantes, incluyendo agentes solubilizantes, dispersantes, detergentes, humectantes, rehidratantes, agentes de batido, agentes espumantes y agentes antiespumantes
Tercer <i>cumulante</i> ($k_2\Gamma$)	Este parámetro es obtenido a partir del análisis de <i>cumulantes</i> en el análisis de dispersión de luz dinámica. Provee una medida de la asimetría de la distribución de los tamaños de partícula en suspensión.
Tiempo de inestabilidad	Es el tiempo al cual la señal de retrodispersión (ΔBS), medida con un analizador óptico (por ejemplo, un equipo denominado <i>Turbiscan</i>), se incrementa o disminuye, con respecto al valor base que generalmente es de cero
<i>TSI</i>	El Índice de estabilidad del equipo conocido como <i>Turbiscan</i> (<i>Turbiscan Stability Index</i> ; <i>TSI</i> , por sus siglas en inglés), es un parámetro específico desarrollado por los formuladores de este equipo para comparar y caracterizar la estabilidad física de diversas formulaciones
<i>Turbiscan</i> [®]	Es un instrumento de análisis óptico que permite la determinación rápida y sensible de los mecanismos de desestabilización (cremado, sedimentación, floculación y coalescencia).
Velocidad de decaimiento (Γ)	Es la velocidad a la cual decae la función de correlación y está relacionada con la difusión de traslación de las partículas en suspensión. Las partículas pequeñas se

	mueven más rápidamente y la velocidad de decaimiento de la función de correlación es mayor que para partículas grandes que se mueven a menor velocidad
Viscosidad dinámica	Para un flujo laminar de un fluido, es la relación entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla perpendicular al plano de corte

Caracteres griegos

β -caroteno	Es un compuesto químico de la familia de los carotenoides. Su nombre científico es β,β -caroteno que es dado por la IUPAC. Es usado en el área alimentaria como colorante (del rojo al amarillo), natural o artificial, liposoluble, es decir, se obtiene de forma natural por extracción en zanahorias, aceite de palma y algas o fabricado de manera sintética por biosíntesis microbiana. Es transformado por el cuerpo en vitamina A. Se emplea en bebidas, panadería, dulces, mantequillas, entre otros. Clasificado como aditivo químico por el Codex Alimentarius SIN: 160a(i) y 160a(ii) (Codex Alimentarius, 1995)
ΔBS	Es definida como la cantidad de luz retrodispersada (<i>BS</i> , <i>backscattering</i>) por las partículas en suspensión en función de la cantidad de luz retrodispersada a un $t=0$, medido en un analizador óptico como el conocido como <i>Turbiscan</i>

Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue desarrollar cápsulas de tamaño nanométrico, con buena eficiencia de encapsulación (EE) y estables, mediante el método de emulsificación-difusión y ultrasonido durante la homogeneización, capaces de encapsular aceite de limón, romero y curcumina para evaluarlos como aditivos en la conservación de papaya fresca cortada. Las cápsulas se formaron con β -caroteno como compuesto activo modelo. Las variables independientes fueron: la cantidad de β -caroteno, la cantidad de polímero (poli-(ϵ -caprolactona); PCL) y la potencia ultrasónica. Las condiciones ideales determinadas a partir de un diseño central compuesto para fabricar las nanocápsulas fueron: 237 mg de β -caroteno, 307 mg de PCL y 54 W de potencia ultrasónica, obteniéndose nanocápsulas con tamaños de partícula (TP) de 306.5 nm, índices de polidispersión (IPD) de 0.054, potenciales zeta (ζ) de -25.4 mV y eficiencia de encapsulación (EE) del 75%. En las condiciones ideales se prepararon nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina con TP menores a 150 nm, con IPD menores a 0.2, ζ mayores a -15 mV y EE mayores al 80%, usando PCL y etilcelulosa como polímeros barrera. El análisis de estabilidad fue realizado con nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina formadas con PCL y etilcelulosa como polímeros y Pluronic[®] F-127 (PF-127) o alcohol polivinílico (PVA) como estabilizantes. La sedimentación fue el mecanismo principal de inestabilidad. Así mismo, las nanocápsulas fueron estables por lo menos durante 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente. Los sistemas de nanocápsulas con aceite de limón/etilcelulosa, aceite de limón/PCL, curcumina/etilcelulosa y curcumina/PCL se probaron como recubrimiento comestible sobre papaya fresca cortada, envasada en vasos de polipropileno cristalino con tapa y almacenada por 17 días a 4°C. Las nanocápsulas de aceite de limón con etilcelulosa o PCL mostraron los mejores resultados en la conservación de papaya, ya que mantuvieron con variaciones mínimas los valores de pH, acidez y sólidos solubles totales. Redujeron también la velocidad de respiración, que fue correlacionada con el mantenimiento en el color medido objetivamente, la firmeza y la cantidad de carotenos en el fruto cortado. También se observó un decremento de las actividades enzimáticas polifenoloxidasas (PFO) y pectinmetilesterasa (PME). Con el tratamiento usando nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se logró una inhibición de la PFO de hasta el 47% que se relacionó con la conservación de los fenoles

totales. Para la PME, las menores actividades se encontraron cuando se utilizaron las nanocápsulas, asociándose con una menor pérdida de firmeza de los trozos de papaya.

Palabras clave: Optimización, nanocápsulas, homogeneización por ultrasonido, aceite de limón, aceite de romero, curcumina, papaya fresca cortada

ABSTRACT

The aim of this work was to develop nanocapsules with nanometric size, good encapsulation efficiency (EE) and stable. The emulsification-diffusion method and ultrasonication for homogenization was capable to encapsulate lemon oil, rosemary oil, and curcumin. The nanocapsules were evaluated as food additives in the conservation of fresh-cut papaya. The β -carotene was used as an active compound model in the optimization method. The independent variables were: the amount of β -carotene, the amount of barrier polymer (poly-(ϵ -caprolactone), PCL), and the ultrasonic power. The ideal conditions to manufacture nanocapsules were: 237 mg of β -carotene, 307 mg of PCL and 54 W of ultrasonic power, obtaining nanocapsules with a particle size (PS) of 306.5 nm with a polydispersion index (IPD) of 0.054, a zeta potential (ζ) of -25.4 mV, and an EE of 75%. At these ideal conditions it was possible to prepare nanocapsules of lemon oil, rosemary oil and curcumin with PS less than 150 nm, with an IPD less than 0.2, a ζ greater than -15 mV and an EE greater than 80%, using PCL and ethyl cellulose as barrier polymers. The stability analysis was carried on with the nanocapsules of lemon oil, rosemary oil, and curcumin formed with PCL or ethyl cellulose as polymers and Pluronic F-127[®] (PF-127) or polyvinyl alcohol (PVA) as stabilizers, where the sedimentation was the predominant mechanism of instability. Likewise, the nanocapsules were stable for at least 30 days of storage at room temperature. The nanocapsules with lemon oil/ethyl cellulose, lemon oil/PCL, curcumin/ethyl cellulose and curcumin/PCL were tested on fresh-cut 'Maradol' papaya packaged and stored for 17 days at 4°C. The nanocapsules of lemon oil/ethyl cellulose and lemon oil/PCL showed the best results in the conservation of papaya. The nanocapsules maintained minimum variations of pH values, acidity, and total soluble solids. Additionally, they reduced the respiration rate, which was correlated with a maintenance in the color, firmness, and carotenes concentration in the fresh-cut papaya. Also, a decrement of the enzymatic activities polyphenol oxidase, PFO, and pectin methylesterase, PME, was obtained, with an inhibition up to 47% for PFO with the treatment of nanocapsules of lemon oil/ethyl cellulose, which caused the conservation of the total phenols. For PME, the lowest activities were found when nanocapsules treatments were used by associating with the least firmness loss.

Keywords: Optimization, nanocapsules, ultrasonic homogeneization, lemon oil, rosemary oil, curcumin, fresh-cut papaya

CAPÍTULO I: PROBLEMÁTICA

1.1. Introducción

Las frutas frescas cortadas han tenido un rápido crecimiento en el mercado internacional, particularmente en los Estados Unidos, Reino Unido y Europa en general, incrementándose 6% cada año de manera global. Este tipo de productos están diseñados para maximizar la conveniencia para los consumidores, dado que se encuentran listos para su consumo, mientras mantienen la frescura y la calidad nutricional (Wilson et al., 2019).

La Administración de Alimentos y Medicamentos estadounidense (*Food and Drug Administration; USFDA*, por sus siglas en inglés), define a los productos frescos cortados como: frutas y vegetales mínimamente procesadas, que han sido alteradas de su forma original y han sido peladas, rebanadas, cortadas, picadas, cortadas en tiras o descorazonadas, con o sin lavado u otro tratamiento, antes de ser empaquetadas para su uso por el consumidor o establecimiento minorista (United States Food and Drug Administration, 2008). Sin embargo, debido a los cortes de los tejidos, se inician una serie de cambios fisicoquímicos y bioquímicos en las frutas y verduras que promueven la disminución de su vida útil (Baldwin, y Bai, 2011).

La papaya (*Carica papaya*) es una fruta climatérica rica en nutrientes como provitamina A, carotenoides, vitamina C, vitamina B, licopeno, fibra dietética y minerales, teniendo propiedades laxantes, disminuye la indigestión y se ha estudiado su uso para prevenir padecimientos cardiacos y distintos tipos de cáncer (Yogiraj et al., 2014). Por tal motivo, la papaya es la tercera fruta tropical más consumida en el mundo y una de las más importantes desde el punto de vista económico y social, al ser una fuente de ingresos para miles de familias y al mismo tiempo un medio de captación de divisas para los países productores (Sandoval et al, 2017). Sin embargo, la papaya fresca cortada es un producto altamente perecedero, debido a los efectos secundarios asociados con el corte de los tejidos, incrementándose la velocidad de respiración, la producción de etileno y la sobreproducción de enzimas, que están relacionadas con la disminución de las características organolépticas y nutricionales del alimento (Rivera-López et al., 2005). Se han propuesto diferentes

alternativas para incrementar la vida útil de la papaya fresca cortada, donde los tratamientos químicos, los recubrimientos comestibles a base de hidrocoloides y las atmósferas modificadas han mejorado la calidad de la papaya (Ayón-Reyna et al., 2015; González-Aguilar et al., 2009; Kuwar et al., 2015; Waghmare y Annapure, 2013).

Recientemente, se ha revisado que la nanotecnología puede ser una excelente herramienta para la conservación de productos frescos cortados. En este sentido, la nanotecnología es la aplicación de los conocimientos de la materia a escala nanométrica y ha tenido aplicaciones en diferentes áreas de la ciencia incluyendo la cadena de transformación de los alimentos. Para aplicaciones sobre alimentos se han fabricado y utilizado nanopartículas inorgánicas (Meng et al., 2014), nanopartículas lipídicas sólidas (Zambrano-Zaragoza et al., 2013) y nanopartículas poliméricas (Zambrano-Zaragoza et al., 2018).

Las nanopartículas poliméricas se han usado para la encapsulación de componentes activos, que sirven a su vez, para proteger a los componentes encapsulados del ambiente externo, disminuyendo su descomposición por el calor, la luz, el oxígeno y el pH, incrementando su estabilidad. Además, pueden promover una liberación controlada de los componentes encapsulados maximizando su función. Los materiales para la nanoencapsulación de componentes activos son generalmente polímeros biodegradables sintéticos o biopolímeros semisintéticos o naturales, aprobados por la *FDA* para su uso en contacto con los alimentos (Jafari, 2017). Específicamente se han usado nanocápsulas de α -tocoferol para la conservación de manzana (Galindo-Pérez et al., 2015) y nanocápsulas de β -caroteno en la conservación de melón fresco cortado (Zambrano-Zaragoza et al., 2017).

No obstante, pocos estudios se han realizado sobre la nanoencapsulación de aceites de limón, aceite de romero y curcumina y su funcionalidad como promotores de la conservación de los alimentos. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue encontrar las condiciones ideales de elaboración de nanocápsulas con el método de emulsificación-difusión con ultrasonido como sistema de homogeneización, para preparar nanocápsulas nanométricas, estables y con buena eficiencia de encapsulación (EE), con la intención de encapsular aceite de limón, aceite de romero y curcumina que sirvan como recubrimientos comestibles en la conservación de papaya fresca cortada.

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Desarrollar nanocápsulas con buena eficiencia de encapsulación y estables mediante el método de emulsificación-difusión acoplado con homogeneización por ultrasonido con dos polímeros (poli-(ϵ -caprolactona) y etilcelulosa), capaces de encapsular aceite de limón, romero y curcumina para la conservación de alimentos.

1.2.2. Objetivos particulares

- 1.- Obtener mediante un diseño central compuesto las condiciones óptimas de preparación de nanocápsulas de β -caroteno usando ultrasonido como método de homogeneización.
- 2.- Obtener y caracterizar nanocápsulas con dos polímeros diferentes (etilcelulosa y PCL) que contengan aceite de limón, aceite de romero y curcumina preparadas bajo las condiciones óptimas encontradas con la preparación de nanocápsulas de β -caroteno.
- 3.- Demostrar la estabilidad física de nanocápsulas conteniendo aceite de limón, aceite de romero y curcumina, formadas con PCL y etilcelulosa como polímeros barrera y PF-127 y PVA como estabilizantes.
- 4.- Evaluar el efecto de las nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina preparadas con PCL y etilcelulosa sobre la vida útil de papaya fresca cortada.

1.3. Hipótesis

- Es posible formar nanocápsulas usando polímeros biodegradables (poli-(ϵ -caprolactona) y etilcelulosa) mediante el método de emulsificación-difusión acoplado con ultrasonido.
- Es posible obtener nanocápsulas capaces de encapsular aceite de limón, aceite de romero y curcumina, reduciendo los tiempos de preparación e incrementando la eficiencia de encapsulación.
- Es posible probar los nanosistemas como potenciales compuestos activos para la conservación de papaya fresca cortada.

CAPÍTULO II: ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la nanotecnología

La nanotecnología es una ciencia que ha tenido un crecimiento importante en diferentes áreas durante las últimas décadas. La definición más simple de la nanotecnología está dada por Ramsden (2016), quien indica que la nanotecnología es “la tecnología a nanoescala”. Otras organizaciones han descrito una definición más amplia, por ejemplo, la Organización Internacional para la Estandarización (*ISO*, por sus siglas en inglés) ha definido a la nanotecnología como “la aplicación de los conocimientos científicos para manipular y controlar la materia predominantemente en la nanoescala, para hacer uso de las propiedades dependientes de la estructura y del tamaño, habiendo fenómenos distintos entre aquellos asociados con los átomos o moléculas y los mismos materiales con tamaños mayores” (*ISO 80004-1*, 2007).

De acuerdo con lo descrito por Chung et al. (2017), quienes se basaron en diferentes expertos financieros, la nanotecnología tendrá un mayor impacto en la sociedad en el 2025. En 2008 por ejemplo, se invirtieron alrededor de 15 mil millones de dólares para la innovación de materiales nanoestructurados y se emplearon cerca de 400,000 especialistas en todo el mundo. Se prevé que en 2020 el desarrollo de productos nanotecnológicos tenga un valor estimado de 3 billones de dólares estadounidenses para la economía mundial, mientras que las empresas comerciales productoras y distribuidoras de nanotecnología serán capaces de requerir al menos 6 millones de trabajadores y especialistas.

La nanotecnología ha sido aplicada en el área farmacéutica para la elaboración y formulación de nuevos sistemas de liberación de fármacos, siendo recientemente más específicos y dirigidos (Hadjidemetriou et al., 2017). En el área de biomedicina se han empleado nanopartículas metálicas para el tratamiento de diversas enfermedades siendo de especial importancia el tratamiento de cánceres (Saji et al., 2010). En las ciencias computacionales y tecnologías de la información, se ha utilizado la nano-litografía para generar componentes electrónicos nanométricos, con mayor capacidad de procesamiento de datos y una gran

mejora en la eficiencia energética. Así mismo, ha sido útil en paneles solares incrementando con ello la eficiencia y la producción energética (Im et al., 2014).

En el área de alimentos, se han utilizado nanopartículas magnéticas para desinfección y nanopartículas poliméricas para la conservación de frutas y verduras (Zambrano-Zaragoza et al., 2018). De esta manera, es posible citar y detallar innumerables desarrollos nanotecnológicos que han sido fabricados gracias a la comprensión del comportamiento de la materia en estado atómico y nanométrico.

2.1.1. Definición de los nanomateriales

Muchos países y organizaciones están estableciendo definiciones y marcos normativos para conceptualizar la nanotecnología y en específico el término nanopartícula, ya que desde el punto de vista de seguridad es imperativo acotar los tamaños límite para los nanosistemas. En la Unión Europea (UE), la institución principal que rige la nanotecnología y las aplicaciones nanotecnológicas es la Regulación Europea sobre Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas (*REACH*, por sus siglas en inglés). El comité normativo indica como definición de nanomateriales que “son sustancias químicas o materiales cuyas partículas tienen un tamaño entre 1 y 100 nm en al menos una de sus dimensiones” (Lidén, 2011).

Un punto de vista similar fue dado por la *IUPAC* en el año 2012, indicando que las nanopartículas son “partículas de cualquier forma y tamaño con dimensiones en el intervalo de 1×10^{-9} y 1×10^{-7} m”; sin embargo, se presentan algunas notas adicionales donde se menciona que “debido a otros fenómenos (transparencia o turbidez, ultrafiltración, estabilidad de las dispersiones, entre otros) se considera ocasionalmente una extensión del límite superior; por lo cual, para el prefijo -nano- es aceptado para dimensiones menores a los 500 nm (Vert et al., 2012).

Así mismo el organismo más importante para la regulación de componentes adicionados en alimentos y fármacos en Estados Unidos, la Administración de Fármacos y Alimentos (*FDA* por sus siglas en inglés), no contempla una definición total para describir a los nanomateriales; sin embargo, adopta en cierto modo las definiciones anteriores, tomando como referencia lo especificado por la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (*NNI*, por sus

siglas en inglés), especificando que la nanotecnología es “la comprensión y el control de la materia a dimensiones aproximadamente entre 1 y 100 nm, donde los fenómenos únicos permiten nuevas aplicaciones” (NNI, 2019). Sin embargo, la *FDA* también toma en cuenta aquellos materiales o sistemas que tienen tamaños mayores a 100 nm, mencionando que “son nanomateriales si exhiben propiedades o fenómenos incluyendo propiedades químicas o físicas o efectos biológicos, que son atribuibles a sus dimensiones incluso si estas dimensiones son mayores al intervalo de nanoescala y hasta los 1000 nm” (FDA, 2014).

En este sentido, se pueden puntualizar diferentes opiniones científicas y normativas que son de gran importancia en la aplicación y seguridad de los nanomateriales. Para la comunidad científica los nanomateriales son sistemas con por lo menos una dimensión entre 1 y 100 nm, excluyendo otros sistemas (por ejemplo, poliméricos) donde los tamaños normalmente obtenidos superan los 100 nm. De esta manera, se ha tenido un amplio debate respecto a una definición total y global sobre el tamaño de las nanopartículas. Quintanar-Guerrero et al. (2012), indicaron que para ciertos materiales (inorgánicos) es posible obtener partículas con tamaños inferiores a 100 nm, pero para otros, como los poliméricos o lipídicos, un tamaño menor a los 1000 nm es aceptable considerando que en esta escala las propiedades de los materiales cambian.

2.2. Métodos de preparación de nanopartículas

Para la preparación y obtención de nanopartículas se han descrito diferentes metodologías, incluyendo entre las más populares las nanopartículas inorgánicas de oro, plata, TiO_2 , ZnO y Al_2O_3 y se han fabricado nanopartículas poliméricas como nanocápsulas y nanoesferas. La diferencia entre nanocápsulas y nanoesferas radica en su morfología donde las nanocápsulas son estructuras vesiculares conformadas por una cavidad donde quedan incluidos compuestos activos oleosos y están rodeadas por una membrana polimérica, mientras que las nanoesferas son densas matrices poliméricas donde el compuesto activo está disperso de manera homogénea en la partícula (Reis et al., 2006).

2.2.1. Nanopartículas poliméricas y su obtención

Para la formación de sistemas nanoparticulados poliméricos se han descrito diferentes metodologías, donde la elección de un método en particular depende de la solubilidad de los

polímeros y compuestos activos. La nanoencapsulación o la inclusión de los activos en matrices sólidas o en dispersión sirven para proteger a los compuestos activos de las condiciones ambientales desfavorables, por ejemplo: la oxidación, cambios en el pH, degradación enzimática, entre otros (Augustin y Hemar, 2009).

2.2.1.1. Emulsificación- evaporación de disolvente

El proceso de emulsificación fue el primer método desarrollado para preparar nanopartículas poliméricas a partir de polímeros preformados. En este método, se preparan soluciones poliméricas en disolventes volátiles (fase orgánica) y la emulsión es formulada usando una fase acuosa conteniendo o no un estabilizante (fase acuosa). Para la reducción del tamaño de los glóbulos comúnmente se utilizan homogeneizadores de alta presión, ultrasónicos o sistemas rotor y “estator”, seguido de la evaporación del disolvente.

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 y Geckeler, 2011). El tamaño de los nanosistemas es controlado mediante el ajuste de la velocidad de la homogeneización, el tipo y cantidad de estabilizante, las viscosidades de las fases (acuosa y orgánica) y la temperatura (Reis et al., 2006).

Los polímeros frecuentemente utilizados en la elaboración de nanopartículas usando el método de emulsificación- evaporación son ácido poliláctico (PLA), ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), etilcelulosa, acetato-ftalato de celulosa, poli-(ϵ -caprolactona) y polihidroxibutirato, donde la principal característica es su biodegradabilidad y su baja solubilidad en agua. Sin embargo, actualmente en la preparación de nanopartículas para uso en alimentos se han estudiado diferentes compuestos de origen natural como los biopolímeros y los lípidos (Joye y McClements, 2014; Weiss et al., 2006).

Anteriormente los disolventes más utilizados fueron el diclorometano o el cloroformo, pero actualmente han sido reemplazados por disolventes con mejor perfil toxicológico como el acetato de etilo, de acuerdo con el Consejo Internacional de Armonización (*ICH*, por sus siglas en inglés). Aunque pueden ser usadas diferentes tipos de emulsiones, las emulsiones aceite en agua han tenido mayor interés debido a que se utiliza agua como no disolvente, lo que simplifica y mejora la economía del proceso; así mismo, facilita el proceso de lavado de

las nanopartículas (Mora-Huertas et al., 2010). Dentro de las desventajas, el proceso únicamente puede ser aplicado a compuestos liposolubles, teniendo limitaciones en el escalamiento debido a los altos requerimientos de energía para producir las nanodispersiones (Quintanar-Guerrero et al., 1998a).

Desgouilles et al., (2003), han propuesto dos diferentes modelos para el mecanismo de formación de las nanopartículas por el método de emulsión evaporación de disolvente, tomando en cuenta el comportamiento de dos polímeros diferentes (PLA y etilcelulosa), evaluando el comportamiento de la carga superficial de las emulsiones y las nanopartículas, así como el tamaño durante el proceso de evaporación, concluyendo que: 1) cuando se usa etilcelulosa las gotas de emulsión son capaces de competir con el surfactante de la interfase durante la evaporación del disolvente, induciendo la inestabilidad de la emulsión, provocando la agregación y coalescencia de las gotas dispersas antes de convertirse en nanopartículas estables. 2) en cambio, al utilizar PLA como polímero, no se produce o es limitada la agregación y la coalescencia, de tal manera que una nanopartícula es el resultado de una o pocas gotas de la emulsión de PLA.

En el área de alimentos el método ha sido usado para preparar nanoemulsiones de β -caroteno usando diferentes proteínas lácteas (Bodelón et al., 2017; Lee y McClements, 2010). De la misma forma se han preparados conjugados de aislados proteicos de suero de leche-maltodextrinas para encapsular timol como agente antimicrobiano para alimentos (Shah et al., 2012).

Para el control de plagas se ha nanoencapsulado avermectina usando un copolímero compuesto por estireno y ácido meta-acrílico (Liang et al., 2018). Ha sido útil para la nanoencapsulación de curcumina, usando PLGA como polímero barrera, con lo cual se mejora la biodisponibilidad oral y los efectos benéficos del activo (Umerska et al., 2018). También se ha encapsulado fentil éster de ácido cafeico con la finalidad de obtener sistemas nanoparticulados capaces de incrementar la actividad anti-genotóxica del componente activo (Arasog̃ y Derman, 2018).

2.2.1.2. Método de precipitación salina

El método está basado en la separación de un disolvente miscible en agua de una solución acuosa mediante un efecto de precipitación salina (*salting-out*). En esta metodología, el polímero y el compuesto hidrófobo a ser encapsulado son inicialmente disueltos en el disolvente miscible en agua, que es subsecuentemente emulsificado dentro de una fase acuosa que contienen el agente salino que puede ser un electrolito (cloruro de magnesio, cloruro de calcio o acetato de magnesio) o no electrolito (sacarosa) y un agente estabilizante. La adición de una cantidad suficiente de agua es usada para diluir la emulsión y mejorar la difusión del disolvente orgánico hacia la fase acuosa lo que provoca la formación de las nanopartículas (Fathi et al., 2014). El siguiente paso consiste en la eliminación del disolvente mediante destilación usando presión reducida. La ultracentrifugación es utilizada para eliminar el agente salino mediante repetidos lavados de la nanodispersión. De manera alternativa, el disolvente y el agente salino pueden ser eliminados mediante filtración en contraflujo (Mendoza-Muñoz et al., 2012).

Aunque no se ha estudiado el mecanismo de formación de las nanocápsulas, este puede ser similar al propuesto para la técnica de desplazamiento de disolvente, donde se considera que las turbulencias interfaciales son generadas cuando la emulsión inicial es diluida con agua. de ahí, las gotas de disolvente probablemente de tamaño nanométrico son rápidamente estabilizadas por el agente estabilizante hasta que la difusión del disolvente hacia la fase acuosa es completada totalmente, induciendo la agregación del polímero y la formación de las nanopartículas (Mendoza-Muñoz et al., 2012).

En el área de alimentos ha sido poco utilizado para la preparación de nanopartículas, siendo la principal desventaja el proceso de purificación, ya que se requiere eliminar, tanto el disolvente como las sales utilizadas en exceso; sin embargo, puede ser una excelente opción cuando las barreras encapsulantes son proteínas, donde se requiere que las cadenas de aminoácidos precipiten en la interfase de las nano-gotas vía el efecto de precipitación salina (Rahimnejad et al., 2009).

2.2.1.3. Desplazamiento de disolvente

El método comúnmente llamado desplazamiento de disolvente o deposición interfacial fue establecido por Fessi y colaboradores en la década de los 80 del siglo XX, para la preparación de sistemas nanocapsulares poliméricos (Fessi et al., 1989). En este procedimiento el polímero y la sustancia activa se disuelven en un disolvente semi-polar miscible en agua como acetona o etanol (fase orgánica), mientras que un agente estabilizante se disuelve en agua (fase acuosa) (Quintanar-Guerrero et al., 1998b). Posteriormente, la fase orgánica es vertida o inyectada en la fase acuosa bajo agitación moderada causando la rápida difusión del disolvente miscible dentro de la fase acuosa. Como resultado se genera la formación de las nanogotas lipofílicas que contienen el componente activo. El polímero insoluble en agua ahora migra hacia la interfase aceite/agua donde forma la membrana interfacial alrededor del núcleo oleoso. La solución resultante es concentrada por la evaporación del disolvente orgánico bajo presión reducida (Weiss et al., 2006).

De acuerdo con Lince et al. (2008) el mecanismo de formación de nanopartículas comprende tres fases: 1) nucleación, 2) crecimiento y 3) agregación. En este aspecto, el fenómeno de supersaturación es descrito como la fuerza que maneja todos los fenómenos involucrados. La supersaturación determina la velocidad de nucleación y es definida como la relación entre la concentración del polímero y la solubilidad del polímero en el disolvente orgánico. Así mismo, la dinámica de fluidos y la mezcla entre las fases también tiene un papel en la formación de los nanosistemas poliméricos. De esta manera, un mezclado pobre o nulo entre las fases produce partículas grandes (baja velocidad de nucleación), mientras que buenas condiciones de mezclado provocan altas velocidades de nucleación y grandes poblaciones de nanopartículas más pequeñas.

Quintanar-Guerrero et al. (1998a), indicaron que los procesos de nucleación y crecimiento no están aparentemente involucrados, siendo la turbulencia interfacial el mecanismo principal de formación. El líquido con mayor tensión superficial (fase acuosa) opone mayor resistencia superficial sobre el líquido con menor tensión superficial (fase orgánica), provocando una diferencia entre las tensiones superficiales y turbulencias interfaciales con la formación de vórtices de disolvente en la interfase de ambos líquidos. El disolvente, por su parte, se difunde desde las regiones de baja tensión superficial produciendo una

precipitación gradual del polímero sobre la superficie del aceite, lo que conlleva a la formación de las nanocápsulas.

Las ventajas del proceso de desplazamiento de disolvente incluyen: 1) simplicidad, 2) fácil escalabilidad, 3) buena reproducibilidad, 4) el que se evita el uso de grandes cantidades de disolventes tóxicos, 5) el que se obtienen partículas de tamaño nanométrico con distribuciones de tamaños estrechos y 6) el que no se necesitan homogeneizadores de alta energía. Sus desventajas son entre otros, la dificultad en la selección del sistema componente activo/polímero/disolvente/no disolvente. Además, el método se ha limitado a la encapsulación de sustancias liposolubles, encontrándose bajas eficiencias de encapsulación usando compuestos activos solubles en agua (Mora-Huertas et al., 2010; Quintanar-Guerrero et al., 1998a,b).

En el área de los alimentos este método ha sido utilizado para encapsular vitaminas como α -tocoferol (Khayata et al., 2012; Noronha et al., 2013), β -caroteno (Chu et al., 2007; Ribeiro et al., 2008), carotenoides (Da Silva et al., 2017), curcumina (Chow et al., 2015; Gou et al., 2011; Sheikhzadeh et al., 2016; Suwannateep et al., 2011), astaxantina (Tachaprutinun et al., 2009), agroquímicos (Boehm et al., 2003), gama oryzanol (Ghaderi et al., 2015), aceites esenciales (Granata et al., 2018; Herculano et al., 2015), quercetina (Farrag et al., 2018) y geraniol (Yegin et al., 2015).

2.2.1.4. Método de emulsificación-difusión

El método de emulsificación-difusión puede ser considerado una modificación del procedimiento de precipitación salina (*salting-out*), evitando el uso de sales y reduciendo los pasos de purificación (Quintanar-Guerrero et al., 1998b). En esta técnica se utilizan 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 se disuelve en la fase acuosa saturada con el disolvente. Las dos fases son emulsificadas con agitación vigorosa. La subsecuente adición de agua a la emulsión produce la difusión del disolvente hacia la fase externa, dando como resultado la formación de las nanocápsulas (Mora-Huertas et al., 2011; Quintanar-Guerrero et al., 2012). El tiempo de difusión se ha

calculado que es de 0.1 ms para el acetato de etilo, tomando en cuenta el radio de las nanopartículas y el coeficiente de difusión del acetato de etilo (Moinard-Chécot et al., 2008). El paso final para obtener las nanopartículas en dispersión es eliminar el disolvente, lo que puede apoyarse con el uso de evaporación al vacío, filtración tangencial o ultrafiltración (Quintanar-Guerrero et al., 1998b).

Se ha descrito que el mecanismo de formación de las nanocápsulas es debido a fenómenos interfaciales durante la difusión del disolvente; sin embargo, este fenómeno no puede ser explicado en su totalidad por los efectos de convección causados por la turbulencia interfacial (durante la subdivisión de los glóbulos de la emulsión). Por lo tanto, se ha sugerido que las nanopartículas son formadas debido a la inestabilidad fisicoquímica producida mayormente por el transporte de disolvente mediante un mecanismo conocido como difusión y varado, “*diffusion and stranding*”, en inglés (Quintanar-Guerrero et al., 1998b). La característica principal del mecanismo de difusión y varado, es que su aparición es independiente del valor de la tensión interfacial que puede ser relativamente alto. Un buen ejemplo de este mecanismo ocurre cuando una solución de etanol y aceite es colocada suavemente en agua. El alcohol, por sus propiedades químicas, se difunde desde el aceite hacia el agua llevándose con él algo de aceite y formando con ello un sistema de tres componentes en la vecindad inmediata de la interfase. A medida que el alcohol se difunde aún más dentro del agua, el aceite asociado se desecha de la solución y queda varado (*stranded*) en el agua en forma de finas gotas de emulsión. Simultáneamente las gotas de agua pueden aparecer en el lado de la interfase del aceite, debido a que el alcohol en el aceite permite disolver algo de agua por lo cual el agua queda varada dentro del aceite (Lopez-Montilla et al., 2002). Retomando la idea y extrapolándola al mecanismo de emulsificación-difusión, la difusión del disolvente ocurre desde los glóbulos de la emulsión hacia la fase externa, formando regiones locales de supersaturación en la interfase, produciendo con ello glóbulos nuevos y pequeños en la fase acuosa. De esta manera una gota de emulsión puede formar varias nanopartículas en una relación de 1 a 10. Debido a que se produce el arrastre de los glóbulos de emulsión hacia la fase externa, ocurre la des-solvatación del polímero induciendo su agregación y la formación de la barrera o membrana polimérica de las nanocápsulas. El uso de un estabilizante es necesario para evitar la coalescencia o floculación entre las partículas, con lo cual se disminuye la formación de agregados (Quintanar-Guerrero et al., 2012).

Dentro de las ventajas del método de emulsificación-difusión se incluye la robustez para la formación de los nanosistemas lo que implica la reproducibilidad lote a lote, así como eficiencias de encapsulación mayores al 80% para sustancias liposolubles, versatilidad y la facilidad de escalamiento. Sin embargo, existe una técnica alterna comúnmente llamada emulsificación-desplazamiento de disolvente donde se evita el uso de agua para la dilución (Quintanar-Guerrero et al., 1999).

En el área de alimentos se ha utilizado el método de emulsificación-difusión para nanoencapsular diferentes compuestos oleosos como α -tocoferol (Galindo-Pérez et al., 2015; Zambrano-Zaragoza et al., 2011), β -caroteno (González-Reza et al., 2015), aceite de pescado (Choi et al., 2010), eugenol (Choi et al., 2009), curcumina (Souguir et al., 2013), oleorresina de capsaicina (Surassmo et al., 2010) y nanoesferas de zeína (Prasad et al., 2018).

2.3. Polímeros usados para la preparación de nanocápsulas poliméricas

Los polímeros biodegradables pueden ser naturales o sintéticos. En general, los polímeros sintéticos ofrecen grandes ventajas con respecto a los polímeros naturales, debido a que ofrecen una amplia gama de posibilidades con diferentes tipos de productos. Algunos de los polímeros naturales tienen grupos funcionales importantes que son adecuados para aplicaciones tales como ingeniería de tejidos y menos propensos a producir efectos tóxicos. Sin embargo, la presencia de grupos funcionales y contaminantes presentes en el material de origen natural puede producir efectos inmunológicos indeseables (Shit y Shah, 2014).

Por otro lado, los polímeros sintéticos están disponibles con una amplia gama de enlaces químicos que pueden afectar en gran medida la degradación y otras propiedades derivadas. Para obtener la propiedad intermedia, dos o más polímeros se pueden mezclar y/o unir químicamente (co-polimerizar). Este último enfoque básicamente ha atraído mucha atención debido a la posibilidad de generar polímeros con propiedades deseadas sin limitaciones (Bhatia, 2016).

Los polímeros sintéticos biodegradables exhiben varias ventajas tales como: son moléculas bioactivas sencillas de procesar que pueden incorporarse fácilmente e imitar la estructura y función natural. Sin embargo, también presentan numerosas desventajas al ser menos

biocompatibles que los polímeros naturales y no se degradan fácilmente para formar bioproductos.

Los materiales poliméricos derivados de fuentes naturales son biocompatibles, el material bioactivo se puede incorporar fácilmente e imitan la estructura y composición de las matrices extracelulares naturales (Esfanjani y Jafari, 2016); sin embargo, es difícil controlar la velocidad de biodegradación y tienen una estabilidad mecánica pobre. Además, son sensibles a la temperatura y es posible la transferencia de patógenos (Dos Santos et al., 2016).

A diferencia de los polímeros naturales, los polímeros sintéticos tienen una gran ventaja, la versatilidad. A través de la química creativa de polímeros, el polímero sintético puede diseñarse a medida para satisfacer necesidades específicas. La toxicología de los productos de degradación y la biocompatibilidad tisular de los polímeros son el principal problema para decidir el éxito de los dispositivos.

Cuando se pretende que sean sistemas de liberación a largo plazo, la citotoxicidad de los productos degradados puede ser un problema menor debido a la velocidad de degradación lenta. Además, la distribución de las masas moleculares de los polímeros sintéticos suele ser más estrechas a diferencia de las distribuciones de los polímeros naturales, lo que produce una mejor reproducibilidad lote a lote (Bhatia, 2016).

Para la obtención de nanopartículas en alimentos se han utilizado diferentes polímeros sintéticos como el ácido poliláctico, ácido poliláctico-co-glicólico (Gomes et al., 2011), etilcelulosa (Suwannateep et al., 2011) y poli-(ϵ -caprolactona) (Zambrano-Zaragoza et al., 2011). Polímeros naturales como albúmina, gelatina, alginato, colágeno, quitosana y α -lactoalbúmina, almidones, celulosas y pectinas también han sido útiles en la preparación de nanopartículas.

A continuación, se describen algunos de ellos, ya que son parte de esta investigación.

2.3.1. Poli-(ϵ -caprolactona), PCL

La poli-(ϵ -caprolactona) (PCL) es un polímero obtenido por polimerización con apertura de anillo del monómero ϵ -caprolactona cíclico utilizando un mecanismo aniónico, catiónico,

catalítico de coordinación o radicales (Labet y Thielemans, 2009) (Figura 1). La PCL es un polímero semicristalino y su cristalinidad está directamente relacionada con su masa molecular. Este polímero solamente es soluble en disolventes orgánicos. Además, debido a sus características de ser un polímero biodegradable y biocompatible, la PCL se usa en varias formulaciones para ingeniería de tejidos y administración controlada de fármacos. La PCL presenta innumerables ventajas sobre otros polímeros, como su bajo costo, facilidad de conformación y fabricación que permiten tamaños de poro adecuados que producen la liberación controlada de los componentes activos encapsulados (Dos Santos et al., 2016). De acuerdo con la *FDA*, la PCL ha sido aprobado para su utilización en contacto con los alimentos (Sanchez-Garcia et al., 2008).

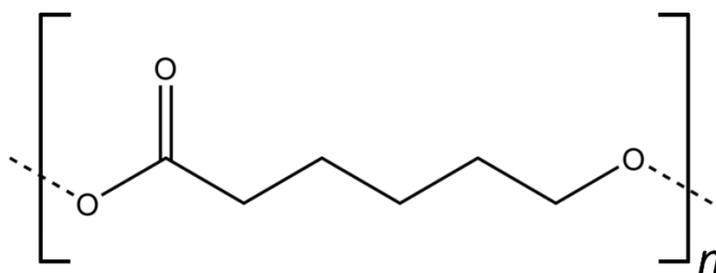


Figura 1: Estructura de la poli-(ϵ -caprolactona), PCL (Labet y Thielemans, 2009)

En el área de alimentos la PCL se ha utilizado generalmente para la fabricación de envases para alimentos, por ejemplo se han fabricado películas con aceites esenciales para el control de patógenos (Martínez-Abad et al., 2013); sin embargo, ha sido recientemente utilizada para la obtención de nanopartículas poliméricas conteniendo diferentes aditivos como α -tocoferol (Galindo-Pérez et al., 2015; Noronha et al., 2014; Zambrano-Zaragoza et al., 2011), carvacrol (Tampau et al., 2017) y la encapsulación de *Bifidobacterium* (Vidhyalakshmi et al., 2009).

2.3.2. Etilcelulosa

La etilcelulosa es un derivado de la celulosa en el que algunos de los grupos hidroxilo en las unidades repetidas de la glucosa anhidra se modifican en grupos éter etílico, denominados en gran parte éter etílico no iónico de la celulosa (Figura 2). La etilcelulosa se ha utilizado ampliamente para la microencapsulación debido a sus propiedades versátiles, tales como: 1) físicamente es un polvo blanco a claro, inodoro e insípido; 2) es insoluble en agua pero

soluble en muchos disolventes orgánicos tales como alcohol, éter, acetona y ésteres; 3) es biocompatible y compatible con muchas celulosas, resinas y casi todos los plastificantes; 4) no es biodegradable, por lo tanto, es utilizado en fórmulas orales únicamente; 5) es estable a la luz, el calor, el oxígeno y la humedad y a ciertos productos químicos; 6) no es tóxico y se encuentra en la categoría de compuesto “Generalmente Reconocido como Seguro” (*GRAS*, por sus siglas en inglés) por la *FDA* estadounidense para su uso en contacto con los alimentos; 7) no es irritante; 8) no es hinchable, es insoluble en agua, por lo tanto, la compactibilidad y la porosidad desempeñan una función clave en la liberación de los compuestos activos a partir de materiales hidrófobos; 9) en función de los contenidos de grupos “etoxi (%)”, existen tres clases de etilcelulosa, conocidos como K, N y T, que contienen 44-47.9, 48-49.5 y 49.6-51.0% de componentes “etoxi”, respectivamente. Según la longitud de la cadena o el grado de polimerización o el número de unidades de glucosa (Kamel et al., 2008; Murtaza, 2012; Rekhi y Jambhekar, 1995).

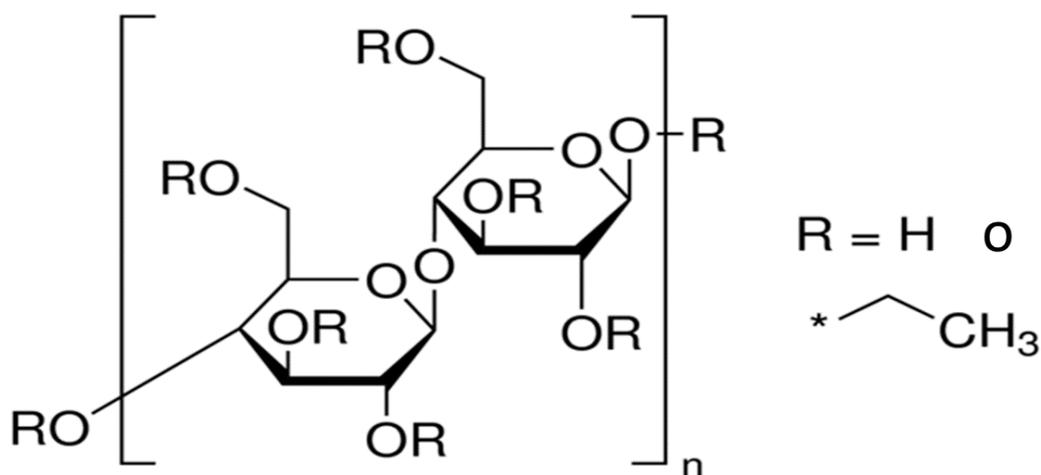


Figura 2: Estructura de la etilcelulosa (Rekhi y Jambhekar, 1995)

La etilcelulosa ha sido utilizada para la nanoencapsulación de etil vainillina (Eltayeb et al., 2015), en la preparación de nanopartículas lipídicas sólidas para encapsular maltol (Eltayeb et al., 2013), en la microencapsulación de vitamina D₂ (Shi y Tan, 2002), en láminas para empaques alimenticios conteniendo aceites esenciales (Kwiatkowski et al., 2016), así como la encapsulación de curcumina (Suwannateep et al., 2013).

2.4. Equipos para homogeneización

Los métodos de homogeneización para la preparación y fabricación de nanopartículas normalmente se dividen en dos categorías, los métodos que requieren la aplicación de alta energía y los métodos de baja energía.

El método de desplazamiento de disolvente para la formación de nanopartículas poliméricas suele utilizar dispositivos de baja energía como agitadores magnéticos o de propelas, donde la formación de las gotas de emulsión está en función de los fenómenos interfaciales. Por consiguiente, en menor medida, es independiente de la energía de homogeneización aplicada al sistema. Sin embargo, estos métodos tienen varias limitaciones tales como requerir una gran cantidad de estabilizantes y se debe tener cuidado en la selección y combinación del estabilizante-coestabilizante. Además, son poco utilizados en aplicaciones industriales a gran escala (Jafari et al., 2007b). De esta manera, diversos autores han reportado la formación de sistemas nanocapsulares poliméricos usando un sistema de agitación magnética para la formación de nanocápsulas de licopeno (Dos Santos et al., 2015), bixina (De Sousa et al., 2013) mediante el método de desplazamiento de disolvente. También se han preparado sistemas nanocapsulares conteniendo α -tocoferol usando un método que combina la policondensación interfacial el polímero y la emulsificación espontánea (Bouchemal et al., 2004), nanocápsulas lipídicas cargadas de polifenoles y nanoesferas sin carga (Heurtault et al., 2003).

Los métodos de alta energía incluyen los homogeneizadores de alta presión, microfluidificadores, homogeneizadores ultrasónicos y sistemas rotor y “estator”. En los procesos utilizando los métodos de alta energía, el mecanismo para la formación de sistemas de talla nanométrica es la ruptura de los sistemas hasta alcanzar un tamaño cercano o de orden nanométrico. Las intensas fuerzas disruptivas son aplicadas a las muestras a ser emulsificadas. Se requieren intensas energías del dispositivo u homogeneizador para generar fuerzas disruptivas mayores a las fuerzas de restauración que mantienen a las gotas en forma esférica. El tamaño de las gotas depende de diversos factores como el tipo y diseño de homogeneizador (homogeneizadores rotor y “estator”, homogeneizadores de alta presión, homogeneizadores ultrasónicos), las condiciones de operación del homogeneizador (presión, temperatura, revoluciones por minuto, la potencia o la amplitud ultrasónica, número de pasos

o ciclos, el diseño en el impedimento de las válvulas, la velocidad de flujo, entre otras), las condiciones ambientales (temperatura), composición de la muestra (fase oleosa, fase acuosa, concentración de tensoactivo) y las propiedades fisicoquímicas de la muestra) (Rodgers y Trinh, 2016).

2.4.1. Homogeneizadores de alta presión

Los homogeneizadores de alta presión son comúnmente usados en la industria de los alimentos para la producción de emulsiones convencionales con tamaños de partícula pequeños de tamaño micrométricos hasta nanométricos. Para la producción de nanoemulsiones, por ejemplo, es necesario hacer una emulsión micrométrica previa a la homogeneización con alta presión. La emulsión formada es puesta en la cámara del equipo y forzada con el uso de las altas presiones, a atravesar válvulas estrechas, de esta manera las grandes gotas de la emulsión son destrozadas y convertidas a gotas con tamaños más pequeños debido a las intensas fuerzas incluyendo fuerzas disruptivas, de cizalla, cavitación y turbulencia (Stang et al., 2001).

Estos equipos comúnmente requieren altas presiones extremas y múltiples pasos para producir nanoemulsiones. Otros factores que afectan el tamaño de las partículas en los homogeneizadores de alta presión son la relación fase oleosa/fase acuosa, la viscosidad y el uso adecuado de estabilizantes (Schultz et al., 2004). Con los homogeneizadores de alta presión se han desarrollado nanoemulsiones y nanopartículas poliméricas de “paclitaxel” (ver glosario) y ácido poliláctico-co-glicólico (*polylactic-co-glycolic acid*; PLGA) (Dong y Feng, 2007), nanopartículas de almidón entrecruzado con trimetafosfato de sodio (Shi et al., 2011) y nanopartículas lipídicas sólidas (Silva et al., 2011).

2.4.2. Microfluidificadores

Similar a los homogeneizadores de alta presión, los microfluidificadores involucran la aplicación de altas presiones sobre una emulsión previamente formada para producir nanoemulsiones, pero la emulsión pasa a través de pequeños canales donde la corriente se divide y es pasada a través de un canal fino. En la cámara de interacción, las dos corrientes que se mueven rápidamente, colisionan una con otra produciendo altas fuerzas disruptivas que promueven la disminución del tamaño de partícula. La emulsión primaria se alimenta

con una bomba neumática que es capaz de presurizar el fluido hasta aproximadamente 150 MPa, que pasa a través de un área de choque, lo que crea altas fuerzas de cizalla. También, genera distribuciones de tamaño de partícula pequeñas. Las fuerzas que gobiernan los mecanismos disruptivos son la cavitación y las fuerzas de cizalla producidos por las turbulencias en los microcanales.

De acuerdo con diversas investigaciones se ha descrito que las ventajas de la microfluidificación radican en que se pueden obtener tamaños de partícula nanométricos; así como, las distribuciones de tamaño son muy estrechas. Sin embargo, la microfluidificación tiene algunas desventajas específicas al realizar la reducción de tamaños como los tiempos largos y presiones altas que conducen al “sobre-procesamiento”; es decir, la recoalescencia de las gotas de emulsión y un aumento en la distribución de los tamaños.

Con los equipos de microfluidificación se han desarrollado nanopartículas poliméricas cargadas con coenzima Q₁₀ (Kwon et al., 2002) y corticoesteroides (Eerikäinen y Kauppinen, 2003), por citar algunos ejemplos. Pero ha sido mayormente utilizado para la formación de nanoemulsiones de α -limoneno (Jafari et al., 2007a), coenzima Q₁₀ (Hatanaka et al., 2008) y α -tocoferol (Hatanaka et al., 2010).

2.4.3. Homogeneizadores tipo rotor y “estator”

Los homogeneizadores tipo rotor y “estator” son ampliamente usados en procesos industriales incluyendo la manufactura de alimentos, cosméticos, fármacos y productos del cuidado de la salud. Muchos de estos productos implican emulsificación cuando la distribución del tamaño de gota afecta el procesamiento y las propiedades del producto. En los dispositivos de rotor y “estator” hay dos mecanismos principales que pueden romper los glóbulos de la emulsión, uno debido al rotor y otro debido al “estator” (Rodgers y Trinh, 2016).

Los mezcladores rotor y “estator” están compuestos de un set de rotores moviéndose a alta velocidad rodeados cercanamente de un set de “estatores” estacionarios (o pantallas). La acción del rotor y el “estator” juntos generan la energía de mezcla, el esfuerzo de cizalla y el esfuerzo de elongación, la turbulencia y la cavitación (en diversas proporciones según la

velocidad, la viscosidad y otros parámetros de flujo del fluido), que promueven la homogeneización o la reducción de tamaño de la muestra.

Los rotores giran a velocidades de 10 a 50 m/s y la distancia entre el rotor y el “estator” generalmente se encuentran entre los 100 a 3000 μm . Este diseño produce altas fuerzas de cizalla y turbulencias intensas. La energía generada en el rotor regularmente se disipa en el “estator”; por lo tanto, las velocidades de disipación de calor son elevadas (Atiemo-Obeng et al., 2004).

Los sistemas rotor y “estator” se han usado para la fabricación de nano partículas poliméricas capaces de encapsular diferentes componentes activos oleosos alimenticios (Zambrano-Zaragoza et al., 2011), nanopartículas de zeína (Zhong y Jin, 2009), nanopartículas lipídicas sólidas (García-Betanzos et al., 2017; García-Betanzos et al., 2016; Zambrano-Zaragoza et al., 2013), nanopartículas lipídicas sólidas enriquecidas con ácidos grasos omega-3 (Lacatusu et al., 2013) y nanocápsulas de β -caroteno (González-Reza et al., 2015).

2.4.4. Homogeneizadores ultrasónicos

La homogeneización por ultrasonido ha sido ampliamente utilizado en la industria alimenticia, siendo también empleada para preparar dispersiones micro y nanométricas (Bermúdez-Aguirre et al., 2011). El uso de ultrasonido ha sido objeto de investigación y desarrollo durante muchos años y, como ocurre en otras áreas, los intervalos de sonido empleados se pueden dividir básicamente en ultrasonido de diagnóstico de alta frecuencia y baja energía en el intervalo de MHz y ultrasonidos de baja frecuencia, alta energía y potencia en el intervalo de kHz (Mason et al., 1996).

El sistema ultrasónico está compuesto por una fuente de poder que envía la energía eléctrica hasta un transductor, dicho sistema genera el cambio de energía eléctrica a energía mecánica; la cual, pasa a través de un “sonotrodo” enviando los impulsos mecánicos hacia el medio a dispersar u homogeneizar (Dolatowski et al., 2007).

El fundamento de la homogeneización por ultrasonido se basa en el proceso de cavitación, donde las ondas mecánicas que son enviadas por el “sonotrodo” viajan a través del medio líquido, formando microburbujas de gas ocluido o vapor de agua. Las burbujas cambian de

tamaño en dos mecanismos conocidos como compresión y rarefacción, siendo función de la amplitud de la onda sónica. Las burbujas llegan hasta un punto en que son altamente inestables por los movimientos provocados por las ondas de sonido e implotan provocando presiones localizadas de hasta 100 kPa y temperaturas alrededor de 5000 K (Anandharamakrishnan, 2014), provocando la homogeneización de las muestras (Figura 3).

Las ventajas de usar homogeneización por ultrasonido incluyen: procesos de mezclado más eficientes, mayor transferencia de masa y energía, se reducen los gradientes térmicos y de concentración, se reduce el tamaño de los equipos, se incrementa la producción y se eliminan paros de procesos, ya que puede utilizarse como un sistema en línea (Chemat et al., 2011).

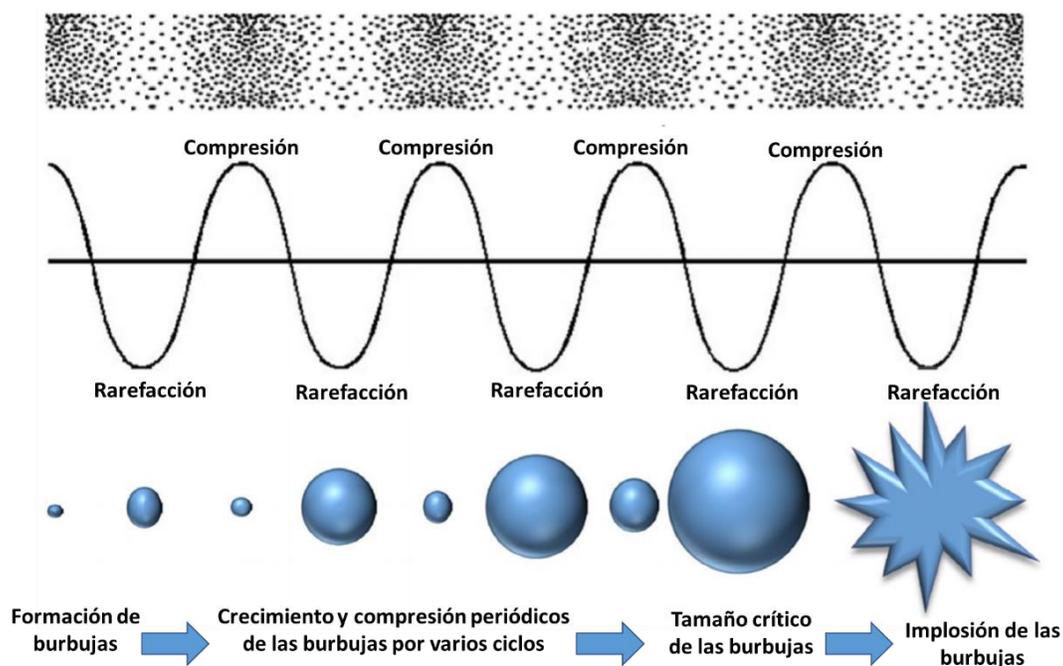


Figura 3: Mecanismo de cavitación durante la homogeneización por ultrasonido (Izadifar et al., 2019)

La homogeneización por ultrasonido ha servido para preparar nanopartículas de oro (Okitsu et al., 2005), plata (Zhu et al., 2000), nanopartículas lipídicas sólidas (Hou et al., 2003; Silva et al., 2011), nanopartículas lipídicas cargadas con “paclitaxel” (Yegin et al., 2006), nanopartículas sin carga de poli-(ε-caprolactona) (Iqbal et al., 2014) por la vía del proceso de doble emulsificación. Por lo tanto, puede ser una buena herramienta capaz de encapsular aditivos alimentarios como aceites esenciales y curcumina.

2.5. Caracterización de las nanopartículas

La caracterización de las nanopartículas, como nanoesferas, nanohidrogeles, asociaciones moleculares, liposomas, entre otros. Son una etapa central en el diseño y desarrollo de los de la nanotecnología. Recientemente, con la transferencia de más sistemas nanotecnológicos desde la investigación académica hacia su producción industrial, es necesaria su caracterización para satisfacer las necesidades en el control de calidad y la protección ambiental.

2.5.1. Tamaño de partícula e índice de polidispersión

Las técnicas más usadas para determinar el tamaño y la dispersión de las nanopartículas son la microscopía y la dispersión de luz dinámica. Mientras que con la microscopía electrónica de barrido se logra un análisis de la apariencia morfológica de las partículas, con un análisis granulométrico de las micrografías se puede obtener la distribución de tamaños de los sistemas a nanoescala. La dispersión de luz dinámica, permite una descripción de la distribución del tamaño de las partículas y una estimación de la masa de partículas molares; sin embargo, no es posible conocer la morfología del nanosistema en estudio.

La dispersión de luz dinámica (*DLS*; por sus siglas en inglés) utiliza la variación en el tiempo de la luz dispersada de las partículas suspendidas bajo el movimiento browniano para obtener su distribución del tamaño hidrodinámico y es la tecnología más popular para dimensionar las nanopartículas (Chu y Liu, 2000).

El *DLS* se ha utilizado para medir macromoléculas y partículas pequeñas en suspensión diluida desde que existen las fuentes de luz coherentes, es decir, los láseres comerciales. La norma *ISO 22412* establece los criterios y los mecanismos físicos (utiliza la función de correlación fotón-fotón para analizar las partículas en suspensión) para la determinación de los radios hidrodinámicos de las nanopartículas (*ISO 22412*, 2017; Tscharnuter, 2000).

Una característica importante del movimiento browniano para *DLS* es que las partículas pequeñas se mueven rápidamente y las partículas grandes se mueven más lentamente. 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). Como las partículas están constantemente en movimiento, el patrón de dispersión de luz también parecerá moverse.

A medida que las partículas se mueven alrededor, la adición de fase constructiva y destructiva de la luz dispersada hará que las áreas brillantes y oscuras crezcan y disminuyan en intensidad, es decir, la intensidad parece fluctuar. Para las partículas pequeñas que tienen un movimiento alto el patrón de correlación caerá rápidamente, mientras que, para las partículas grandes con un movimiento browniano más errático, las correlaciones de dispersión de luz decaerán lentamente (Figura 4). Dado que las partículas causan cambios localizados en el índice de refracción, las variaciones de intensidad producidas por las partículas son evaluadas utilizando la función de autocorrelación normalizada de segundo orden (Xu, 2008).

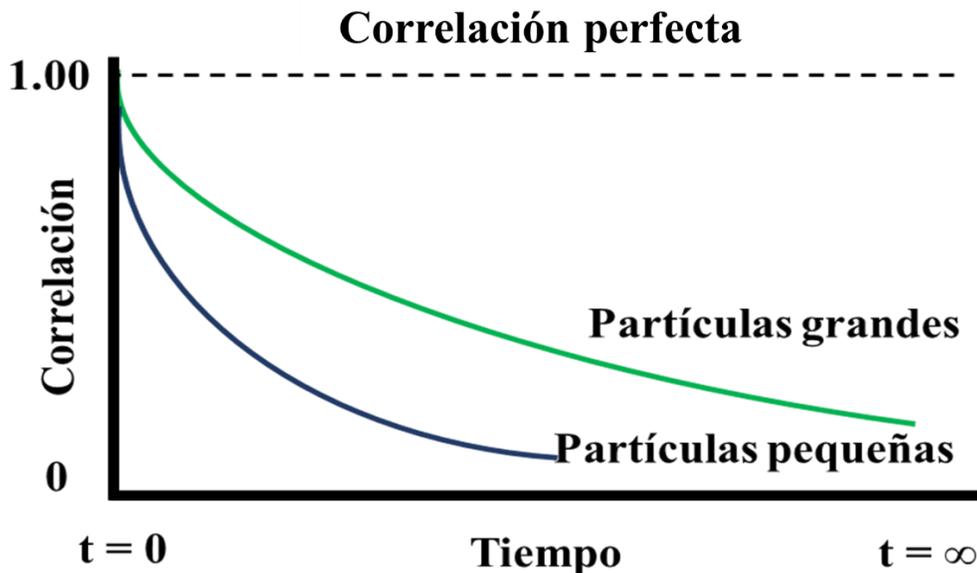


Figura 4: Coeficiente de correlación de las partículas de diferentes tamaños en función del tiempo

La dispersión de luz dinámica mide la función del tiempo de correlación normalizado $g^2(\tau)$, de la intensidad de luz dispersada (I). La función normalizada para una dispersión está dada por la siguiente ecuación (Friskén, 2001):

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(0)I(\tau) \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (2-1)$$

donde τ es la correlación del tiempo de retardo. En la mayoría de los casos la intensidad de la función de correlación es escrita en términos de la función de correlación $g^2(\tau)$ de la luz dispersada, también llamada relación de Siegert:

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + \beta[g^{(1)}(\tau)]^2 \quad (2-2)$$

donde β es el factor de coherencia, determinado en gran medida por la relación entre el área del detector y el área de coherencia de la luz dispersada. Generalmente β es considerado un parámetro desconocido que debe ser ajustado de acuerdo con el análisis de datos obtenidos. En el caso más simple de una dispersión de partículas esféricas con movimiento browniano $g^1(\tau)$ está dada por:

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma\tau) \quad (2-3)$$

donde la velocidad de decaimiento Γ es:

$$\Gamma = Dq^2 \quad (2-4)$$

donde D es el coeficiente de difusión de traslación de las partículas y q es el vector de dispersión de luz. En este punto, para partículas esféricas, D está dado por la ecuación de Stokes-Einstein (Pecora, 2000):

$$D = \frac{k_b T}{6\pi\eta R} \quad (2-5)$$

donde k_b es la constante de Boltzmann, T la temperatura de medición (normalmente 25°C) y η la viscosidad del medio de dispersión y R el radio de las partículas. De aquí aplicando el método de *cumulantes* (ver Glosario) se precisa la obtención de (Koppel, 1972) :

$$k_1\Gamma = \int_0^\infty G(\Gamma)\Gamma dt \equiv \Gamma, \quad (2-6)$$

$$k_2\Gamma = \mu_2, \quad (2-7)$$

$$k_3\Gamma = \mu_3, \quad (2-8)$$

$$k_4\Gamma = \mu_4 - 3(\mu_2)^2 \quad (2-9)$$

donde μ_m , son los momentos sobre la media.

El primer *cumulante* describe la velocidad de decaimiento de las partículas (2-6).

El segundo y el tercer *cumulantes* corresponden directamente a los momentos apropiados sobre la media (2-7 y 2-8, respectivamente): el segundo momento corresponde a la varianza, y el tercer momento proporciona una medida de la simetría o asimetría de la distribución. Solamente los tres primeros *cumulantes* son usados en los análisis estándar, debido a que la sobre-resolución de las ecuaciones puede producir una mala interpretación del tamaño promedio de las partículas (Friskén, 2001).

El tercer *cumulante* (c) es normalizado por el cuadrado del segundo *cumulante* (b^2), siendo una buena medida de la amplitud relativa de la distribución o el llamado índice de polidispersión, que está dado por la siguiente ecuación (Malvern Instruments, 2004):

$$\text{Índice de polidispersidad (IPD)} = \frac{2c}{b^2} \quad (2-10)$$

2.5.2. Potencial zeta

El desarrollo de una carga neta en la superficie de la partícula afecta la distribución de los iones en la región interfacial circundante, lo que resulta en un aumento de la concentración de contraiones (iones de carga opuesta a la de la partícula) cerca de la superficie. Así, existe una doble capa eléctrica alrededor de cada partícula (Mukherjee, 2013).

La capa líquida que rodea la partícula existe como dos partes: una región interna, llamada la capa de Stern, donde los iones están fuertemente ligados y una región externa, difusa, donde están menos firmemente unidos. 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).

Cuando una partícula se mueve (por ejemplo, debido a la gravedad), los iones dentro del límite se mueven con ella, pero cualquier ion más allá del límite no viaja con la partícula. Este límite se denomina superficie de corte hidrodinámico o plano de deslizamiento.

El potencial que existe en este límite se conoce como potencial zeta (Bhattacharjee, 2016) (Figura 5).

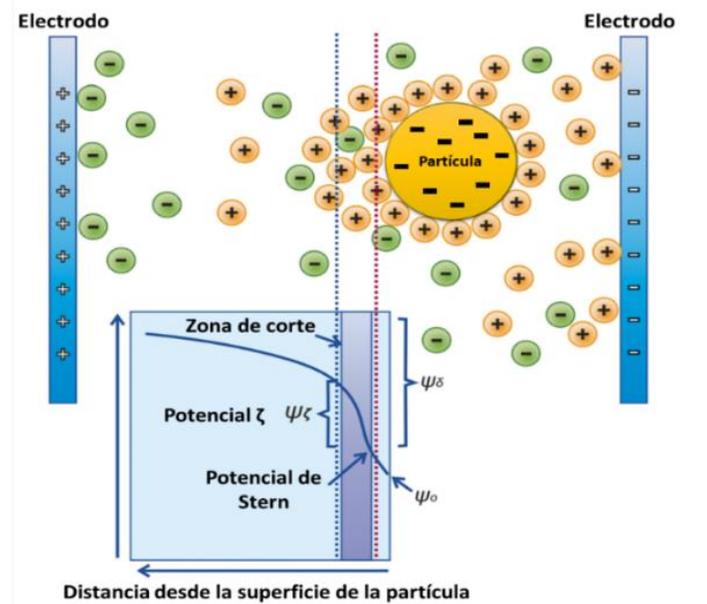


Figura 5: Representación esquemática del potencial zeta (Cano-Sarmiento et al., 2018)

El potencial zeta no puede ser medido directamente y es deducido de la movilidad electroforética de las partículas cargadas que se mueven por la acción de un campo eléctrico aplicado al sistema. La movilidad electroforética es primero calculada con la siguiente ecuación:

$$\mu_e = \frac{V}{E} \quad (2-11)$$

donde V es la velocidad de la partícula (m/s) y E es la fuerza del campo eléctrico (Volt/cm), siendo ambas cantidades conocidas. Con el cálculo de μ_e se puede calcular el potencial zeta a partir de la ecuación de Henry:

$$\mu_e = \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0\zeta f(Ka)}{3\eta} \quad (2-12)$$

donde ε_r es la “permitividad” relativa del medio (ver Glosario), ε_0 = constante de “permitividad” en el vacío, ζ es el potencial zeta, $f(Ka)$ es la función de Henry y η es la viscosidad a la temperatura del experimento.

Cuando el espesor de la doble capa eléctrica es mucho más pequeño comparado con el radio de la partícula (partículas de hasta 1 μm) el valor de $f(Ka)$ es de 1.5, por lo que la ecuación de Henry se modifica dando lugar a la ecuación de Helmholtz-Smoluchowski de la siguiente manera:

$$\mu_e = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{\eta} \quad (2-13)$$

Por el contrario, para cuando el espesor de la doble capa eléctrica es mucho mayor que la partícula debido a su tamaño (partículas menores a 100 nm), la función de Henry toma un valor de 1 y la ecuación de Henry puede ser modificada como la ecuación de Hückel:

$$\mu_e = \frac{2\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{3\eta} \quad (2-14)$$

Esta última ecuación generalmente no es utilizada para áreas biológicas, ya que no es aplicable para formulaciones en un medio acuoso, pero es muy útil en la fabricación de materiales cerámicos e inorgánicos (Bhattacharjee, 2016; Cano-Sarmiento et al., 2018).

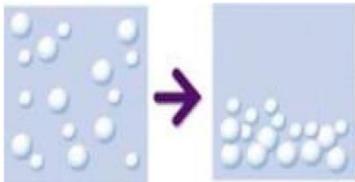
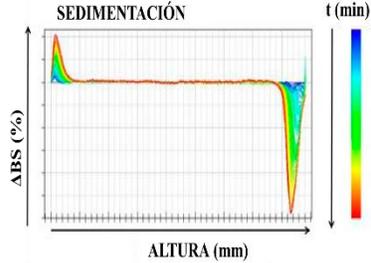
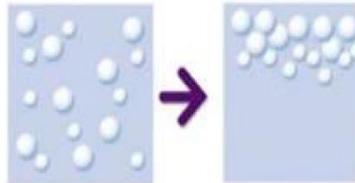
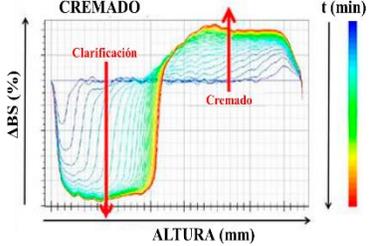
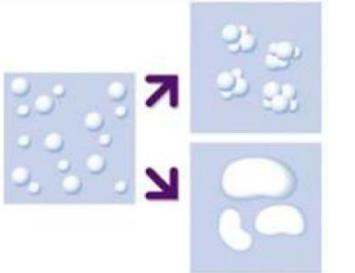
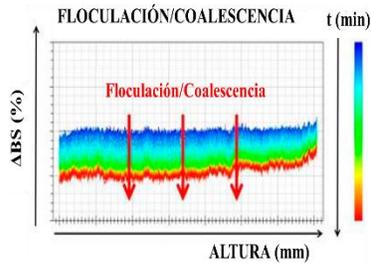
2.5.3. Estabilidad física

El equipo patentado con el nombre de “Turbiscan[®]” es un analizador óptico de estabilidad, que puede predecir la desestabilización potencial de los sistemas coloidales mediante el análisis de dispersión de luz múltiple (Cosco et al., 2015).

El principio de medición se basa en la detección de los cambios en la transmisión y la retrodispersión, en función de los movimientos de las partículas, siendo capaz de determinar el mecanismo de inestabilidad del sistema (sedimentación, cremado, floculación o coalescencia) como se muestra en la Tabla 1.

El instrumento está equipado con un cabezal de detección que se mueve hacia arriba y hacia abajo a lo largo de una celda cilíndrica de fondo plano. El cabezal de detección está compuesto por una fuente de luz infrarroja pulsada (880 nm) y dos detectores síncronos. El detector de la transmisión recibe la luz a 180° , mientras que el detector de retrodispersión analiza la luz dispersada hacia atrás por la muestra a 45° .

Tabla 1: Fenómenos de inestabilidad determinados por el equipo *Turbiscan* (Mengual et al., 1999)

Fenómeno de desestabilización	Migración de partículas o cambio de tamaño	Gráfico de Turbiscan
<p>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 la celda y aumentará en la parte inferior.</p>		
<p>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.</p>		
<p>Este fenómeno puede afectar el tamaño de partícula promedio de las partículas en la muestra</p>		

El cabezal de detección hace un barrido a lo largo de la altura de la muestra, adquiriendo simultáneamente datos de transmisión y retrodispersión cada 40 μm . El instrumento proporciona algunas ventajas en comparación con los enfoques clásicos. Es decir, es posible medir la estabilidad de las dispersiones coloidales opacas y concentradas con un solo aparato y detectar fenómenos de inestabilidad mucho antes y más fácilmente de lo que normalmente es posible a simple vista (Celia et al., 2009). Los flujos medidos son calibrados con un estándar reflectante que no absorbe la luz (esferas de poliestireno) y un estándar de transmitancia (aceite de silicón) (Mengual et al., 1999).

Cuando las muestras se analizan, los objetos dentro de la suspensión (gotitas, partículas sólidas, burbujas de gas, entre otros) dispersan la luz que luego es detectada por el instrumento. De igual manera detecta la luz que es transmitida cuando hay menos o ninguna partícula absorbente. La intensidad de transmisión o retrodispersión depende de la cantidad de partículas que están en suspensión (Frising et al., 2006). El instrumento “Turbiscan” ha sido útil para determinar la estabilidad de nanopartículas de poliéster-polisacárido (Lemarchand et al., 2003), y para evaluar la estabilidad de nanopartículas de óxido de cerio (CeO_2) y óxido de titanio (TiO_2) (Luo et al., 2017). Ha sido ampliamente usado en el análisis de estabilidad de emulsiones y nanoemulsiones (McClements, 2007).

2.6. Nanopartículas aplicadas en alimentos

Durante las últimas décadas el desarrollo de nanocompuestos ha sido de interés en el área de alimentos para su utilización en la obtención de alimentos, procesado y almacenamiento, fabricándose novedosos materiales con propiedades exclusivas, debido al incremento del área superficial con respecto a su volumen dando lugar a un aumento en la cantidad de átomos en la superficie de las nanopartículas, aumentando con ello la reactividad de los compuestos. Desde el punto de vista de la encapsulación de compuestos de interés alimenticio (ej. colorantes, antioxidantes, vitaminas, nutraceuticos, entre otros) es posible promover una liberación controlada, al mismo tiempo que se protegen los compuestos encapsulados de los cambios ambientales.

2.6.1. Nanopartículas para conservar alimentos

En la conservación de alimentos la nanotecnología ha sido aplicada desde nanopartículas que pueden estar en contacto con el alimento o dentro de materiales para preservar los productos por periodos más largos, con la intención de producir alimentos con alta calidad, minimizar las pérdidas por deterioro, incrementar la producción de alimentos y aumentar el valor nutricional de los mismos (Dasgupta et al., 2015).

Las nanopartículas inorgánicas regularmente son utilizadas en combinación con polímeros sintéticos no biodegradables (cloruro de polivinilo, polietileno, polipropileno, poliuretano, tereftalato de polietileno, entre otros), polímeros sintéticos biodegradables (alcohol polivinílico, poli- ϵ -(caprolactona), ácido poliláctico, entre otros) o polímeros naturales (almidones, celulosas, agares, alginatos, pululanas, entre otros), constituyendo los llamados nanocompositos y bionanocompositos (Hamad et al. , 2018).

Los nanocompositos son estructuras materiales con propiedades mecánicas, térmicas y de barrera mejoradas. Los nanocompositos ayudan a mantener los productos alimenticios frescos; además, reducen la infestación de bacterias en los alimentos y usados en bebidas carbonatadas disminuyen las fugas de dióxido de carbono. Por su parte, el uso de bionanocompositos no únicamente protege a los alimentos e incrementa su vida útil, también son considerados más amigables con el ambiente, con los que se reducen los requerimientos de materiales de empaque plásticos (Dufresne et al., 2013).

El mecanismo de acción de las nanopartículas metálicas en la desinfección de alimentos se presenta en la Figura 6. El mecanismo biocida de las nanopartículas inorgánicas es el siguiente: 1) las nanopartículas se unen a las membranas celulares de los microorganismos; 2) la adición de las nanopartículas genera la formación de especies de oxígeno altamente reactivas y la liberación de iones; 3) las especies oxidantes formadas se unen a proteínas, ADN y componentes de las membranas celulares, dañándolas y provocando la muerte del microorganismo (Morones et al., 2005).

Es por ello, que no es posible que las nanopartículas inorgánicas se encuentren en contacto con los alimentos por los riesgos toxicológicos que representan, debido a que por su tamaño

(menor a 100 nm) pueden acumularse en los tejidos y producir citotoxicidad (McClements y Xiao, 2017).

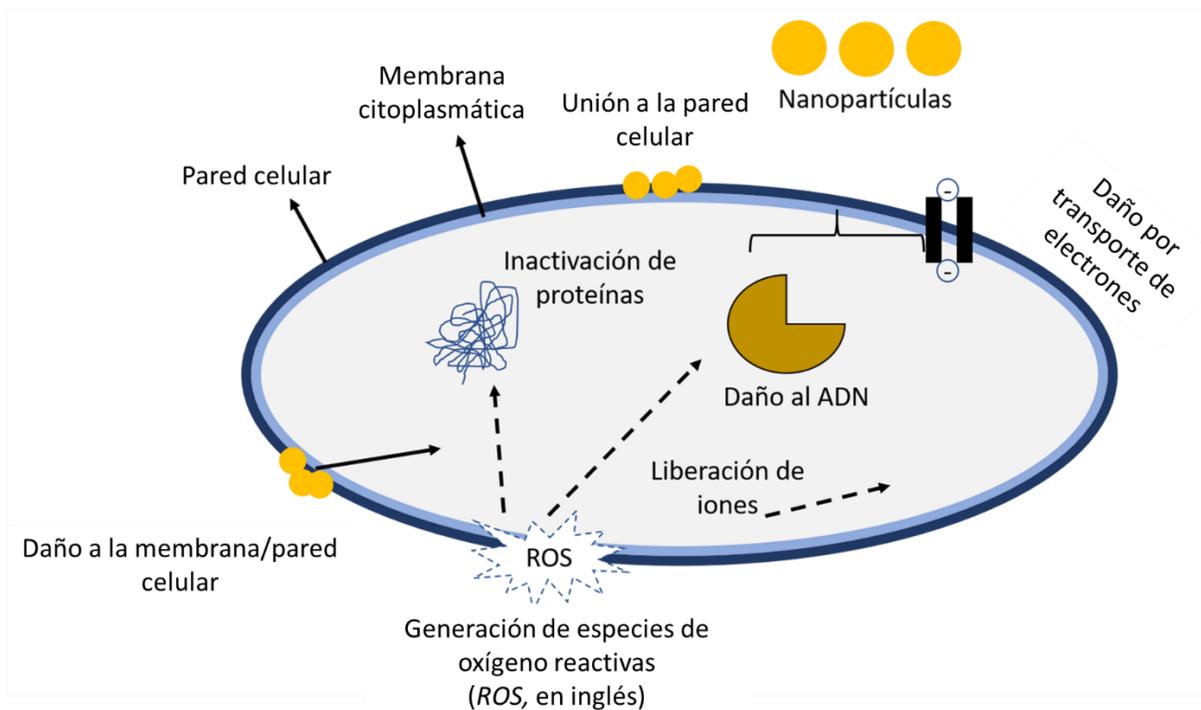


Figura 6: Representación esquemática del mecanismo antibacteriano de las nanopartículas inorgánicas (Hoseinnejad et al., 2018)

En la conservación de alimentos se ha estudiado el uso de nanopartículas de plata incorporadas en una película de alginato de sodio para recubrir zanahorias y peras, donde se observó un incremento en la vida útil de los alimentos recubiertos comparados con un sistema control que no fue tratado (Mohammed Fayaz et al., 2009). Así mismo, se han utilizado nanopartículas de plata-polivinilpirrolidona para disminuir el deterioro de espárragos, obteniéndose menores pérdidas de masa, manteniendo el color y la textura de los espárragos tratados (An et al., 2008). También se ha observado que nanopartículas de quitosana con o sin carga de cobre son capaces de disminuir la pérdida de firmeza y disminuir la velocidad de respiración de fresas, con lo cual se incrementa su vida útil (Eshghi et al., 2014).

De la misma manera se ha evaluado el efecto de nanocápsulas conteniendo α -tocoferol en la conservación de manzanas fresca cortada, donde se ha evidenciado su capacidad para

disminuir los cambios en las propiedades fisicoquímicas, mantener la firmeza, la concentración de fenoles y disminuir el oscurecimiento de la superficie cortada (Zambrano-Zaragoza et al., 2014b); lo que se ha correlacionado con bajas actividades de las enzimas polifenoloxidasas y pectinmetilesterasa (Galindo-Pérez et al., 2015).

2.7. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (también llamados volátiles) son aceites aromáticos líquidos obtenidos de flores, brotes, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutas y raíces, sintetizados como metabolitos secundarios en las verduras, siendo su característica principal el fuerte olor que presentan.

Químicamente los aceites esenciales son mezclas naturales complejas y pueden contener entre 20 a 60 componentes a diferentes concentraciones. Los componentes pueden ser divididos en dos grandes grupos, en el grupo principal se encuentran los terpenos y los terpenoides mientras que en el segundo grupo se localizan los compuestos aromáticos y los alifáticos, siendo todos de baja masa molecular. Los aceites esenciales poseen diferentes propiedades como efectos antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, siendo de especial importancia la actividad antimicrobiana, ya que pueden servir como conservadores de alimentos, disminuyendo de esta manera la utilización de conservadores sintéticos (Hammer et al., 1999). Aunque el efecto bactericida de los aceites esenciales ha sido ampliamente estudiado, el mecanismo ha sido poco revisado, debido a la amplia cantidad de compuestos que contienen. Sin embargo, se han propuesto diferentes mecanismos que son resumidos en la Figura 7.

Uno de los mecanismos propuestos destaca la hidrofobicidad de los aceites esenciales que pueden adentrarse entre los lípidos de la membrana celular y la membrana de la mitocondria provocando la modificación estructural e incrementando la permeabilidad. Esto da lugar a la salida de iones y otros compuestos celulares, así como a la entrada de moléculas, a las que normalmente se les impide el acceso, lo que conlleva a la muerte del microorganismo.

La fuga de los componentes celulares puede ser tolerada cuando son pequeñas cantidades; sin embargo, la salida de grandes cantidades de componentes intrínsecos puede provocar la muerte de la célula.

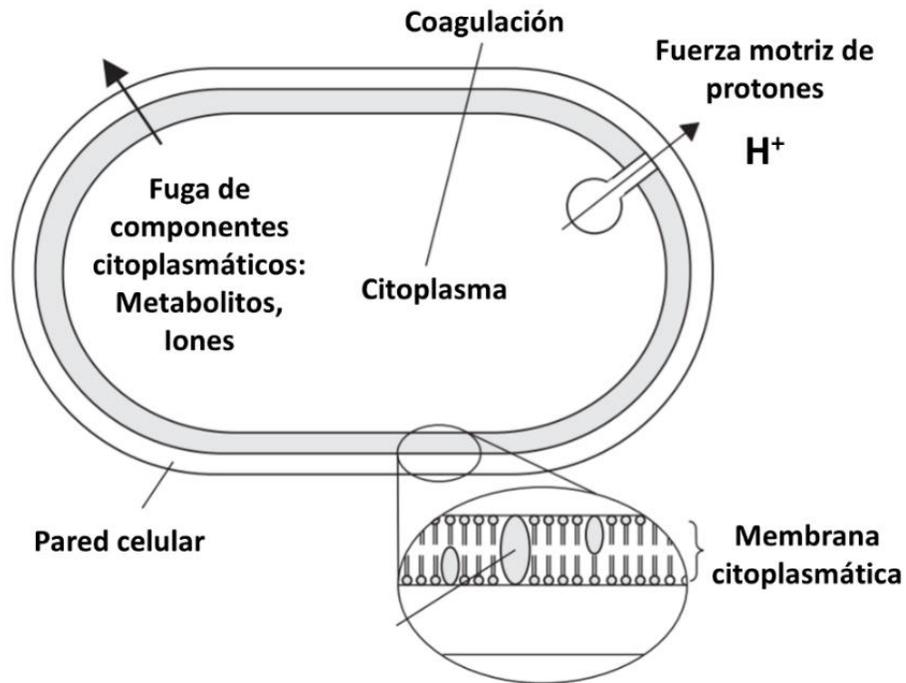


Figura 7: Sitios de acción y mecanismos de los aceites esenciales en una célula bacteriana (Burt, 2004)

Otro mecanismo que ha sido propuesto es debido a la acción de los compuestos fenólicos presentes en los aceites esenciales. Se ha estudiado el efecto bactericida de diferentes compuestos fenólicos donde se ha evidenciado su mecanismo, siendo una perturbación citoplasmática, alterando la fuerza motriz protónica, el flujo de electrones, el transporte activo, lo que conlleva a la coagulación de los componentes celulares (Burt, 2004).

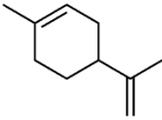
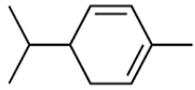
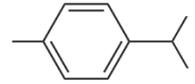
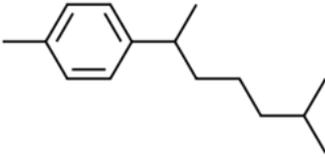
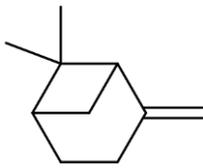
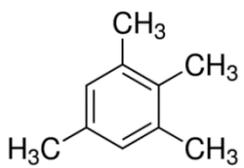
Finalmente, se ha propuesto que el efecto bactericida de los aceites esenciales es debido a que actúan sobre las proteínas contenidas en la membrana citoplasmática, como las ATPasas que están incluidas entre los lípidos de la membrana.

Las moléculas lipofílicas hidrocarbonadas pueden acumularse en la bicapa lipídica y distorsionar las interacciones lípido-lípido-proteína, siendo posible también una interacción de los compuestos lipofílicos con algunas partes hidrofílicas de las proteínas, siendo parcialmente modificadas, lo que conlleva a la disminución de su actividad.

2.7.1. Aceite esencial de limón

El aceite de limón es extraído de *Citrus lemon* y es una mezcla de terpenos y terpenoides donde el compuesto principal es el α -limoneno, teniendo una concentración alrededor del 60% (Tabla 2).

Tabla 2: Composición porcentual de aceite de limón (Teixeira et al., 2013)

Compuesto	Porcentaje	Estructura química
α -limoneno	60.1	
α -felandreno	9.0	
Cimeno	7.0	
1-(1,5-Dimetilhexil)-4-metilbenceno	2.3	
β -pineno	1.1	
1,2,3,5-Tetrametil-benceno	1.3	

El limoneno (1-metil-4-(1-metilhetenil)ciclohexano) es uno de los compuestos más comunes encontrados en los aceites esenciales de las plantas aromáticas. Es ampliamente usado como aditivo aromatizante en una amplia variedad de productos, como perfumes, bebidas, goma de mascar, detergentes y jabones, siendo categorizado como compuestos *GRAS*.

El limoneno mezclado con tensoactivos ha sido utilizado como producto de limpieza para tuberías y contenedores con grandes incrustaciones de aceites provenientes de la extracción y refinación de petróleo (Ciriminna et al., 2014).

El aceite de limón ha mostrado gran poder antimicrobiano, inhibiendo el crecimiento de microorganismos de los géneros *Aeromonas*, *Candida*, *Enterococcus*, *Escherichia* y *Staphylococcus* (Fisher y Phillips, 2006; Hammer et al., 1999), presentando de igual manera un alto poder antioxidante (Baratta et al., 1998; Graßmann et al., 2011; Misharina y Samusenko, 2008). Por ello, ha sido utilizado para conservar alimentos como en un soporte a partir de quitosana para incrementar la vida útil de fresas por 14 días (Perdones et al., 2012).

De manera similar, se ha estudiado el uso de nanoemulsiones de aceite de limón mezcladas con quitosana y combinadas con tratamientos físicos como el uso de atmósferas modificadas e irradiación gama, donde mostraron ser efectivos para reducir la carga microbiana de ejotes por 13 días (Severino et al., 2015).

En filetes de truchas recubiertas con carragenina y aceite de limón se observó un mayor efecto conservador en comparación con el tratamiento sin contener el aceite esencial, teniendo el producto una vida útil de 15 días (Volpe et al., 2015). También, ha sido utilizado para generar películas biodegradables a partir de gelatina de piel de pescado mezcladas con aceite de limón con la finalidad de obtener una película inteligente (Tongnuanchan et al., 2012).

En estudios recientes, se ha encapsulado D-limoneno en nanoemulsiones para incrementar el poder bactericida (Donsì et al., 2011). También, el aceite de limón se ha atrapado en nanogeles formados con quitosana/octenil succínico anhidro de almidón (almidón-OSA) (Hasani et al., 2018). Se ha encapsulado aceite de limón extraído a partir de la piel de la fruta mediante nanoemulsiones usando goma arábica y maltodextrinas (Mahmoud et al., 2016) y en nanoemulsiones de caseinato y Tween 80 (Su y Zhong, 2016). Así mismo, se ha estudiado

la encapsulación del aceite de limón dentro de ciclodextrinas (Bhandari et al., 2002; Bhandari et al., 1999; Padukka et al., 2000). Sin embargo, poco se conoce sobre su nanoencapsulación dentro de sistemas o matrices poliméricas y su efectividad para conservar alimentos.

2.7.2. Aceite esencial de romero

El aceite esencial de romero es extraído de la planta *Rosmarinus officinalis* L. mediante diferentes metodologías como arrastre de vapor (Jiang et al., 2011), hidrodestilación (Reverchon y Senatore, 1992), con disolventes orgánicos (Presti et al., 2005), disolventes verdes (Rodríguez-Rojo et al., 2012) y recientemente empleando fluidos supercríticos (Moncada et al., 2016; Zabet et al., 2015). El aceite de romero ha sido ampliamente utilizado en aromaterapia y como condimento en alimentos.

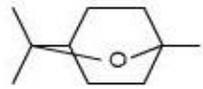
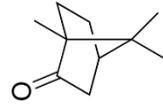
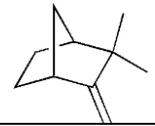
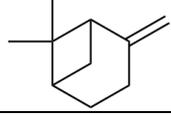
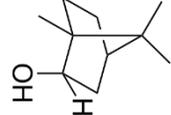
La composición química ha sido publicada por diferentes investigadores coincidiendo que el componente principal es el 1,8-cineol alcanzando hasta una concentración del 52.4% (Boutekedjiret et al., 2003; Hori y Komatsu, 1997; Jiang et al., 2011). En la Tabla 3 se presentan los valores de la composición química del aceite de romero de acuerdo con Jiang et al. (2011).

El aceite de romero tiene actividades antioxidantes, antibactericidas y antifúngicas (Bozin et al., 2007; Ojeda-Sana et al., 2013); siendo capaz de inhibir la multiplicación de microorganismos como *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* (Jiang et al., 2011).

De igual manera, se ha observado que películas de aislado de proteína de suero de leche combinadas con aceite de romero no tienen un efecto inhibitorio contra microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Lactobacillus plantarum*.

Sin embargo, los extractos de romero tienen potencial para inhibir el crecimiento de *Bacillus cereus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria mesenteroides* y *Listeria plantarum* (Campo et al., 2016).

Tabla 3: Composición química del aceite de romero (Jiang et al., 2011)

Compuesto	Porcentaje	Estructura
1,8-cineol	26.54	
α -pineno	20.14	
Alcanfor	12.88	
Camfeno	11.38	
β -pineno	6.95	
Borneol	3.06	

Desde el punto de vista tecnológico, el aceite de romero ha sido incorporado en películas de gelatina-quitosana para conservar pescado. Para conservar carne, se ha utilizado un recubrimiento de alginato con aceite de romero para disminuir el deterioro de carne de res (Vital et al., 2016). De manera similar, Abdollahi et al., (2014) desarrollaron un recubrimiento a base de quitosana y montmorillonita de sodio (nanoarcilla) conteniendo aceite de romero, donde observaron que el tratamiento fue efectivo para mantener los valores de pH, retardar la oxidación lipídica, la producción de ácidos grasos libres y la formación de ácido tiobarbitúrico. Para sardinas tratadas con aceite de romero y almacenadas a -20°C durante 5 meses, se ha observado una disminución significativa de los valores de ácidos grasos libres, de peróxidos y del ácido tiobarbitúrico, debido al efecto antioxidante del aceite

esencial (Serdaroglu y Felekoglu, 2005). También ha mostrado un efecto conservador contra la oxidación lipídica y la fermentación de queso (Olmedo et al., 2013).

Se ha microencapsulado el aceite de romero en goma arábica (Fernandes et al., 2013), maltodextrinas y almidón modificado (De Barros Fernandes et al., 2014; Teodoro et al., 2014), etilcelulosa (Voncina et al., 2009), proteína de suero de leche-inulina (Fernandes et al., 2014). En frutas frescas cortadas, se ha reportado que el aceite de romero adicionado directamente en un soporte de mucílago e nopal fue más eficaz para retardar el deterioro de mango fresco cortado en comparación con un tratamiento de mucílago de nopal mezclado con microcápsulas de aceite de romero (Alikhani, 2014). En sistemas de tamaño nanométrico, Ozogul et al. (2017) han preparado nanoemulsiones de aceite de romero para recubrir filetes de trucha arcoíris, encontrando que los aceites esenciales fueron capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos, así como mantener las características de calidad de los filetes. Khoobdel et al. (2017), nanoencapsularon aceite de romero empleando el método de desplazamiento de disolvente para ser usado como insecticida. Por lo anterior, la nanoencapsulación y aplicación del aceite de romero, puede tener potencial en la conservación de alimentos, en especial en las frutas frescas cortadas como la papaya.

2.7.3. Curcumina

La curcumina es el principal curcuminoide de la cúrcuma utilizada ampliamente en la cocina india. Forma parte de la familia del jengibre (*Zingiberaceae*). Los otros dos curcuminoideos son desmetoxicurcumina y bis-desmetoxicurcumina. Los curcuminoideos son polifenoles y son responsables del color amarillo de la cúrcuma. La curcumina puede existir en al menos dos formas tautoméricas, ceto y enol, siendo la forma enol más estable energéticamente en la fase sólida y en solución. Es de color amarillo brillante y se puede usar como colorante para alimentos (Akram et al., 2010).

El nombre químico de la curcumina es (E,E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5 diona, es una dicetona insaturada, con una masa molecular de 368.38 g/mol y tiene un punto de fusión de 179-183°C. Bajo condiciones fisiológicas la curcumina se puede encontrar en la forma enolato y la forma bis-ceto. En condiciones ácidas y neutras y en fase sólida la forma ceto es predominante, mientras que a condiciones alcalinas (pH > 8)

predomina la forma enólica y las partes fenólicas de la molécula tienen el efecto de donadores de electrones (Akram et al., 2010) (Figura 8).

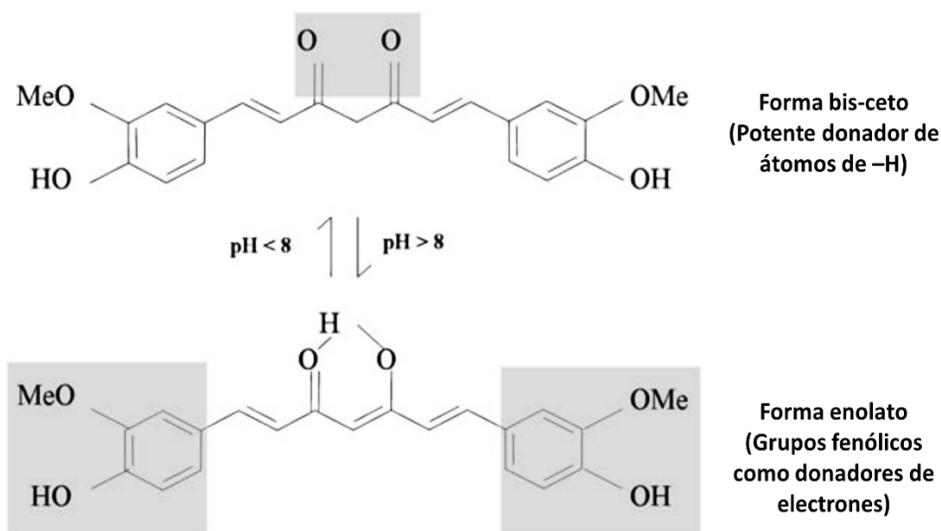


Figura 8: Estructura química de la curcumina (Strimpakos y Sharma, 2008)

La curcumina tiene actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y antifúngicas. Los estudios han demostrado que la curcumina no es tóxica para los humanos, además ejerce actividad antiinflamatoria por inhibición de una serie de moléculas diferentes que desempeñan un papel importante en la inflamación y ayuda a prevenir la aterosclerosis al reducir la formación de grupos de sangre. La curcumina tiene una actividad antioxidante tan potente como las vitaminas C, E y el β -caroteno, por lo que el uso de la cúrcuma es una opción para la prevención del cáncer, la protección del hígado y el envejecimiento prematuro (Jayaprakasha et al., 2006; Menon y Sudheer, 2007).

Los estudios sobre la utilización de la curcumina como coadyuvante para preservar alimentos han sido reducidos, enfocándose mayoritariamente en la nanoencapsulación en diferentes formas, como la creación de nanoemulsiones (Sari et al., 2015), nanocápsulas (Coradini et al., 2014), liposomas (Feng et al., 2017) y micropartículas (Gómez-Estaca et al., 2015). Recientemente, se ha observado que las nanocápsulas de curcumina/polivinilpirrolidona pueden disminuir las reacciones de Maillard en leche debido a que es capaz de atrapar los compuestos dicarbonílicos y las especies reactivas de oxígeno (Liu et al., 2017). Para la fabricación de bebidas enriquecidas se han preparado emulsiones agua/aceite/agua

encapsulando curcumina y catequina aplicadas en una bebida modelo (Aditya et al., 2015). También se han preparado nanoemulsiones de curcumina con diferentes surfactantes con la finalidad de fortificar leche comercial, evidenciándose una menor oxidación de los lípidos (Joung et al., 2016). Por lo anterior, es posible que la nanoencapsulación de curcumina sea eficaz para disminuir el deterioro de las frutas frescas cortadas, incrementando con ello su vida útil.

2.8. Frutas frescas cortadas

Las frutas frescas cortadas son frutas mínimamente procesadas, que han sido alteradas de su forma original y han sido peladas, rebanadas, picadas, cortadas en tiras o descorazonadas, con o sin lavado u otro tratamiento, antes de ser empaquetadas para su uso por el consumidor o establecimiento minorista (*United States Food and Drug Administration*, 2008). La Asociación Internacional de Productos Frescos Cortados (*IFPA*, por sus siglas en inglés) indica que las frutas y vegetales frescos cortados fueron inicialmente llamados mínimamente procesados o productos ligeramente procesados y son cualquier fruta fresca o vegetal que ha sido físicamente modificado de su forma original por pelado, cortado, lavado, entre otros, para obtener un producto 100% comestible que es subsecuentemente embolsado o empacado y almacenado bajo refrigeración (Martín-Belloso y Soliva-Fortuny, 2010).

La principal ventaja de este producto es la comodidad y el ahorro de tiempo, dado que en la mayoría de los casos se encuentran listos para ser consumidos. Estos incluyen cualquier producto fresco y sus mezclas en diferentes cortes y empaques. Así como, productos ensaladas en bolsas, zanahorias *baby*, mezclas de vegetales sofrido y frutas frescas cortadas como manzanas, piñas, sandías o melones, por dar algunos ejemplos (Baldwin y Bai, 2011).

Sin embargo, el daño en los tejidos provoca una serie de cambios físicos, químicos y bioquímicos en las frutas frescas cortadas como respuesta a los cortes. En este sentido, se incrementa la respiración del fruto y la producción de etileno que conlleva a la activación y sobreproducción de enzimas degradadoras de la pared celular (como la pectinmetilesterasa (PME) y la poligalacturonasa (PG)), la degradación de las clorofilas (por clorofilasas), el deterioro de las membranas celulares (por lipoxigenasas), la síntesis de carotenos y antocianinas, el metabolismo de compuestos fenólicos, la susceptibilidad a la contaminación

por microorganismos incluyendo los patógenos entre otros, lo que disminuye en gran medida la vida útil de las frutas frescas cortadas (Baldwin y Bai, 2011).

Para contrarrestar la serie de procesos que ocurren en las frutas debido a los cortes, se han utilizado algunas tecnologías muy novedosas y diferentes. Los tratamientos químicos y la aplicación de calor se han usado tradicionalmente para conservar las características de los productos frescos cortados. El ácido ascórbico, el ácido cítrico y otros agentes antioscurecimiento se han aplicado en frutas frescas cortadas para disminuir el oscurecimiento enzimático provocado por la enzima polifenoloxidasas (PFO). Las sales de calcio como el cloruro de calcio, el lactato de calcio y el propanoato de calcio se han usado para mantener la firmeza en las frutas frescas cortadas. Las sales de calcio provocan el entrecruzamiento de las pectinas parcialmente desmetiladas por acción de la PME. Los iones divalentes de Ca^{2+} entrecruzan iónicamente a las pectinas desmetiladas formando pectatos o geles de pectina (García y Barrett, 2002).

Los métodos físicos incluyen los empaques activos, tratamientos con alta presión, las atmósferas modificadas, los tratamientos con radiaciones tipo UV y los recubrimientos comestibles y son conocidos como las tecnologías emergentes para la preservación de los parámetros de calidad de las frutas frescas cortadas. Un recubrimiento comestible es definido como una capa delgada de un material aprobado para su consumo aplicado en la superficie de un producto alimenticio para extender su vida útil, por la reducción de la humedad, la migración de solutos, el intercambio de gases, la respiración y las velocidades de oxidación; así como, la reducción o supresión de los desórdenes fisiológicos. Además, pueden ser acarreadores de diferentes compuestos químicos como ácido ascórbico, ácido cítrico o sales de calcio para incrementar su potencial (Velderrain-Rodríguez et al., 2015a).

Los sistemas con recubrimientos comestibles a base de nanosistemas son una novedosa estrategia para la preservación de los alimentos, en particular de los alimentos frescos cortados. En este aspecto, las diferentes estructuras nanométricas como nanoemulsiones, nanofibras, nanopartículas lipídicas sólidas, acarreadores lipídicos nanoestructurados, nanotubos, nanocristales y nanocápsulas poliméricas sirven para incorporar ingredientes sobre los alimentos. La idea es que los compuestos activos encapsulados se liberen de forma gradual y mejoren la conservación de los alimentos (Zambrano-Zaragoza et al., 2018).

2.9. Generalidades de la papaya (*Carica papaya*)

La papaya (*Carica papaya*) es una planta nativa de las áreas tropicales de América y ahora es cultivada en los países tropicales y subtropicales del mundo. Desde el punto de vista económico, es la fruta más importante de la familia *Caricaceae*, ya que es la tercera fruta más consumida en el mundo y por tanto, de importancia económica y social al ser una fuente de ingresos para miles de familias y al mismo tiempo, un medio de captación de divisas para los países productores (Sandoval et al., 2017).

Es consumida fresca o procesada. De los productos procesados más consumido se encuentran las jaleas, mermeladas, néctares, helados, yogures y rodajas de frutas, obtenidos a partir de la fruta madura (Workneh et al., 2012).

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017), *FAO*, por sus siglas en inglés, en ese año, en el mundo se produjeron más de 13 millones de toneladas de papaya. México fue el tercer productor de papaya con una producción de más de 960 mil toneladas y un área cosechada de más de 16 mil hectáreas, principalmente de la variedad ‘Maradol’. En 2015, Oaxaca fue el principal estado productor de papayas que, junto con Chiapas, Colima y Veracruz, aportaron al mercado casi el 73% de papaya. Por ello, México se ha posicionado como el líder en exportaciones de papaya a nivel mundial (Sandoval et al., 2017).

Además, la papaya es una fuente importante de nutrientes macromoleculares como: carbohidratos, lípidos y proteínas. Micronutrientes como los glúcidos, sodio, potasio, magnesio, calcio, hierro, cobre y zinc, así como vitamina C, tiamina, riboflavina y niacina (Saeed et al., 2014). Se ha observado que la papaya tiene fitoquímicos como la papaína, quimopapaína, la caricaína y la papaya proteinasa IV, estas tres últimas extraídas del látex de la fruta. También, se ha estudiado que la papaya tiene diferentes propiedades farmacológicas, debido a que posee actividad antiinflamatoria, actividad para curar heridas, actividad antifertilizante, actividad anticancerígena, actividad antifúngica actividad inmunomoduladora y actividades hipoglucémicas e hipolipodémicas (Mahendra y Nikhil, 2016).

Sin embargo, la vida útil de la papaya fresca cortada rápidamente decae debido al incremento de la respiración que es influenciada por la temperatura de almacenamiento, ya que a 30°C la velocidad inicial de consumo de oxígeno es alta mientras que a 5°C la velocidad inicial de consumo de oxígeno es baja. De la misma manera la producción de CO₂ en la papaya almacenada a 30°C es más rápida que a 5°C (Rahman et al., 2013).

También la producción de etileno se incrementa en la papaya fresca cortada. En el trabajo realizado por Karakurt y Huber (2003), se evaluaron los cambios físicos, químicos y bioquímicos de papaya entera y fresca cortada almacenadas en refrigeración a 5°C, con la finalidad de determinar el efecto del procesamiento en las características del producto.

En específico fueron analizadas las propiedades físicas de firmeza, la concentración de poliuronidos de la pared celular, actividades enzimáticas de la pared celular y de la membrana celular y las actividades enzimáticas encargadas en la biosíntesis de etileno. Se encontró que la firmeza de la papaya fresca cortada se redujo cerca del 36% en el segundo día de almacenamiento y hasta 54% en el octavo día de almacenamiento mientras que la firmeza de la papaya intacta decreció 19% en el octavo día.

Mientras que el contenido de poliuronidos no mostró cambios significativos en la papaya intacta almacenada a 5°C, en cambio para la papaya fresca cortada, el contenido de poliuronidos decreció alrededor de 10%, que fue asociado con un incremento en la actividad enzimática de la poligalacturonasa (PG) dando lugar a la solubilización de las pectinas. En este aspecto se observó un incremento significativo 10 veces mayor de la actividad PG en la papaya fresca cortada en comparación con la fruta intacta, atribuido a su vez a la alta producción de etileno, siendo un componente principal para la síntesis de las enzimas PG. Con respecto a la actividad pectinmetilesterasa (PME), no se encontraron diferencias significativas entre la papaya fresca cortada y las intactas (Karakurt y Huber, 2003).

Esto revela que el procesamiento mínimo en las frutas provoca, en principio, el incremento en la respiración y en la producción de etileno, que está relacionado a la expresión de diferentes enzimas que están implicadas en la degradación de la membrana celular, la pared celular y la generación de radicales libres que disminuyen la vida útil de las papayas.

2.9.1. Tratamientos usados para aumentar la vida útil de papaya fresca cortada

Dada la poca vida útil de la papaya fresca cortada, es necesario generar estrategias que ayuden a minimizar la respiración de la papaya y los procesos metabólicos que de la respiración se desprenden. Para ello, se han ideado diferentes alternativas que coadyuven al incremento de la vida útil de las papayas.

Por ejemplo, se han utilizado tratamientos químicos con ácido ascórbico y CaCl_2 mezclados con *Aloe vera* y miel para retener la calidad de papaya fresca cortada, encontrándose una disminución de los componentes bioactivos de la papaya por la disminución de las enzimas polifenoloxidasas (PFO) y peroxidasa (POD). En la Tabla 4 se presentan los diferentes tratamientos químicos que han sido aplicados en papaya fresca cortada para incrementar su vida útil.

También se han estudiado otras alternativas para mantener las características sensoriales y nutricionales de papaya fresca cortada, siendo los métodos físicos y las tecnologías emergentes las más utilizadas. Por ejemplo, se han utilizado recubrimientos a base de quitosana para conservar las características de calidad de papaya fresca cortada.

En este caso, González-Aguilar et al. (2009) recubrieron papaya de la variedad 'Maradol' con quitosana de diferentes masas moleculares (baja = 67.3×10^3 g/mol, intermedia = 109.5×10^3 g/mol y alta 157.6×10^3 g/mol) encontrando que el recubrimiento a base de quitosana más efectivo fue el compuesto por quitosana de masa molecular intermedia a una concentración de 0.02 g/mL.

Se observó una alta actividad antimicrobiana; además, decreció la actividad enzimática de la pectinmetilesterasa y poligalacturonasa manteniendo con ello la firmeza de la papaya fresca cortada. El recubrimiento que también mostró un cierto grado de retención en la calidad de la papaya fue el compuesto por quitosana de alta masa molecular a concentraciones de 0.02 g/mL.

Boonyaritthongchai y Kanlayanarat (2010) evaluaron el efecto de la aplicación de calor (50°C) y un recubrimiento compuesto de quitosana sobre la vida útil de papaya 'Kaek Dum'. La papaya fue sumergida en una disolución de quitosana (0.25%) por 1 min y calentada a 50°C por 1 min para ser empacada y almacenada a 4°C .

Tabla 4: Diferentes compuestos químicos utilizados para conservar papaya

Variedad	Tratamiento	Resultados	Tiempo de vida útil	Referencia
Surise Solo	1-Metilciclopropano	No hay diferencia entre las muestras no tratadas respecto a las actividades PG y β -galactosidasa indicando que la mayor parte de las reacciones de deterioro del fruto no son relacionadas con la producción de etileno	-----	Ergun et al., 2011
Foot Loga	Ozono (9.2 μ L/L) durante 10, 20 y 30 min	Con 20 min de exposición al ozono se obtiene un incremento del contenido de fenoles y una ligera disminución del ácido ascórbico con una inhibición del crecimiento de microorganismos	-----	Yeoh et al., 2014
Formosa	0.1% cinamaldehído; 0.75% CaCl ₂ ; 0.1% cinamaldehído y 0.75% CaCl ₂	Disminución del deterioro de la papaya fresca cortada evaluada con la retención de la firmeza y reducción en la carga microbiana	12 días	Albertini et al., 2016

CaCl₂: cloruro de calcio

Se observó que la papaya fresca cortada sometida al tratamiento combinado tuvo una vida de almacenamiento de hasta 15 días en comparación con las que únicamente fueron recubiertas o las muestras control donde su vida útil fue de 12 y 9 días, respectivamente.

Investigaciones similares han sido realizadas por Ayón-Reyna et al. (2015), donde evaluaron la aplicación de una solución de cloruro de calcio calentado hasta 49°C seguido por un recubrimiento de quitosana sobre papaya ‘Maradol’ fresca cortada para determinar su efectividad sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del producto envasado. Encontraron que la papaya sometida al tratamiento de CaCl₂ calentado con y sin quitosana, mostraron una mayor retención del color superficial y de la firmeza de la papaya con respecto a la papaya control.

Así mismo, se evidenció que la papaya tratada con la solución de CaCl₂ y el recubrimiento de quitosana mantuvieron las propiedades nutricionales con una disminución significativa en el crecimiento microbiano durante todo el periodo de almacenamiento a 5°C.

En la Tabla 5 se describen otros de los métodos físicos y su combinación con compuestos químicos que han servido para mantener las características de papaya fresca cortada.

En el siguiente capítulo se presenta la metodología seguida en esta investigación, basada en esta revisión de antecedentes.

Tabla 5: Métodos físicos y combinados (físicos y químicos) utilizados para incrementar la vida útil de papaya fresca cortada

Variedad	Tratamiento	Resultados	Tiempo de vida útil	Referencia
Maradol	Solución de CaCl ₂ (1% m/v) y calentada a 49°C; Solución de CaCl ₂ (1% m/v) calentada a 49°C y quitosana (1% m/v)	Retención de la firmeza y color del producto terminado, así como de las propiedades nutricionales como el contenido de β-caroteno y licopeno, ácido ascórbico y fenoles totales	10 días	Ayón-Reyna et al., 2015
Honeydew	Alginato (1, 1.5 y 2% m/v) Alginato (1, 1.5 y 2% m/v) y bacteriocín (0.20% m/v)	Retención de las propiedades fisicoquímicas, de firmeza y color, así como una disminución en el crecimiento de microorganismos cuando se utiliza alginato (2% w/v) y bacteriocín	21 días	Narsaiah et al., 2015
Maradol	Ácido málico (0, 0.5, 1.0 y 1.5%), lactato de calcio (1%) y ácido ascórbico (0.5%) Irradiación UV	Disminución de la carga microbiana de mesófilos, psicrófilos, mohos y levaduras, manteniendo también las características fisicoquímicas y texturales de la papaya fresca cortada	-----	Raybaudi-Massilia et al., 2013
Kaek Dum	0.25% quitosana y Calentamiento (50°C) 0.25% quitosana y Calentamiento (50°C)	Retención de la calidad, incremento de la vida útil hasta 15 días en almacenamiento a 4°C	15 días	Boonyariththongchai y Kanlayanarat, 2010
Maradol	0.5% Gelana, 1% glicerol, aceite de girasol, 1% AA*, 1% AC* y <i>bifidobacterium</i> ; 2% Alginato, 2% glicerol, aceite de girasol, 1% AA*, 1% AC* y <i>bifidobacterium</i>	Los recubrimientos de goma gelana mostraron mejores resultados en las propiedades de pérdida de vapor de agua en comparación con el recubrimiento de alginato, así mismo se observó que los recubrimientos mantienen la viabilidad de <i>bifidobacterias</i> hasta por 10 días	8 días	Tapia et al., 2008

Maradol	1% CaCl ₂ y 2% AC; 1% CaCl ₂ , 2% AC, 5% O ₂ , 10% CO ₂ y 85% N ₂ ; 5% O ₂ , 10% CO ₂ y 85% N ₂	La combinación del tratamiento químico y físicos ayudan a mantener el color superficial y la textura y disminuir la cantidad de microorganismos presentes en el producto	25 días	Waghmare y Annapure, 2013
Maradol	Quitosana de alta masa molecular (0.02 g/L) Quitosana de media masa molecular (0.02 g/L) Quitosana de baja masa molecular (0.02 g/L)	El mejor recubrimiento fue el de quitosana de media masa molecular observándose alta actividad microbiana, una alta retención en la firmeza debido a la inhibición de la expresión de las enzimas pectinmethilesterasa y poligalacturonasa	15 días	González-Aguilar et al., 2009
Pusa Delicious	Tratamiento químico (2% CaCl ₂ , 1% AA y 0.12% vainillina); <i>Aloe vera</i> ; 10% miel; Tratamiento químico y <i>Aloe vera</i> ; Tratamiento químico y miel	Retención de la cantidad de fenoles totales y ácido ascórbico con la disminución de las actividades enzimáticas PFO y POD. Además, se redujeron los cambios fisicoquímicos asociados al daño de los tejidos en los frutos	12 días	Kuwar et al., 2015
Tainung No. 1	1% de glicerol y 0.5% xantana; 1% glicerol, 0.5% xantana y 1% quitosana; 1% glicerol, 0.5% xantana y 0.25% goma guar; 1% glicerol, 0.5% xantana, 0.25% goma guar y 1% quitosana.	Disminución en la pérdida de masa y conservación de las características de color superficial. Los mejores resultados fueron encontrados con los tratamientos que contienen xantana. Con la adición de goma guar se observó un efecto negativo	12 días	Cortez-Vega et al., 2013

*AA = Ácido ascórbico; *AC = Ácido cítrico

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se describen los materiales empleados y las metodologías adoptadas para producir las nanocápsulas, caracterizar los sistemas nanocapsulares y estudiar su efecto sobre la conservación de papaya ‘Maradol’ fresca cortada.

3.1. Materiales

3.1.1. Materiales químicos

El β -caroteno grado alimenticio (300 g/L de β -caroteno en aceite de maíz) fue adquirido de DSM Nutritional Products (México). El poloxámero 407 (Pluronic® F-127), la poli-(ϵ -caprolactona) (MM \approx 80,000), el β -caroteno en polvo (\geq 97%), el aceite de limón (*Citrus limon*), el aceite de romero (*Rosemarinus officinalis* L.) y la curcumina (*Curcuma longa*) fueron comprados de Sigma-Aldrich® (EE.UU.). El acetato de etilo grado analítico fue obtenido de Fermont® (México). Todos los otros reactivos utilizados fueron al menos grado analítico.

3.1.2. Material biológico

Las papayas utilizadas fueron obtenidas en un centro de distribución de frutas del área (Cuautitlán Izcalli, Estado de México), y fueron seleccionadas de acuerdo con su tamaño y forma, evitando la presencia de daño mecánico, contaminación por antracnosis y en un estado de madurez nivel 5 (80-90% amarilla) como se muestra en la Figura 9.



Figura 9: Aspecto visual de la papaya ‘Maradol’ en cada estado de madurez. V: verde sin rayas naranjas; 1: piel verde con ligeras rayas amarillas; 2: piel verde con rayas amarillas bien definidas; 3: una o más rayas naranjas en la piel; 4: piel de color naranja con algunas áreas verdes; 5: piel color naranja característico de la papaya ‘Maradol’; color de la piel similar al estado 5, pero más intenso (Basulto et al., 2009)

3.2. Optimización para la preparación de nanocápsulas

3.2.1. Diseño experimental para la optimización

Para establecer las condiciones óptimas para la preparación de las nanocápsulas usando homogeneización por ultrasonido como sistema de reducción de partícula, se usó la metodología de superficie de respuesta, donde las variables de respuesta fueron la potencia del dispositivo ultrasónico (X_1), la cantidad de β -caroteno adicionado a la formulación (X_2) y la cantidad de poli-(ϵ -caprolactona) (PCL) utilizado (X_3) en la preparación. Las variables de respuesta fueron la eficiencia de encapsulación (Y_1), el tamaño de partícula (Y_2), el índice de polidispersión (Y_3), el potencial zeta (Y_4). En la Tabla 6 se presentan las variables codificadas y no codificadas utilizadas en el diseño. Se utilizó un diseño central compuesto rotatable (DCCR) usando un diseño factorial completo 2^3 (ocho puntos factoriales, seis puntos centrales y seis puntos axiales) con tres réplicas por cada experimento, que fueron realizados en orden aleatorio.

Tabla 6: Variables codificadas y no codificadas usadas para generar el diseño central compuesto

Variables codificadas	Variables no codificadas	Niveles codificados				
		-1.68	-1	0	1	1.68
X_1	Potencia (W)	43.18	50	60	70	76.82
X_2	β -caroteno (mg)	115.91	150	200	250	284.09
X_3	Poli-(ϵ -caprolactona) (mg)	165.91	200	250	300	334.09

Una ecuación polinómica de segundo orden fue usada para expresar las variables de respuesta como una función de las variables independientes como sigue:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (3-1)$$

Donde Y_i representa la variable de respuesta, β_0 es el término constante, β_i , β_{ii} y β_{ij} son los términos lineales, cuadráticos e iterativos respectivamente. Se determinaron los coeficientes en la ecuación de superficie de respuesta y se utilizó un análisis de varianza, *andeva* (ANOVA), para evaluar las diferencias significativas entre las variables independientes usando el software estadístico Minitab® versión 17 (Minitab Inc. PA, US).

3.2.2. Optimización del proceso de preparación de nanocápsulas

Se consideró una función de deseabilidad general para determinar las condiciones óptimas en la preparación de las nanocápsulas. Las condiciones óptimas para la preparación de las nanocápsulas se representaron por una combinación de los diferentes niveles de las variables independientes de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$D = (d_1, d_2, \dots, d_k)^{1/k} \quad (3-2)$$

donde d_k es una función de deseabilidad para cada respuesta k , D es una función del tamaño de partícula (Y_1), el índice de polidispersión (Y_2), el potencial zeta (Y_3) y la eficiencia de encapsulación (Y_4).

3.2.3. Preparación de nanocápsulas

Las nanocápsulas fueron preparadas por el método de emulsificación-difusión (Quintanar-Guerrero et al., 1999; Zambrano-Zaragoza et al., 2011) usando homogeneización por ultrasonido como el método para reducir el tamaño de glóbulo de la emulsión. Brevemente, acetato de etilo y agua fueron saturados manualmente hasta alcanzar el equilibrio termodinámico. En la fase acuosa fueron disueltos los estabilizantes (Pluronic® F-127 y octenil succinato de almidón (almidón-OSA; Makymat, México) a una concentración de 30 g/L y en la fase orgánica se disolvió la poli-(ϵ -caprolactona) y el β -caroteno de acuerdo con las concentraciones establecidas en el diseño experimental. Posteriormente, ambas

soluciones fueron emulsificadas con un homogeneizador ultrasónico a 26 kHz de frecuencia (UP200HT; Helshier; Alemania) usando un “sonotrodo” de 14 mm de diámetro y una potencia de homogeneización establecida en el diseño central compuesto. El tiempo de homogeneización fue de 4 min usando un baño de hielo externo para mantener la temperatura de la muestra. Después de obtener la emulsión primaria, fueron añadidos 180 mL de agua para inducir la difusión del disolvente y la agregación del polímero con la formación de las nanopartículas. El proceso difusivo se realizó a las mismas condiciones que la emulsión. Finalmente, el exceso de disolvente fue removido usando un evaporador rotatorio al vacío (HB10; IKA[®] Works, Inc.; EE.UU.) a 30°C y presión reducida (66.6 Pa).

3.2.3. Caracterización de las nanopartículas

3.2.3.1. Tamaño de partícula e índice de polidispersión

El tamaño de partícula y el índice de polidispersión fueron determinados por la técnica de dispersión de luz dinámica usando un Malvern Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd., RU) con un ángulo de detección a 90° y una longitud de onda de 633 nm. Un mililitro de cada dispersión coloidal fue diluido hasta 10 mL con agua destilada para obtener una dispersión diluida. Las mediciones fueron realizadas por triplicado (Galindo-Pérez et al., 2015).

3.2.3.1. Potencial zeta de las nanopartículas

El potencial zeta fue determinado usando un Zetasizer Nano ZS90, basado en el movimiento electroforético de las partículas en dispersión usando como referencia dispersiones de poliestireno ($\zeta = -55$ mV). Este parámetro indica el grado de repulsión entre las partículas adyacentes. Las mediciones fueron realizadas por triplicado (Galindo-Pérez et al., 2015).

3.2.3.2. Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación fue determinada usando el método indirecto que se basa en cuantificar el compuesto activo no encapsulado (Sotelo-Boyás et al., 2017). Brevemente, 2 mL de cada dispersión coloidal fueron centrifugadas a 21420 xg por 60 min para separar las nanocápsulas y el estabilizante eliminando el sobrenadante. Al sedimento obtenido se le adicionó 1 mL de ciclohexano para disolver el β -caroteno no encapsulado, pero no disolver

la barrera polimérica en las nanocápsulas. La concentración de β -caroteno no encapsulado fue determinada usando un espectrofotómetro (Genesys 10S; Thermo Scientific; EE.UU.) a 455 nm ($y = 72.074x - 0.0174$; $R^2=0.994$). Las mediciones fueron realizadas por triplicado y la eficiencia de encapsulación fue determinada usando la siguiente relación:

$$EE = \frac{(mg \text{ de caroteno añadido} - mg \text{ de caroteno no encapsulado})}{mg \text{ de caroteno añadido}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.3.3. Densidad de las nanopartículas

La densidad de los sistemas nanocapsulares ha sido utilizada para confirmar el acoplamiento entre el polímero y el compuesto activo. En este aspecto, la densidad de las nanopartículas de β -caroteno preparadas fue determinada mediante la separación por un gradiente isopícnico usando sílice coloidal (Percoll; Sigma-Aldrich, EE.UU.). Se adicionaron 500 μ L de nanopartículas a 7 mL de una solución de Percoll[®] al 45% (v/v) diluida con 0.15 M de NaCl. El gradiente fue generado por centrifugación a 8560 g por 3 h a 5°C (Optima LE- 80K Ultracentrifuge; Beckman Coulter, EE.UU.) usando un rotor con un ángulo de cabeza de 25° (90Ti).

Para la preparación de los estándares de referencia 30 μ L de cada marcador (DMB-10; Sigma-Aldrich, EE.UU.) fueron añadidos a 7 mL de una solución de Percoll[®] y tratadas a las mismas condiciones que las dispersiones nanométricas. Las bandas de nanopartículas generadas, así como la de los marcadores fueron medidas con un calibrador Vernier desde el menisco hasta la mitad de cada banda flotante. Se construyó una gráfica de densidad dada por cada marcador en función de la distancia para obtener de esta manera la ecuación polinomial y las densidades de las nanopartículas por interpolación (Zambrano-Zaragoza et al., 2011).

3.2.3.1. Verificación del método y versatilidad

Para la verificación del método y la versatilidad, se prepararon nanocápsulas usando dos polímeros diferentes (PCL y etilcelulosa) y cuatro diferentes compuestos encapsulantes (β -caroteno, aceite de limón, aceite de romero y curcumina) bajo las condiciones optimizadas. Las nanocápsulas preparadas fueron evaluadas de acuerdo con su tamaño de partícula, índice de polidispersión, potencial zeta, eficiencia de encapsulación y densidad.

3.2.3.2. Caracterización morfológica de las nanocápsulas

Una gota de nanocápsulas preparadas a las condiciones óptimas fue colocada y esparcida en la superficie de un portamuestras y colocadas en un desecador en refrigeración. Las muestras fueron recubiertas con oro (≈ 2 nm) usando una unidad de deposición de iones de capa fina por pulverización catódica (JFC-1100 *fine coat ion sputter*, JEOL, Japón) y observadas bajo un microscopio electrónico de barrido (JSM 5600 LV-SEM[®] LV, JEOL, Japón) con una resolución de 5 nm, 28 kV en el haz de electrones y una presión de 12-20 Pa en la cámara.

3.3. Determinación de la estabilidad de las nanocápsulas

La estabilidad física de las nanodispersiones preparadas con aceites esenciales y curcumina fue analizada usando un equipo “*Turbiscan Classic*” (Francia). 5 mL de cada dispersión se colocaron en una celda cilíndrica de vidrio asegurándose que la muestra no contuviera burbujas de aire. Con el detector de transmisión se obtuvo la luz que fue transmitida a través de la muestra, mientras que el detector de retrodispersión recibió la luz dispersada de la muestra a 30°.

La longitud de detección fue de 55 mm, adquiriéndose las mediciones de transmisión y retrodispersión en intervalos de 40 μ m a lo largo de la muestra. Las mediciones se realizaron durante 665 h, que corresponden a 27.71 días. Las mediciones se efectuaron a las 0, 148, 144, 193, 216, 482, 533 y 665 h. Con los datos de retrodispersión se obtuvo el llamado índice de estabilidad por *Turbiscan* (*TSI*, *Turbiscan Stability Index*), mediante la siguiente ecuación:

$$TSI = \sum_i \frac{\sum_h |scan_i(h) - scan_{i-1}(h)|}{H} \quad (3-4)$$

donde: $scan_i(h)$ es el promedio de la retrodispersión para cada tiempo (i) de la medición, $scan_{i-1}(h)$ es el promedio de la retrodispersión para el tiempo $i-1$ de la medición, H es la altura de la muestra (Xu et al., 2016).

3.4. Aplicación de las nanocápsulas sobre papaya fresca cortada

3.4.1. Pruebas de aceptabilidad sensorial

Se realizaron pruebas de aceptabilidad de la papaya recubierta con las nanodispersiones con un grupo de 10 panelistas no entrenados de acuerdo a una escala hedónica para conocer el grado de gusto o disgusto de la papaya con los diferentes sistemas nanocapsulares conteniendo aceites esenciales. En este aspecto se utilizaron 5 niveles mediante pictogramas diferentes: me desagrada (2), me desagrada poco (4), ni me gusta ni me desagrada (6), me gusta (8) y me gusta mucho (10), respectivamente. De esta forma se determinó el nivel de gusto o disgusto de la papaya fresca cortada con los diferentes recubrimientos. La prueba se realizó una hora después de haber sido recubiertos los trozos de papaya sin refrigeración.

3.4.2. Aplicación de los recubrimientos en papaya fresca cortada

Las papayas seleccionadas fueron lavadas y sanitizadas en una solución de detergente yodado para frutas (2 g/L). Posteriormente fueron peladas y cortadas en cubos de aproximadamente 1 cm de lado e inmersos en una solución de CaCl_2 (10 g/L), para después escurrirse y ser tratadas con las diferentes dispersiones por inmersión. Los tratamientos evaluados fueron: nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/PCL, nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa. Además, se consideraron los tratamientos control que fue papaya únicamente tratada con CaCl_2 y el blanco que consistió en papaya fresca cortada sin ningún tipo de tratamiento. La papaya cortada y tratada fue envasada en vasos de polipropileno cristalino (alrededor de 100 g de papaya por vaso) con tapa y almacenada en refrigeración a 4°C por 17 días.

3.4.3. Pruebas físicas sobre la papaya fresca cortada, tratada y refrigerada

3.4.3.1. Consumo de O_2 y producción de CO_2

La velocidad de respiración fue determinada mediante el método estático reportado por Wang et al., (2009) e Iqbal et al. (2008) en la papaya tratada y almacenada. Las mediciones de CO_2 fueron determinadas mediante la medición en la parte superior del contenedor (*head space*) usando una aguja insertada a través de la tapa del contenedor usando un analizador de O_2/CO_2 (Quantek Instruments model 905, EE.UU.) para obtener la fracción volumétrica de CO_2 y O_2 dentro del contenedor. La producción de CO_2 fue calculada por la diferencia en

concentraciones de CO₂ a los diferentes intervalos de tiempo. Las mediciones fueron realizadas durante un periodo de almacenamiento, por triplicado y expresadas como sigue para el CO₂:

$$RCO_2 = \frac{(yCO_2 - y_iCO_2)}{(t - t_i)} * \frac{V_f}{W} \quad (3.5)$$

donde y_iCO_2 es la concentración inicial en la mezcla (fracción volumétrica), yCO_2 es la concentración de CO₂ a cualquier otro tiempo, t es cualquier cantidad de tiempo diferente de cero ($t_i=0$) expresado en horas, RCO_2 es la velocidad de producción de CO₂, W es la masa del producto (kg) y V_f es el volumen (mL) dentro del contenedor. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado para cada tratamiento y expresadas como sigue para el O₂.

$$RO_2 = \frac{(yO_2 - y_iO_2)}{(t - t_i)} * \frac{V_f}{W} \quad (3.6)$$

donde y_iO_2 es la concentración inicial en la mezcla (fracción volumétrica), yO_2 es la concentración de O₂ a cualquier otro tiempo, t es cualquier cantidad de tiempo diferente de cero ($t_i=0$) expresado en horas, RO_2 es la velocidad de producción de O₂, W es la masa del producto (kg) y V_f es el volumen (mL) dentro del contenedor. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado para cada tratamiento.

3.4.3.2. Determinación del color

La coloración de la papaya con y sin tratamiento fue determinada mediante la obtención de los valores de L*, a* y b*, utilizando un colorímetro Minolta CM-600 con calibración de L*= 57.79, a*=-1.09, b*=7.57. Se obtuvieron las mediciones de color sobre la superficie cortada y tratada de la papaya fresca cortada (en cualquier cara del cubo) por triplicado durante el tiempo de almacenamiento.

3.4.3.3. Determinación de la firmeza en la papaya fresca cortada

La firmeza de la papaya almacenada se realizó con un texturómetro (CT3 Texture Analyzer, Brookfield AMETEK, Massachusetts, EE.UU.). La papaya cortada fue penetrada usando un dispositivo cilíndrico de fondo plano de acero inoxidable con un diámetro de 4 mm, a una

velocidad de 1 mm/s y una profundidad meta de 5 mm. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.4.4. Pruebas bioquímicas en la papaya fresca cortada tratada con las diferentes nanocápsulas

3.4.4.1. Evolución de la actividad polifenoloxidasa (PFO)

La extracción de la enzima polifenoloxidasa (PFO) fue realizada de acuerdo con la metodología descrita por Galindo-Pérez et al. (2015). Se tomaron 20 g de tejido de papaya fresca cortada y fueron homogeneizados con 20 mL de una solución amortiguadora de fosfatos (0.2 M; pH= 7.0). El homogeneizado fue agitado por 10 minutos y centrifugado a 7277 *xg* por 20 minutos. El sobrenadante consistió en el extracto enzimático para medir la actividad polifenoloxidasa. Para la determinación de la actividad de la PFO se siguió la metodología de cuantificación descrita por Galindo-Pérez et al. (2015) con algunas modificaciones. Brevemente, en una celda espectrofotométrica se añadieron 2.8 mL de una solución amortiguadora citrato-fosfato (0.2 M; pH=6.5) conteniendo catecol (50 mM), la solución fue ligeramente agitada y se midió el incremento de la absorbancia a 420 nm. Una unidad de actividad polifenoloxidasa fue descrita como el cambio en la absorbancia en 0.001 Abs/min. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.4.4.2. Medición de la actividad de la pectinmetilesterasa (PME)

La extracción de las enzimas PME de la papaya fue realizada siguiendo el protocolo descrito por Zambrano-Zaragoza et al. (2014). Brevemente, se tomaron 20 g de papaya que fueron homogeneizados con una solución de NaCl (2 M).

El homogeneizado fue agitado durante 10 minutos, posteriormente se centrifugó a 7277 *xg* durante 20 minutos obteniéndose de esta manera el sobrenadante que contenía el extracto enzimático.

Para la determinación de la actividad de la pectinmetilesterasa se siguió el protocolo descrito por Hagerman y Austin (1986). Brevemente, en una celda espectrofotométrica se adicionaron 1 mL de pectina cítrica (10 g/L), 580 mL de agua, 200 μ L de azul de bromotimol (0.1 g/L) y NaCl (0.2 M). La adición de 200 μ L de extracto enzimático dio inicio a la reacción donde se

determinó la disminución de la absorbancia a 640 nm durante 3 minutos. La cantidad de μ moles de ácido liberados por acción de la pectinmetilesterasa fueron obtenidos a partir de una curva patrón de ácido galacturónico siguiendo el tratamiento realizado por Hagerman y Austin (1986).

3.4.4.3. Determinación de proteína

La determinación analítica de la proteína en los extractos enzimáticos se realizó mediante la técnica propuesta por Bradford (1976). Para este propósito se tomaron 100 μ L de extracto enzimático, añadiendo 5 mL de reactivo Bradford, la mezcla se agitó ligeramente y se mantuvo en oscuridad durante 10 minutos, midiendo la absorbancia a 595 nm utilizando una curva patrón de albúmina de suero bovino, medida a las mismas condiciones.

3.4.5. Evaluación de compuestos químicos en la papaya fresca cortada con los diferentes sistemas nanocapsulares

3.4.5.1. Medición de fenoles totales

La extracción de fenoles totales fue realizada de acuerdo con la técnica reportada por Waterhouse (2002). Se tomaron 20 g de papaya fresca cortada y homogeneizados con 20 mL de una mezcla metanol-agua (95%), la solución resultante fue centrifugada a 7277 $\times g$ durante 20 min. El sobrenadante contenía la mezcla fenólica. La cuantificación de fenoles totales fue realizada mediante el método de Folin-Ciocalteu. Brevemente, 20 μ L de extracto fenólico se mezclaron con 1.8 mL de agua y 100 μ L de reactivo de Folin. La mezcla fue suavemente agitada, después de 5 minutos, se añadieron 300 μ L de carbonato de sodio. La solución resultante fue colocada en la oscuridad durante 1 h. El contenido de fenoles fue determinado espectrofotométricamente a 765 nm con una curva patrón de ácido gálico previamente preparada ($y = 0.0009x + 0.0153$; $R^2=0.996$). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

3.4.5.2. Determinación de carotenoides totales

La cuantificación de los carotenos en la papaya fue realizada mediante espectrofotometría UV-Vis a 455 nm usando como estándar β -caroteno ($y = 72.074x - 0.0174$; $R^2=0.994$). Para la extracción de carotenoides totales se siguió el procedimiento propuesto por Biehler et al.

(2010) con algunas modificaciones. Brevemente, se mezcló 1 g de papaya previamente molida con 5 mL de acetona. La mezcla se agitó durante 10 minutos. Posteriormente, se adicionaron a la mezcla 5 mL de hexano y la mezcla se agitó por otros 10 min utilizando contenedores cerrados. Finalmente, la mezcla se centrifugó a $7277 \times g$ por 20 min, obteniendo con ello el sobrenadante que consistió en la fracción de carotenos. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

3.5. Análisis estadístico

Para comparar el efecto de los recubrimientos en la conservación de la papaya se realizó un análisis de varianza entre tratamientos, mientras que la significancia fue establecida con un análisis de medias aplicando una prueba de Tukey de comparaciones múltiples. Para conocer el efecto de cualquier tratamiento sobre el sistema blanco se utilizó un análisis de medias de Dunnett (Chien et al., 2007).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Optimización para la obtención de nanopartículas usando homogeneización con ultrasonido y el método de emulsificación-difusión

4.1.1. Ajuste del modelo obtenido y análisis estadísticos

Para establecer las condiciones óptimas en la preparación de nanocápsulas usando el método de emulsificación-difusión y homogeneización por ultrasonido, se realizó un estudio de superficie de respuesta donde las variables independientes fueron la potencia del dispositivo ultrasónico, la cantidad de β -caroteno y la cantidad de poli-(ϵ -caprolactona) (Tabla 6 del capítulo anterior).

En la Tabla 7 se presentan los 20 lotes de nanopartículas preparados en función de las variables independientes a los diferentes niveles de variación dados por el diseño central compuesto y los resultados cuantitativos de las variables dependientes medidos como el tamaño de partícula, el índice de polidispersión, el potencial zeta, la eficiencia de encapsulación y la densidad.

Se realizó un análisis de varianza para determinar la significancia de las variables independientes y sus interacciones sobre cada una de las variables de respuesta, obteniéndose de esta manera los coeficientes de regresión y el nivel de significancia dado por el *valor-p* donde se establece que las variables independientes son significativas sobre las variables dependientes cuando el *valor-p* es menor a 0.05 (Myers et al., 2009).

Además, se obtuvieron los coeficientes de determinación R^2 para el tamaño de partícula, índice de polidispersión, el potencial zeta, la eficiencia de encapsulación y la densidad de 81.34, 90.98, 89.73, 77.01 y 85.86, respectivamente.

Esto indica un ajuste aceptable en el comportamiento de los datos. En la Tabla 8 se presentan los resultados del análisis de varianza para determinar la significancia de las variables independientes de cada una de las variables de respuesta analizadas.

Tabla 7: Características y eficiencia de encapsulación de las nanocápsulas preparadas a diferentes condiciones de acuerdo con el diseño central compuesto

Orden	Potencia (W)	β -caroteno (mg)	PCL (mg)	Relación PCL/ β -caroteno	TP (nm)	IPD	ζ (mV)	EE (%)	Densidad (g/cm ³)
10	50	150	200	1.333	313.01 \pm 15.34	0.061 \pm 0.005	-23.84 \pm 1.59	67.06 \pm 3.12	1.028 \pm 0.002
15	70	150	200	1.333	316.73 \pm 14.29	0.105 \pm 0.003	-23.93 \pm 0.52	66.40 \pm 4.10	1.023 \pm 0.002
8	50	250	200	0.8	282.8 \pm 11.19	0.085 \pm 0.005	-22.57 \pm 1.20	69.84 \pm 7.52	1.030 \pm 0.003
5	70	250	200	0.8	334.89 \pm 9.22	0.156 \pm 0.009	-21.43 \pm 0.10	74.17 \pm 1.85	1.012 \pm 0.010
14	50	150	300	2	265.19 \pm 10.36	0.135 \pm 0.006	-23.90 \pm 0.24	53.55 \pm 3.57	1.029 \pm 0.001
16	70	150	300	2	229.68 \pm 23.91	0.101 \pm 0.006	-23.23 \pm 0.76	52.13 \pm 0.89	1.037 \pm 0.013
4	50	250	300	1.2	297.87 \pm 13.66	0.063 \pm 0.002	-24.04 \pm 0.52	73.62 \pm 1.23	1.020 \pm 0.001
12	70	250	300	1.2	289.70 \pm 20.04	0.076 \pm 0.002	-21.65 \pm 0.36	66.13 \pm 2.13	1.019 \pm 0.001
1	43.18	200	250	1.25	373.64 \pm 8.87	0.089 \pm 0.002	-25.10 \pm 0.10	69.16 \pm 1.82	1.017 \pm 0.004
17	76.82	200	250	1.25	334.52 \pm 18.44	0.105 \pm 0.002	-24.44 \pm 0.83	49.64 \pm 3.70	1.022 \pm 0.007
20	60	115.91	250	2.157	245.13 \pm 13.36	0.099 \pm 0.003	-23.53 \pm 1.47	87.30 \pm 4.26	1.032 \pm 0.02
7	60	284.09	250	0.88	261.51 \pm 7.12	0.075 \pm 0.002	-21.70 \pm 1.67	85.29 \pm 3.48	1.012 \pm 0.001
2	60	200	165.91	0.83	297.12 \pm 5.89	0.090 \pm 0.001	-21.50 \pm 0.57	92.86 \pm 5.16	1.002 \pm 0.002
9	60	200	334.09	1.67	260.11 \pm 9.41	0.049 \pm 0.001	-21.89 \pm 0.72	80.20 \pm 2.28	1.033 \pm 0.006
6	60	200	250	1.25	298.36 \pm 26.31	0.151 \pm 0.003	-18.45 \pm 0.53	91.91 \pm 1.38	1.021 \pm 0.001
18	60	200	250	1.25	278.62 \pm 8.50	0.103 \pm 0.003	-18.17 \pm 0.40	75.51 \pm 2.03	1.026 \pm 0.004
3	60	200	250	1.25	386.62 \pm 15.38	0.040 \pm 0.002	-17.92 \pm 0.52	70.26 \pm 3.90	1.019 \pm 0.002
19	60	200	250	1.25	304.24 \pm 11.07	0.098 \pm 0.002	-15.96 \pm 0.34	64.25 \pm 1.19	1.023 \pm 0.002
11	60	200	250	1.25	306 \pm 14.38	0.180 \pm 0.001	-16.07 \pm 0.34	64.59 \pm 3.46	1.021 \pm 0.003
13	60	200	250	1.25	296.11 \pm 16.43	0.068 \pm 0.002	-18.45 \pm 0.30	64.73 \pm 2.29	1.023 \pm 0.002

PCL: poli-(ϵ -caprolactona); TP; tamaño de partícula; IPD: índice de polidispersión; ζ : potencial zeta; EE: eficiencia de encapsulación

Tabla 8: Análisis de varianza y coeficientes de determinación de las variables dependientes estudiadas como función de las variables independientes

Término	Tamaño de partícula		Índice de polidispersión		Potencial zeta		Eficiencia de encapsulación		Densidad	
	Coef	valor-p	Coef	valor-p	Coef	valor-p	Coef	valor-p	Coef	valor-p
Constante	291.23 ^a	0.000	0.548 ^a	0.000	-17.515 ^a	0.000	64.39 ^a	0.000	1.023 ^a	0.000
Potencia	3.47 ^{ns}	0.729	-0.019 ^a	0.000	0.769 ^a	0.007	-6.14 ^a	0.000	-9.98x10 ^{-4ns}	0.116
Caroteno	17.13 ^{ns}	0.092	0.057 ^a	0.000	1.026 ^a	0.000	9.20 ^a	0.000	-0.006 ^a	0.000
PCL	-151.92 ^a	0.000	-0.072 ^a	0.000	0.051 ^{ns}	0.851	1.44 ^{ns}	0.236	0.004 ^a	0.000
Potencia*Potencia	49.90 ^a	0.004	0.041 ^a	0.000	-7.027 ^a	0.000	-11.93 ^a	0.000	-0.003 ^a	0.008
Caroteno*Caroteno	-43.80 ^a	0.010	0.003 ^{ns}	0.693	-5.544 ^a	0.000	6.73 ^a	0.001	0.004 ^a	0.002
PCL*PCL	-139.90 ^a	0.000	0.024 ^a	0.002	-3.999 ^a	0.000	3.88 ^{ns}	0.054	0.005 ^a	0.000
Potencia*Caroteno	-83.50 ^a	0.000	-0.026 ^a	0.011	0.242 ^{ns}	0.688	6.13 ^a	0.024	-0.008 ^a	0.000
Potencia*PCL	-27.00 ^{ns}	0.224	0.018 ^{ns}	0.070	-0.088 ^{ns}	0.883	-11.15 ^a	0.000	0.010 ^a	0.000
Caroteno*PCL	20.50 ^{ns}	0.355	-0.032 ^a	0.002	-1.208 ^a	0.049	-0.13 ^{ns}	0.962	-0.007 ^a	0.000
R²	87.31		90.98		89.73		77.01		85.86	

^{ns} término no significativo (p > 0.05); ^a término significativo (p < 0.05).

4.1.2. Condiciones óptimas para obtener las nanocápsulas

La determinación de las condiciones óptimas para preparar las nanocápsulas fue realizada usando un análisis de deseabilidad (Tengse et al., 2017). Con esta aproximación se consideró los siguientes parámetros para optimizar el proceso, introduciendo la mayor cantidad de β -caroteno dentro de las nanocápsulas; el mínimo tamaño de partícula para crear sistemas nanométricos, el mínimo índice de polidispersión donde los tamaños de partícula fueran estrechas con tendencia al tamaño de partícula medio, un valor mínimo absoluto de potencial zeta para obtener partículas estables. Las funciones de deseabilidad para las variables independientes y la deseabilidad general en las condiciones óptimas de fabricación de las nanocápsulas se muestran en la Tabla 9 (Ver diagrama de donde proviene en el Anexo II).

Tabla 9: Funciones de deseabilidad de las variables independientes bajo las condiciones óptimas

Variable independiente	Función de deseabilidad
Eficiencia de encapsulación	0.864
Tamaño de partícula	0.883
Índice de polidispersión	0.884
Potencial zeta	1.000
Deseabilidad general	0.906

Las condiciones óptimas obtenidas fueron las siguientes: 54.73 W de potencia en el dispositivo ultrasónico, 284.16 mg de β -caroteno y 166 mg de PCL. A estas condiciones fue posible obtener valores para el tamaño de partícula, índice de polidispersidad, potencial zeta y eficiencia de encapsulación de 228 nm, 0.054, -25.42 mV y 78.23%, respectivamente, con una excelente deseabilidad general ($D=0.906$). Por tanto, en esta parte se puede concluir que con el método de emulsificación difusión usando ultrasonido es una excelente herramienta para preparar sistemas coloidales con tamaño nanométrico, logrando una buena incorporación de compuestos activos.

4.1.3. Tamaño de partícula

Los valores de los diámetros medidos de las nanopartículas obtenidos mediante la técnica de dispersión de luz dinámica, donde se muestra que los tamaños se encuentran dentro de la escala nanométrica (Tabla 7) de 230 a 374 nm. Se ha reportado que los tamaños de partícula obtenidos mediante el procedimiento de emulsificación-difusión se encuentran entre los 200 a 500 nm dependiendo de diferentes factores como son el tipo y concentración de polímero, el tipo y concentración de estabilizante y el tipo y concentración del componente activo encapsulado (Mora-Huertas et al., 2011; Quintanar-Guerrero et al., 1998a; Zambrano-Zaragoza et al., 2011). En la Figura 10 se presenta el gráfico de superficie de respuesta de la variable de respuesta, tamaño de partícula, en función de la potencia ultrasónica y las relaciones PCL/ β -caroteno en la formulación de las nanocápsulas.

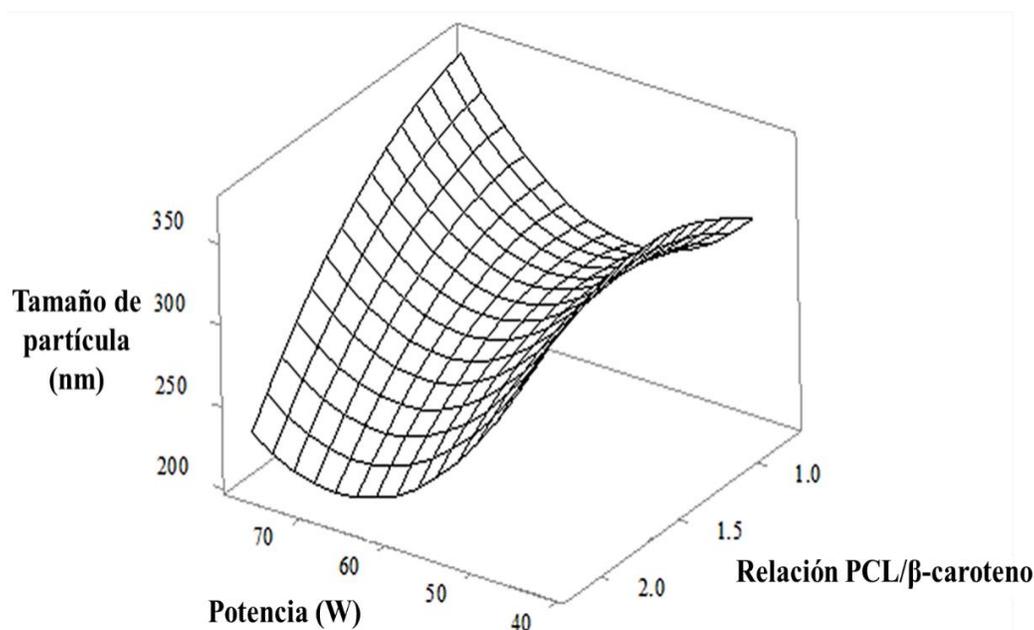


Figura 10: Gráfica de superficie de respuesta del tamaño de partícula de las nanocápsulas en función de la potencia ultrasónica y la relación PCL/ β -caroteno

El tamaño de partícula disminuye a medida que incrementa la relación PCL/ β -caroteno lo que indica que la talla de las nanocápsulas está influenciada por el aumento de la cantidad de β -caroteno utilizado en la preparación. A las condiciones cercanas al punto central (60 W de potencia, 200 mg de β -caroteno y 250 mg de PCL), los tamaños de partícula obtenidos se

encontraron en el intervalo entre 270 y 300 nm, mientras que a potencias de homogeneización entre 55 y 75 W con relaciones PCL/ β -caroteno mayores a 1.75 se obtienen nanocápsulas con tamaños de partícula menores a 270 nm.

El menor tamaño de partícula fue de 211.64 nm, usando la Figura 10. Las condiciones fueron de 67.07 W de potencia y una relación PCL/ β -caroteno de 2.16. El aumento del tamaño de partícula cuando se incrementa la cantidad de β -caroteno es debido al aumento de la viscosidad de la fase orgánica, provocando una menor talla de partícula en la emulsión y dificultando también el proceso difusivo cuando se adiciona el exceso de agua en el método de emulsificación-difusión (Raso et al., 1999).

Resultados similares con respecto a este comportamiento fueron publicados por Esmaeili y Ebrahimzadeh (2015), para la preparación de nanocápsulas de *Aloe vera* con poliamida como polímero barrera, usando la metodología de emulsión-difusión, indicando que a medida que se incrementa la relación poliamida/*Aloe vera* el tamaño de partícula se reduce.

Así mismo, Moinard-Chécot et al. (2008) demostraron que el tamaño de partícula es afectado por la concentración de aceite adicionado a la fase orgánica durante la preparación de nanocápsulas de Miglyol 812 usando PCL como polímero barrera y el proceso de emulsificación-difusión.

En las condiciones de potencia dentro de los puntos axiales se presentó un incremento en el tamaño de las partículas que es atribuido a disminución del proceso de emulsificación que se correlaciona con la obtención una menor eficiencia de encapsulación.

Con análisis de varianza se demostró que tanto la cantidad de PCL y el β -caroteno fueron los factores determinantes sobre tamaño de partícula, donde el factor independiente potencia no tuvo influencia en este parámetro ($p \geq 0.05$). Sin embargo, con un tiempo de homogeneización de 4 min se logró la formación de sistemas coloidales de talla nanométrica. La ecuación de segundo orden para el tamaño de partícula está dada por:

$$TP = 291.23 - 151.92(PCL) + 49.90(Potencia * Potencia) - 43.80(Caroteno * Caroteno) - 139(PCL * PCL) - 83.50(Potencia * Caroteno)$$

4.1.4. Índice de polidispersión

El índice de polidispersión es una medida de la distribución de los tamaños de partícula en un sistema coloidal. Los valores entre 0.1 y 0.3 indican una distribución de tamaños estrecha, mientras que valores por arriba de 0.5 reflejan una amplia variación en los tamaños.

Las nanopartículas conteniendo β -caroteno en este estudio, presentaron valores de índice de polidispersión entre 0.061-0.180 (Tabla 7). Zambrano-Zaragoza et al. (2011) prepararon nanocápsulas con diferentes aceites alimenticios, encontrando valores de índices de polidispersión entre 0.03 y 0.15 después de 10 minutos de homogeneización usando un sistema rotor y “estator”. En la Figura 11 se presenta la gráfica de superficie de respuesta del comportamiento del índice de polidispersión obtenido de las nanocápsulas conteniendo β -caroteno en función a la potencia ultrasónica y la relación PCL/ β -caroteno.

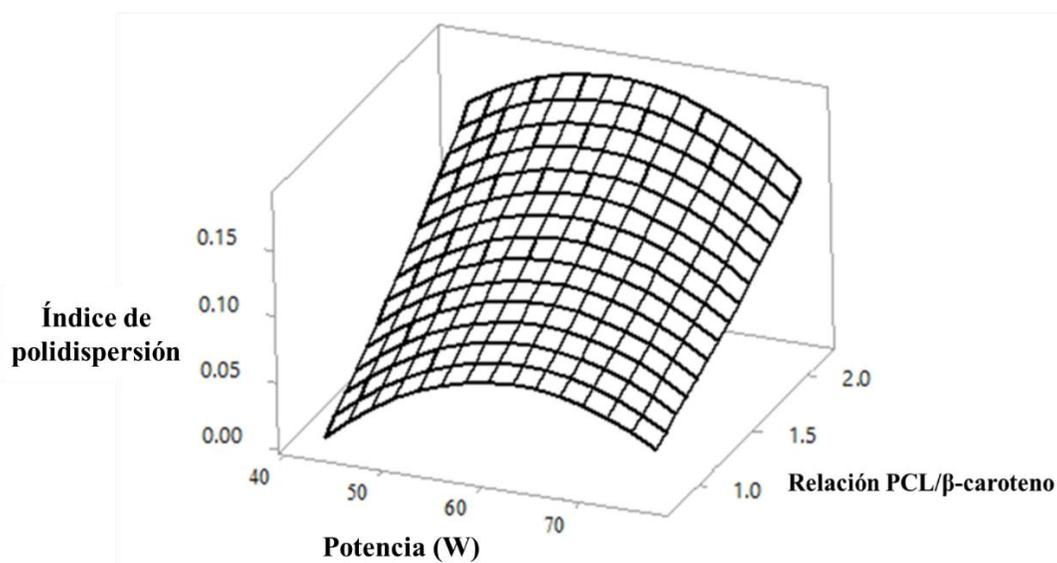


Figura 11: Gráfica de superficie de respuesta para el índice de polidispersión de las nanocápsulas de a las diferentes condiciones de potencia y relaciones PCL/ β -caroteno

El análisis de varianza presentado en la Tabla 8 muestra que únicamente el término cuadrático del β -caroteno y la interacción potencia-PCL no fueron significativas. Por tanto, un incremento en la cantidad de compuesto activo en la formulación incrementa de manera significativa el índice de polidispersidad. Este comportamiento es debido a que el β -caroteno tiene un efecto plastificante en la PCL (De Paz et al., 2013) que produce una mayor

flexibilidad en la barrera polimérica durante el proceso difusivo, generando sistemas con los mayores índices de polidispersión. Por tanto, la ecuación de segundo orden que explica el comportamiento de la Figura 11 es la siguiente:

$$\begin{aligned} IPD = & 0.548 - 0.019(Potencia) + 0.057(Caroteno) - 0.072(PCL) \\ & + 0.041(Potencia * Potencia) + 0.024(PCL * PCL) \\ & - 0.026(Potencia * Caroteno) - 0.032(Caroteno * PCL) \end{aligned}$$

A altas relaciones PCL/ β -caroteno se utilizaron las mayores cantidades de PCL, lo que condujo a una alta concentración de PCL en la región de supersaturación produciendo un incremento en el índice de polidispersión, obteniéndose con ello los menores valores en la función de deseabilidad ($d = 0.161$). A las condiciones óptimas para la preparación de las nanocápsulas se logró un buen valor en la función de deseabilidad ($d = 0.884$), con tamaños de partícula de 228 nm. Los menores valores de índice de polidispersidad fueron encontrados a las condiciones de 76.81 W y una relación PCL/ β -caroteno de 0.8 con una función de deseabilidad de 1.0. Sin embargo, bajo las condiciones óptimas el índice de polidispersidad fue de 0.054 con un buen valor en la función de deseabilidad ($d=0.884$) y un tamaño de partícula de 227.84 nm.

4.1.5. Potencial zeta

El potencial zeta es un valor cuantitativo del potencial generado en la doble capa difusa de las nanopartículas siendo de especial interés para la valoración de un sistema estable o inestable, ya que valores absolutos alejados de cero indican una mayor estabilidad de las partículas en dispersión debido a su repulsión electrostática, siendo dependiente de la naturaleza química y las cantidades del polímero y los estabilizantes (Mora-Huertas et al., 2010). En la Figura 12 se presentan el gráfico de superficie de los potenciales zeta determinados en los lotes de nanopartículas generados en el diseño central compuesto en función de la potencia y la relación PCL/ β -caroteno.

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., 2011).

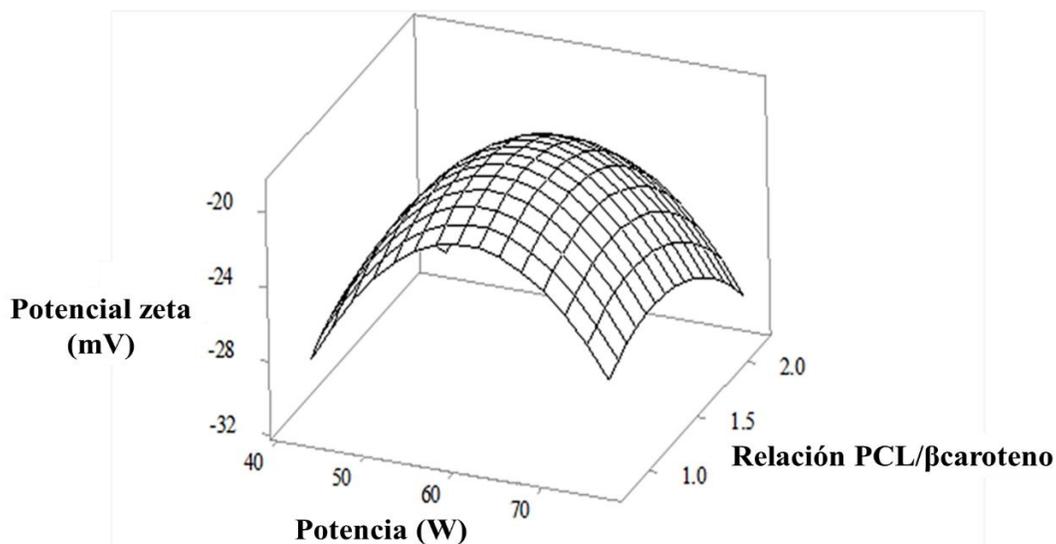


Figura 12: Gráfica de superficie de respuesta del potencial zeta obtenido para las nanocápsulas preparadas a diferentes condiciones de potencia y relación PCL/ β -caroteno

El comportamiento de los lotes preparados muestra un punto de inflexión dado por un máximo alrededor del punto central obteniéndose valores mayores a -20 mV, donde las nanopartículas tienen alta eficiencia de encapsulación (>70%).

Los valores mínimos de potencial zeta fueron encontrados a una potencia de 43.18 W y una relación de PCL/ β -caroteno de 2.15 con un valor en la función de deseabilidad de 1.0. En contraste, el máximo valor de potencial zeta (-18.92 mV) fue obtenido bajo las condiciones de 60.84 W y una relación PCL/ β -caroteno de 1.29, con una función de deseabilidad calculada de 0.658.

A niveles de potencia inferiores o superiores del punto central el potencial zeta de las nanopartículas se reduce hasta alcanzar valores por debajo de -29 mV a las potencias de los puntos axiales. Este comportamiento puede correlacionarse con las bajas eficiencias de encapsulación, ya que a menor cantidad de β -caroteno encapsulado hay una menor interacción activo-polímero por su afinidad hidrófoba (De Paz et al., 2013), por lo que incrementa la exposición de grupos carboxilos terminales en la molécula del PCL disminuyendo el potencial superficial de las nanopartículas.

Bajo las condiciones óptimas se obtuvo un valor de potencial zeta de -25.41 mV con una función de deseabilidad igual a 1.0. Indicando que las nanopartículas preparadas fueron eléctricamente estables. El análisis de varianza (Tabla 8) mostró que el término independiente correspondiente a la cantidad de β -caroteno y las interacciones potencia- β -caroteno y potencia-PCL no tiene influencia significativa en el potencial zeta. La potencia y la cantidad de PCL son los factores más importantes que afectan este parámetro. La ecuación de segundo orden que explica el comportamiento de la eficiencia de encapsulación queda como sigue:

$$\zeta = -17.515 + 0.769(Potencia) + 1.026(Caroteno) - 7.027(Potencia * Potencia) - 5.544(Caroteno * Caroteno) - 3.999(PCL * PCL) - 1.208(Caroteno * PCL)$$

4.1.6. Eficiencia de encapsulación

Un parámetro importante para describir la efectividad de los métodos de preparación de nanocápsulas es la determinación de la eficiencia de encapsulación, con la finalidad de tener la mayor cantidad de compuesto encapsulado que, para esta investigación debe tener una funcionalidad para la conservación de alimentos.

Este parámetro describe la cantidad de componente activo incluido en las nanocápsulas en función de la cantidad inicial adicionada (Zhong et al., 2015). Las eficiencias de encapsulación obtenidas por el método de emulsificación-difusión generalmente son mayor al 70% a las mejores condiciones de fabricación (Mora-Huertas et al., 2010; Quintanar-Guerrero et al., 1998a).

En la Figura 13 se presenta la gráfica de superficie de respuesta del comportamiento de la eficiencia de encapsulación en función de la potencia (W) y la relación PCL/ β -caroteno en la formación de las nanocápsulas.

La máxima eficiencia de encapsulación calculada (85%) fue obtenida a las condiciones de 58.25 W de potencia y una relación PCL/ β -caroteno de 0.80 con una deseabilidad de $d=1.0$. Sí bien, a estas condiciones se obtiene la máxima eficiencia de encapsulación, no son las condiciones óptimas de preparación debido a que no se tomaron en cuenta las otras variables de respuesta.

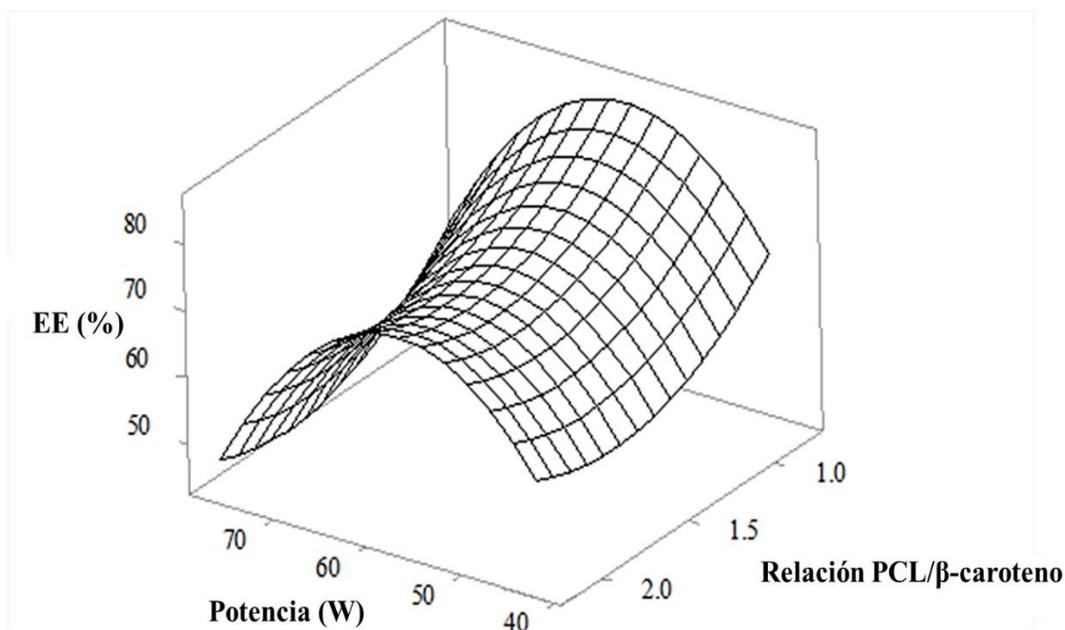


Figura 13: Gráfica de superficie de respuesta de la eficiencia de encapsulación de las nanocápsulas preparadas en función de la potencia ultrasónica y la relación PCL/ β -caroteno

Además, se observó que la eficiencia de encapsulación disminuye a medida que incrementa la relación PCL/ β -caroteno a todas las condiciones de potencia utilizadas. Esto indica que al incrementar la concentración de PCL disminuye la eficiencia de encapsulación. Por ejemplo, se obtuvo una eficiencia de encapsulación de 84.95% cuando se utiliza una relación PCL/aceite de 0.80 y una potencia de homogeneización de 60 W, produciendo una función de deseabilidad de 0.75.

Mientras que a una relación PCL/ β -caroteno de 2.15 con 60 W de potencia ultrasónica, la eficiencia de encapsulación se redujo hasta 73.8% con una función de deseabilidad de 0.50, lo que indica que al incrementar la cantidad de polímero se disminuye la eficiencia de encapsulación. Este comportamiento es atribuido a la afinidad entre el β -caroteno y el PCL que evita la incorporación del activo dentro de la emulsión primaria, sin la integración del β -caroteno dentro de los glóbulos de la emulsión.

Un comportamiento similar fue observado por Park et al. (2013) para la formación de nanocápsulas conteniendo ciclosporina y ácido poliláctico (PLA) por el método de emulsificación-difusión con homogeneización por ultrasonido, donde la eficiencia de

encapsulación disminuyó desde 91.7 a 72.4% cuando se incrementó la relación polímero/aceite del 0.2 hasta 0.8, respectivamente. Bhavna et al. (2014) reportaron un ligero decremento en la eficiencia de encapsulación desde 88.5 hasta 80.48% a cantidades de polilactato-co-glicólico 1:1 y 1:10, respectivamente, en la formación de nanocápsulas de donepezil.

Por otra parte, la potencia de homogeneización mostró una curvatura dada por un máximo alrededor del punto central (60 W) donde las más bajas eficiencias de encapsulación se encontraron a las condiciones de los puntos axiales del diseño. A la menor potencia de homogeneización (43.18 W) no se logró la incorporación del β -caroteno dentro de los glóbulos de la emulsión por la baja energía depositada al sistema. En cambio, a la mayor potencia utilizada (76.82 W) el poder de emulsificación desciende. Los valores de las funciones de deseabilidad fueron menores a 0.411 en los puntos axiales.

Esto es debido a diferentes factores como el incremento de la temperatura del sistema que disminuye el poder de cavitación o por la formación de burbujas de gran tamaño que provocan un efecto amortiguador de las ondas acústicas, reduciendo con ello la cavitación de las burbujas (Raso et al., 1999). Así mismo, generan una menor incorporación del caroteno en la emulsión, que produce la disminución de la eficiencia de encapsulación en ambos puntos axiales. El análisis estadístico de varianza demostró que, tanto la potencia y cantidad de β -caroteno, tienen la mayor influencia ($p < 0.05$) sobre la eficiencia de encapsulación (Tabla 8). Entonces, a ecuación cuadrática de predicción queda de la siguiente manera:

$$EE = 64.39 - 6.14(Potencia) + 9.20(Caroteno) - 11.93(Potencia * Potencia) \\ + 6.73(Caroteno * Caroteno) + 6.13(Potencia * Caroteno) \\ - 11.15(Potencia * PCL)$$

4.1.7. Densidad

La densidad de las nanocápsulas fue evaluada como medida para determinar si las nanopartículas generadas son estructuras vesiculares donde el compuesto activo está integrado dentro de la cavidad capsular (Zambrano-Zaragoza et al., 2011). Las densidades tuvieron valores entre 1.002 y 1.037 g/cm³. Estos resultados sugieren la formación de estructuras capsulares con un buen acoplamiento entre el β -caroteno y la barrera polimérica.

Quintanar-Guerrero et al. (1998a) encontraron valores de densidad entre 1.018 a 1.084 g/cm³ para nanocápsulas con Myglioil y ácido poliláctico a diferentes concentraciones. Mientras que las nanocápsulas de diferentes aceites alimenticios preparadas por Zambrano-Zaragoza et al (2011) tuvieron densidades 1.017 y 1.022 g/cm³. El análisis de varianza presentado en la Tabla 8 mostró que la potencia ultrasónica no tiene influencia en la densidad de las nanocápsulas y las cantidades de PCL y β-caroteno son los factores más importantes que afectan este parámetro. Por tanto, la función cuadrática que expresa el comportamiento de la densidad está dada de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \text{Densidad} = & 1.023 - 0.006(\text{Caroteno}) + 0.004(\text{PCL}) - 0.003(\text{Potencia} * \text{Potencia}) \\ & + 0.004(\text{Caroteno} * \text{Caroteno}) + 0.005(\text{PCL} * \text{PCL}) \\ & - 0.008(\text{Potencia} * \text{Caroteno}) + 0.010(\text{Potencia} * \text{PCL}) - 0.007(\text{Caroteno} \\ & * \text{PCL}) \end{aligned}$$

4.1.8. Versatilidad del método

Para comprobar las condiciones óptimas para la obtención de nanopartículas poliméricas mediante la metodología de emulsificación-difusión usando ultrasonido como sistema de homogeneización, se desarrollaron nanocápsulas conteniendo diferentes componentes activos oleosos (aceite de limón, aceite de romero y curcumina) y dos polímeros diferentes (PCL y etilcelulosa) con la finalidad de tener dispersiones de talla nanométrica que sean útiles en la conservación de alimentos.

En la Tabla 10 se presentan los tamaños de partícula (TP), los índices de polidispersión (IPD), los potenciales zeta (ζ), las eficiencias de encapsulación (EE), así como las densidades de los sistemas nanoparticulados preparados.

En la Figura 14 se muestran las fotografías de las características macroscópicas de las nanocápsulas conteniendo los aditivos alimentarios. Los tamaños de partícula en todos los sistemas fueron nanométricos, donde las formulaciones preparadas con PCL y etilcelulosa encapsulando β-caroteno presentaron los mayores tamaños 338.54 y 345.83 nm respectivamente, lo que es atribuido a la mayor masa molecular del β-caroteno en comparación con los demás activos probados.

Tabla 10: Comparación de nanocápsulas usando diferentes aceites encapsulantes y poli-(ε-prolactona) (PCL) y etilcelulosa como polímeros

Polímero	Núcleo oleoso	TP (nm)	IPD	ζ (mV)	EE (%)	Densidad (g/cm ³)
PCL	β-caroteno	238.54 ± 17.73	0.319 ± 0.05	-26.05 ± 1.75	75.24 ± 1.44	1.020 ± 0.001
PCL	Curcumina	157.16 ± 2.95	0.151 ± 0.01	-3.08 ± 0.28	27.17 ± 2.40	1.018 ± 0.002
PCL	Aceite de romero	150.28 ± 8.60	0.138 ± 0.02	-7.06 ± 0.35	81.53 ± 1.52	1.027 ± 0.003
PCL	Aceite de limón	141.83 ± 4.93	0.169 ± 0.02	-4.82 ± 0.61	92.29 ± 1.21	1.021 ± 0.002
Etilcelulosa	β-caroteno	245.83 ± 13.56	0.215 ± 0.03	-23.57 ± 1.1	87.97 ± 3.34	1.019 ± 0.001
Etilcelulosa	Curcumina	110.46 ± 5.82	0.207 ± 0.01	-5.7 ± 0.34	30.03 ± 6.73	1.029 ± 0.005
Etilcelulosa	Aceite de romero	114.8 ± 3.72	0.188 ± 0.01	-7.58 ± 0.53	70.69 ± 4.97	1.030 ± 0.002
Etilcelulosa	Aceite de limón	107.01 ± 4.22	0.170 ± 0.01	-7.21 ± 0.64	82.51 ± 4.10	1.004 ± 0.001

TP: tamaño de partícula; IPD; índice de polidispersión; ζ: potencial zeta; EE: eficiencia de encapsulación

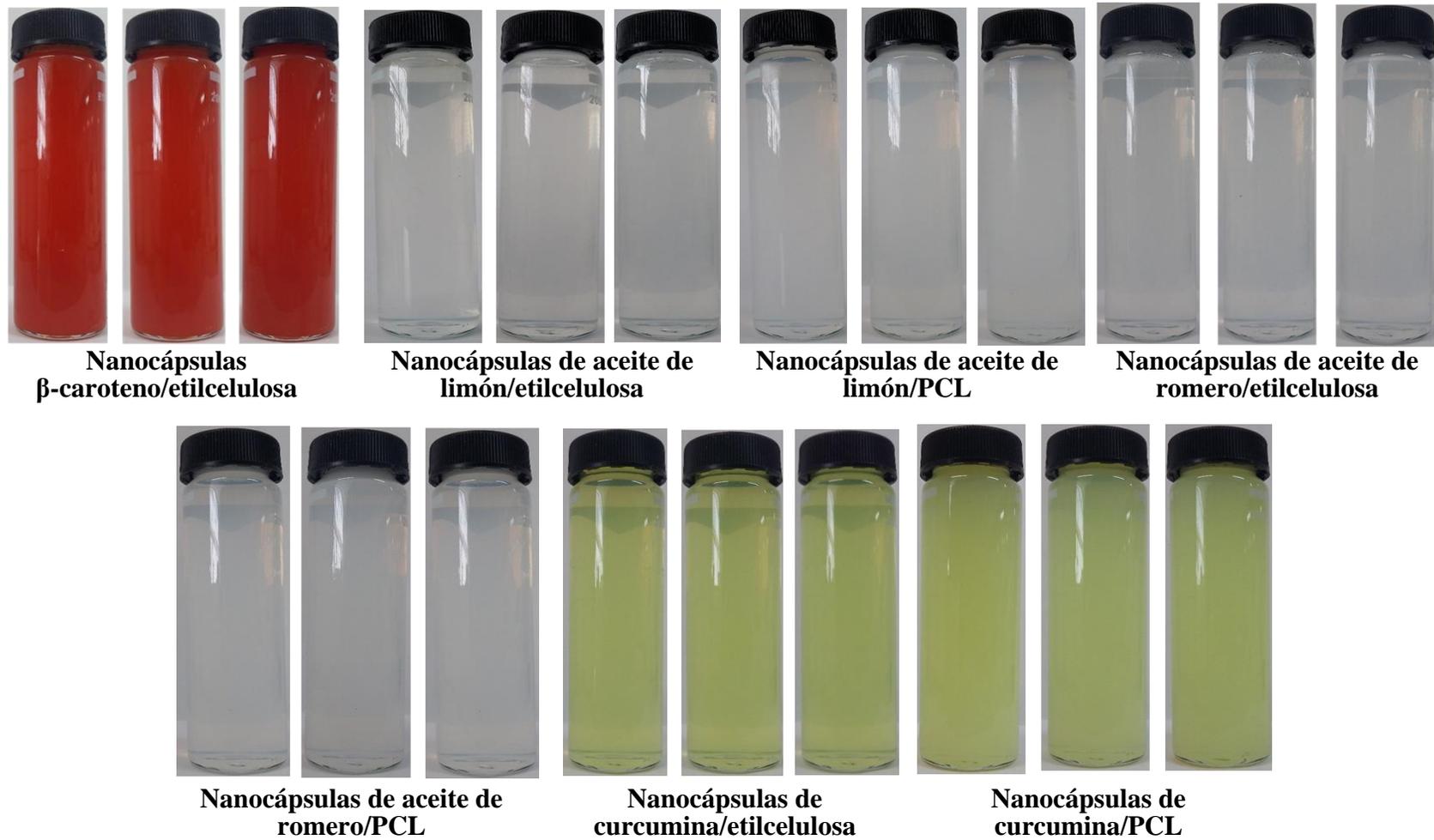


Figura 14: Nanopartículas de aceites esenciales y curcumina preparadas a las condiciones óptimas con PCL y etilcelulosa como polímeros barrera

El índice de polidispersión para las nanopartículas de β -caroteno usando PCL y etilcelulosa fue de 0.319 y 0.215 respectivamente, mientras que los potenciales zeta para las dispersiones encapsulando β -caroteno fueron menores a -23 mV, para ambos polímeros, sugiriendo buena estabilidad física de las dispersiones.

Con respecto a la eficiencia de encapsulación, las nanopartículas de PCL tuvieron un 75.24% de eficiencia de encapsulación como fue predicho por el diseño; sin embargo, se observó que las nanocápsulas formadas con etilcelulosa mostraron una eficiencia de encapsulación de 87.97%, con densidades de 1.020 g/cm³ para las nanocápsulas preparadas con PCL y 1.019 g/cm³ para las obtenidas con etilcelulosa indicando una buena integración del β -caroteno dentro de las nanocápsulas.

Resultados similares para la preparación de nanocápsulas de β -caroteno usando PCL, el método de emulsificación-difusión y un sistema rotor y “estator” han sido obtenidos por Zambrano-Zaragoza et al. (2011) donde encontraron tamaños de partícula de 287 nm, índice de polidispersión de 0.076 y potencial zeta de -27.8 mV.

Por otra parte, las nanopartículas preparadas con etilcelulosa conteniendo aceite de limón, aceite de romero y curcumina tuvieron tamaños entre 107 y 111 nm, en cambio para las nanocápsulas preparadas con PCL y conteniendo los mismos aceites, se obtuvieron tamaños entre 140 y 157 nm. Estos resultados son atribuidos a la masa molecular del polímero encapsulante. Los IPD fueron menores a 0.21 en todos los casos indicando una distribución de tamaños estrecha.

Los potenciales zeta obtenidos fueron mayores a -10 mV, mientras que las eficiencias de encapsulación fueron mayores al 70%, excepto para las nanocápsulas conteniendo curcumina donde se observó una eficiencia de encapsulación menor al 30% usando los dos polímeros barrera, atribuido a la gran cantidad de agua utilizada para la preparación de las nanocápsulas que da lugar a la solubilización de la curcumina reduciendo con ello la eficiencia de encapsulación (Jagannathan et al., 2012).

Las densidades de las nanopartículas fabricadas con PCL fueron de 1.018 g/cm³, 1.027 g/cm³ y 1.021 g/cm³ encapsulando curcumina, aceite de romero y aceite de limón respectivamente,

encontrándose dentro del intervalo para para sistemas nanocapsulares, como ha sido observado por Zambrano-Zaragoza et al. (2011), que han indicado densidades entre 1.016 y 1.022 g/cm³ para nanocápsulas con diferentes aceites alimentarios como aceite de girasol y aceite de soya. Por lo tanto, el procedimiento de emulsificación-difusión usando ultrasonido como método de homogeneización fue eficaz para formar sistemas capsulares conteniendo activos oleosos para aplicaciones en la conservación o funcionalización de alimentos.

4.1.9. Morfología de las nanocápsulas

Las nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina preparadas con dos diferentes polímeros barrera (PCL y etilcelulosa) y fabricadas mediante el método de emulsión-difusión acoplado con ultrasonido bajo las condiciones óptimas, fueron caracterizadas morfológicamente usando microscopía electrónica de barrido.

En la Figura 15 se muestran las micrografías de las nanocápsulas, donde de manera general se observa que todos los sistemas presentaron tamaños mucho menores a los 500 nm y forma esférica correspondiente a la formación de estructuras nanocapsulares.

Las nanocápsulas de β -caroteno/PCL presentaron forma esférica y tamaños de partícula alrededor de 200 nm confirmando las mediciones obtenidas por densidad. Diversos autores han encontrado resultados similares donde el proceso de emulsificación-difusión es una buena herramienta para obtener nanocápsulas esféricas de β -caroteno y otros componentes oleosos alimentarios (González-Reza et al., 2015; Zambrano-Zaragoza et al., 2011).

Las nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa de igual manera tuvieron forma esférica con tamaños inferiores a los obtenidos con PCL (entre 100 y 150 nm). Para espirooxacina nanoencapsulada en etilcelulosa y obtenidas mediante el proceso de emulsificación evaporación del disolvente, se han encontrado resultados similares donde se obtuvieron tamaños inferiores a los 200 nm (Feczko et al., 2011).

Así mismo se ha encontrado que el uso de ultrasonido disminuye el tamaño de las partículas a comparación de una agitación mecánica cuando se encapsula espirooxacina y etilcelulosa como polímero barrera (Valh et al., 2017).

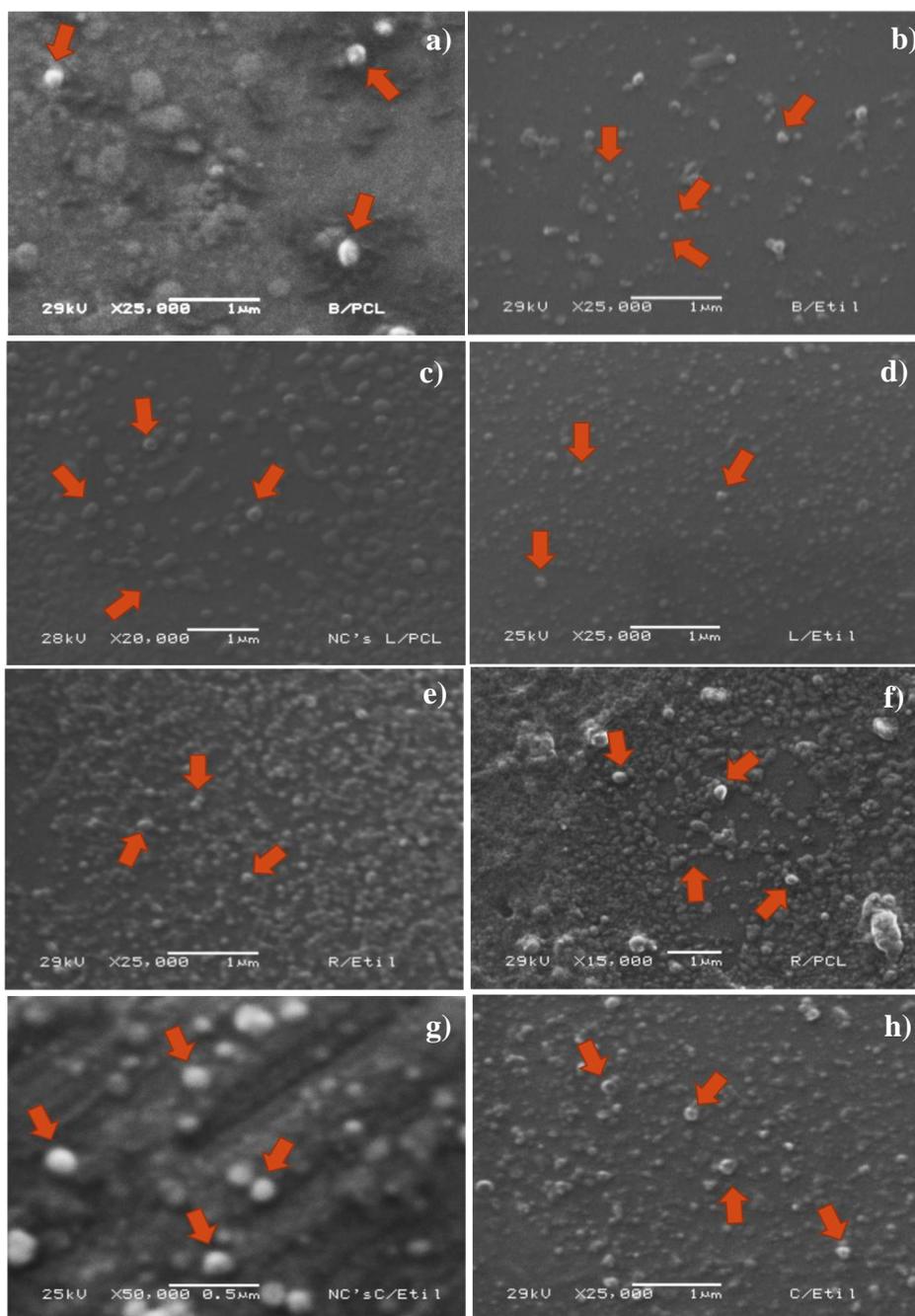


Figura 15: Micrografías de las diferentes dispersiones formadas con el método de emulsificación-difusión acoplado con ultrasonido. a) Nanocápsulas de β -caroteno/PCL; b) nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa; c) nanocápsulas de A. Limón/PCL; d) nanocápsulas de A. Limón/etilcelulosa; e) nanocápsulas de A. Romero/PCL; f) nanocápsulas de A. Romero/etilcelulosa; g) nanocápsulas de curcumina/PCL; h) nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa

Las nanocápsulas de aceite de limón/PCL y aceite de limón/etilcelulosa de igual manera presentaron formas esféricas de alrededor de 200 nm de diámetro siendo consistentes con los resultados de densidad y tamaño de partícula obtenidos por dispersión de luz dinámica.

En nanocápsulas conteniendo fragancias para aromatizar textiles usando aceite de limón como compuesto principal en la formulación de la fragancia se han encontrado resultados semejantes a los obtenidos en este trabajo siendo las nanocápsulas esféricas y de tamaños entre 100 y 200 nm (Liu et al., 2015). En las micrografías obtenidas por SEM para las nanocápsulas de aceite de romero/PCL y aceite de romero/etilcelulosa se observa que tuvieron forma esférica con tamaños de partícula ligeramente superiores para las preparadas con etilcelulosa, lo que se puede correlacionar con los resultados para el tamaño de partícula obtenidos de forma indirecta. En comparación, se han preparado nanocápsulas de aceite de romero encapsulado en PCL mediante el método de desplazamiento de disolvente, observándose en las micrografías estructuras esféricas capsulares con tamaños de partícula entre 100 y 150 nm con una polidispersión baja (Khoobdel et al., 2017). Con respecto a las nanocápsulas conteniendo curcumina usando PCL y etilcelulosa como polímeros barrera, las micrografías muestran estructuras esféricas con tamaños de partícula entre 150 y 200 nm. Resultados similares, fueron obtenidos para nanocápsulas de curcumina usando PCL y la metodología de desplazamiento de disolvente, donde se obtuvieron sistemas esféricos nanométricos con tamaños de partícula entre 150 y 200 nm vía SEM (Umerska et al., 2018). Para nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa preparadas por diálisis se han encontrado estructuras esféricas con diámetro de partícula de 282.9 nm (Suwannateep et al., 2011).

4.1. Comparación del índice de estabilidad medido con el equipo *Turbiscan* (TSI) de las nanocápsulas poliméricas con diferentes aceites alimenticios

Con la finalidad de evaluar la influencia de la composición de las nanocápsulas sobre su estabilidad se calcularon los índices de estabilidad dados por el equipo *Turbiscan* (TSI). En la Figura 17 se presentan los valores de TSI determinados a partir de los datos de retrodispersión medidos por el equipo *Turbiscan* para las nanocápsulas preparadas con β -caroteno, aceite de limón, aceite de romero y curcumina, preparadas con los dos polímeros estudiados (etilcelulosa y PCL) y los dos estabilizantes probados (PF-127 y PVA).

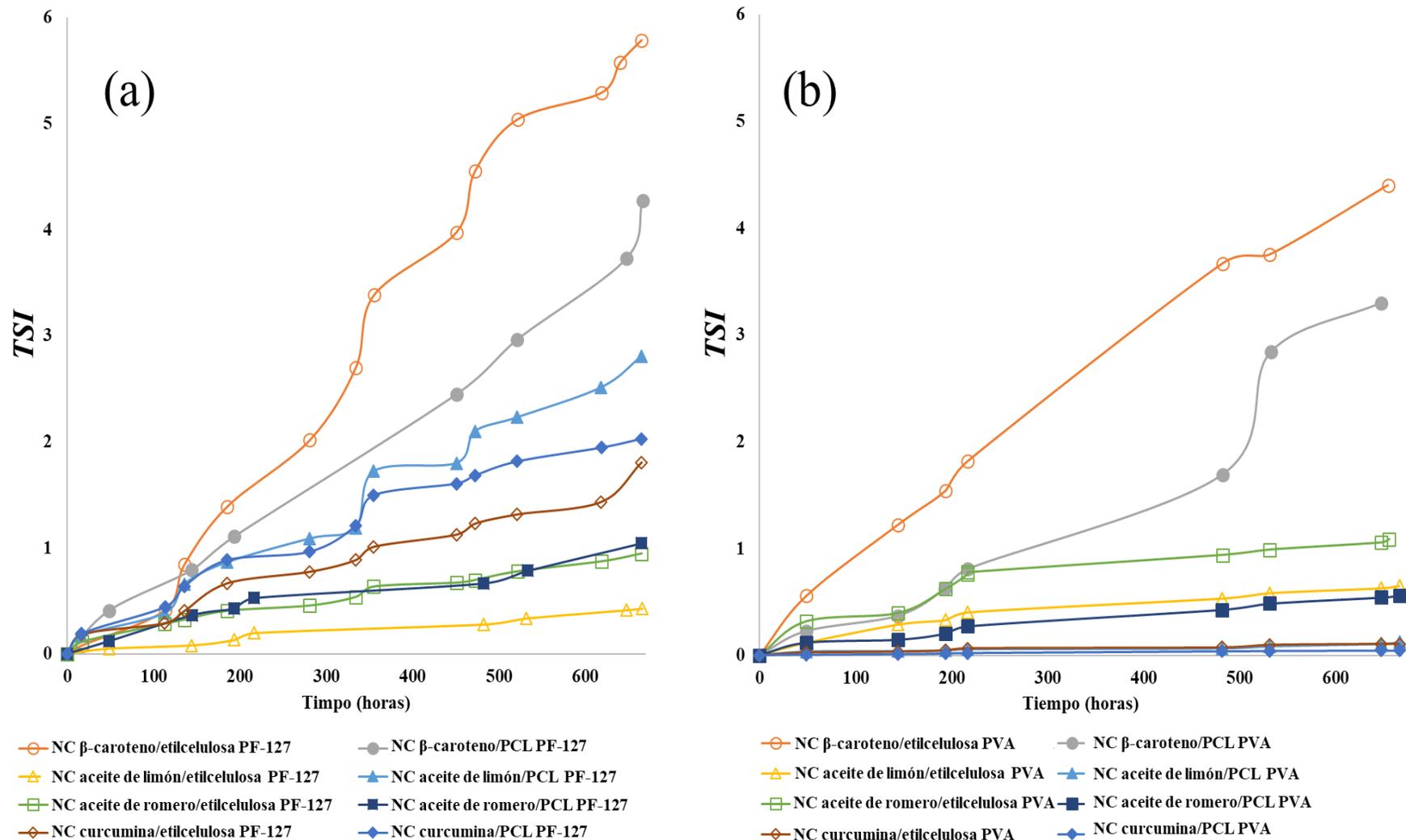


Figura 16: TSI de las nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina preparadas con etilcelulosa o PCL como polímeros barrera. (a) Usando Pluronic F-127 (PF-127); (b) usando alcohol polivinílico (PVA)

4.1.1. Nanocápsulas de β -caroteno

Las nanocápsulas de β -caroteno formadas con etilcelulosa o PCL fueron los sistemas que presentaron mayor inestabilidad donde los sistemas tuvieron ligeros cambios en el *TSI* en las primeras 136 h de almacenamiento a una velocidad de 0.0052 *TSI*/hora para las nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa y de 0.0084 *TSI*/h para las nanocápsulas de β -caroteno/PCL.

Se alcanzaron valores de *TSI* de 0.50 y 0.71, respectivamente. Después de las 136 h de almacenamiento se observó un incremento en los valores de *TSI* a una velocidad de 0.01 *TSI*/hora para ambas dispersiones. Para nanoemulsiones de vitaminas D y E se han observado valores de *TSI* entre 0.2 y 2.17 utilizando mezclas de goma arábica, maltodextrina y almidón modificado, donde las dispersiones optimizadas obtuvieron valores de *TSI* de 0.2 durante 6 h de medición, indicando que las dispersiones son altamente estables (Granillo-Guerrero et al., 2017).

4.1.2. Nanocápsulas de aceite de limón

En la Figura 17 se muestran los *TSI* calculados para las nanocápsulas de aceite de limón preparadas ya sea con PCL o con etilcelulosa y PF-127 o PVA. Las nanopartículas que mostraron una mayor estabilidad fueron las nanocápsulas de aceite de limón/PCL con PVA como estabilizante alcanzando valores de *TSI* de 0.12 y las nanocápsulas de aceite de limón/PCL formadas con PF-127 como estabilizante donde ambos tratamientos tuvieron diferencias estadísticamente significativas comparadas con las nanocápsulas formadas con etilcelulosa como polímero barrera.

No importó si fueron preparadas con PF-127 o PVA, ya que las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa PF-127 tuvieron un valor de *TSI* final de 1.31, mientras que las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa PVA tuvieron un *TSI* de 0.65 al final del periodo de almacenamiento.

El análisis estadístico mostró que las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa PVA tuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa usando PF-127 como estabilizante.

Para emulsiones y nanoemulsiones optimizadas y preparadas con α -limoneno se han encontrado valores de *TSI* entre 2.37 y 6.01 después de 30 días de almacenamiento (Trujillo-Cayado et al., 2018).

Para emulsiones de D-limoneno se ha encontrado valores de *TSI* entre 1 y 15 siendo las emulsiones más estables cuando se utiliza Pluronic PE9400 y una fracción de la fase dispersa del 50% (Pérez-Mosqueda et al., 2015). Por ello, la fabricación de nanocápsulas incrementa la estabilidad de las dispersiones, ayudando de esta manera a mantener también la estabilidad química del agente activo encapsulado.

4.1.3. Nanocápsulas de aceite de romero

Para las nanopartículas de aceite de romero preparadas con PCL y etilcelulosa con dos estabilizantes diferentes como PF-127 o PVA se tuvieron valores de *TSI* entre 0.04 y 1.09. Valores de *TSI* menores a 2 indican que los sistemas son estables, siendo las nanocápsulas de aceite de romero/etilcelulosa PVA el sistema que presenta mayor inestabilidad teniendo un valor final de *TSI* igual a 1.08 al final del periodo de medición.

En cambio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos de nanocápsulas de romero/PCL PVA, nanocápsulas de romero/PCL PF-127 y nanocápsulas de romero/etilcelulosa PF-127.

Esto indica que estas nanocápsulas son altamente estables por lo menos durante 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente, ya que presentaron valores de *TSI* al final del periodo de almacenamiento de 0.56, 0.42 y 0.04, respectivamente.

Para nanoemulsiones de aceite de romero formadas con un surfactante obtenido a partir de la biomasa de trigo (polipentósidos de alquilo) se han encontrado valores de *TSI* entre cero y 30, siendo el sistema más estable cuando se utiliza una concentración de aceite de romero del 20% (Martin-Piñero et al., 2019). Así mismo se ha encontrado que para emulgeles de aceite de romero preparados a diferentes velocidades de cizalla se encontraron valores de *TSI* entre 3 y 4 después de 30 días de muestreo (Santos et al., 2019). Por tanto, la nanoencapsulación de aceites esenciales es una buena opción para incrementar su estabilidad física en dispersión.

4.1.4. Nanocápsulas de curcumina

Las nanocápsulas de curcumina preparadas con etilcelulosa o PCL y mezcladas con PF-127 o PVA, fueron sistemas altamente estables teniendo valores de *TSI* entre 0.09 y 0.13. Además, son sistemas altamente estables debido a que valores de *TSI* cercanos a cero son indicativos de su estabilidad.

Las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa PF-127, curcumina/etilcelulosa PVA, curcumina/PCL PF-27 y curcumina/PCL PVA mostraron valores de *TSI* al final del periodo de medición de 0.13, 0.10, 0.072 y 0.044, respectivamente. Fueron los sistemas más estables preparados. Para nanopartículas preparadas con una mezcla de zeína- goma laca se han encontrado valores de *TSI* entre 1.54 y 8.43, siendo sistemas con mayor estabilidad cuando se utiliza una relación de zeína-shellac 1:1(Sun et al., 2017).

Todo lo obtenido en esta investigación indica que la metodología de emulsificación-difusión con homogeneización por ultrasonido es eficaz para preparar nanocápsulas con buena estabilidad física. Es importante destacar el efecto de los estabilizantes, siendo más eficaz el PVA para estabilizar las nanocápsulas. Aquí, el efecto estérico es promotor de la estabilidad de las partículas en suspensión (Bagherifam et al., 2015; Galindo-Rodríguez et al., 2004).

4.2. Determinación de los mecanismos de inestabilidad física de las nanopartículas preparadas y almacenadas a temperatura ambiente por 665 horas

La estabilidad de las estructuras nanocapsulares dependen tanto de los parámetros de proceso de síntesis como de la composición de las nanocápsulas y las condiciones de almacenamiento (Kapuscinska et al., 2016).

Por ello, es importante establecer el mecanismo de inestabilidad, ya que comúnmente las nanodispersiones no suelen ocuparse inmediatamente después de su preparación, por lo que si un sistema es altamente inestable se presentarán diferentes fenómenos a corto plazo, donde los mecanismos de inestabilidad que comúnmente se observan son: la sedimentación, el cremado, la floculación y la coalescencia; que impactan en las características físicas y químicas de las formulaciones.

La Figura 17 es un esquema del comportamiento de la retrodispersión (Δ BS) durante el proceso de sedimentación de las nanocápsulas medido en un analizador óptico tipo *Turbiscan*.

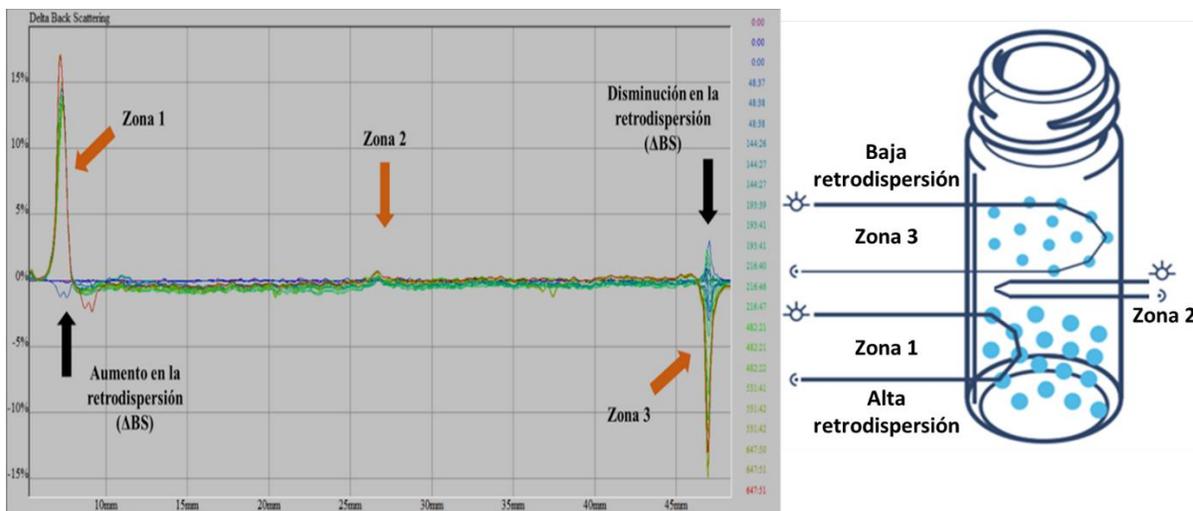


Figura 17: Representación de la sedimentación como mecanismo de inestabilidad de las nanocápsulas. La zona 1 es la parte inferior de la celda; la zona 2 es la parte intermedia, y la zona 3 es la parte superior, el menisco del líquido

El proceso de sedimentación es importante en este trabajo, ya que es el mecanismo que imperó en todos los sistemas. Con el *Turbiscan* es posible determinar la migración de las partículas y este comportamiento fue asociado a la formación de una capa de sedimento en el fondo de la celda de medición (zona 1), acompañado con un clareamiento en la parte superior de la muestra (zona 3). De tal manera que la retrodispersión (Δ BS) se incrementa en la zona 1 debido a que la concentración de las partículas aumenta. En cambio, en la zona 3 la concentración de las partículas disminuye y en consecuencia la retrodispersión (Δ BS) también desciende (Figura 17).

A continuación, se describen los mecanismos de inestabilidad de las nanocápsulas formadas con poli-(ϵ -caprolactona) (PCL) y etilcelulosa encapsulando β -caroteno, aceite de limón, aceite de romero y curcumina con dos estabilizantes diferentes alcohol polivinílico (PVA) y Pluronic F-127 (PF-127). En la Tabla 11, se presentan los tiempos de estabilidad, los mecanismos de inestabilidad de las nanocápsulas arriba mencionadas los espesores de los sedimentos formado.

Tabla 11: Tiempo de estabilidad, mecanismo de inestabilidad y velocidad de migración de las nanocápsulas de β -caroteno, aceite de limón y curcumina, fabricadas con poli-(ϵ -caprolactona) PCL o etilcelulosa como polímeros barrera y Pluronic F-127 (PF-127) o alcohol polivinílico (PVA) como estabilizantes

Sistema	Tiempo de estabilidad (h)	Mecanismo de inestabilidad	Espesor del sedimento (μm)
NC de β -caroteno/etilcelulosa (PF-127)	144	sedimentación	717
NC de A. limón/etilcelulosa (PF-127)	281	sedimentación	237
NC de A. romero/etilcelulosa (PF-127)	197	sedimentación	289
NC curcumina/etilcelulosa (PF-127)	185	sedimentación	402
NC de β -caroteno/PCL (PF-127)	185	sedimentación	637

Sistema	Tiempo de estabilidad (h)	Mecanismo de inestabilidad	Espesor del sedimento (μm)
NC de aceite de limón/PCL (PF-127)	185	Sedimentación	455
NC de aceite de romero/PCL (PF-127)	281	Sedimentación	216
NC de curcumina/PCL (PF-127)	185	Sedimentación	391
NC de β-caroteno/etilcelulosa (PVA)	216	sedimentación	680
NC de aceite de limón/etilcelulosa (PVA)	193	sedimentación	284
NC de aceite de romero/etilcelulosa (PVA)	186	sedimentación	288

Sistema	Tiempo de estabilidad (h)	Mecanismo de inestabilidad	Espesor del sedimento (µm)
NC de curcumina/etilcelulosa (PVA)	334	sedimentación	188
NC de β-caroteno/PCL (PVA)	193	sedimentación	498
NC de aceite de limón/PCL (PVA)	355	sedimentación	243
NC de aceite de romero/PCL (PVA)	185	sedimentación	287
NC de curcumina/PCL (PVA)	482	sedimentación	147

Las nanocápsulas de β -caroteno preparadas ya sea con PCL o etilcelulosa como polímeros barrera y PF-127 y PVA, mostraron los mayores espesores de sedimento formados. Para las nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa PF-127 se observó un espesor del sedimento de 717 μm con un tiempo de estabilidad de 144 h. Para las nanocápsulas de β -caroteno/PCL PF-127 el tiempo de estabilidad fue de 185 h, con un espesor de sedimento formado de 637 μm . Las nanocápsulas de β -caroteno/etilcelulosa PVA tuvieron un tiempo de estabilidad de 216 h con un espesor de sedimento de 680 μm . Y para las nanocápsulas de β -caroteno/PCL PVA, se encontró un tiempo de estabilidad de 193 h con un espesor de sedimento formado de 498 μm .

Las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa PF-127, aceite de limón/PCL PF-127, aceite de limón/etilcelulosa PVA y aceite de limón/PCL PVA tiempos de estabilidad de 281, 185, 193 y 355 h, respectivamente. Con espesores de sedimento formado al final del almacenamiento de 237, 455, 284 y 243 μm , respectivamente. Siendo mucho más estables que las nanocápsulas conteniendo β -caroteno. Este comportamiento se correlaciona con los valores de *TSI* obtenidos (Figura 16).

Para las nanocápsulas de aceite de romero/etilcelulosa PF-127, aceite de romero/PCL PF-127, aceite de romero/etilcelulosa/PVA y aceite de romero/PCL PVA, se observaron tiempos de estabilidad de 197, 281, 186 y 185 h, respectivamente. Con espesores de sedimento de 289, 216, 288 y 287 μm , respectivamente. Donde las nanocápsulas de PVA fueron más estables que las fabricadas con PF-127. De igual manera se correlaciona con los valores de *TSI* presentados en la Figura 16.

Un comportamiento similar fue encontrado en las nanocápsulas de curcumina donde las fabricadas con PVA tuvieron mayores tiempos de estabilidad. Siendo que las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa PF-127 y curcumina/PCL PF-127 tuvieron tiempos de estabilidad de 185 h en ambos casos. En cambio, las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa PVA y curcumina/PCL PVA presentaron tiempos de estabilidad de 188 y 147 h, respectivamente.

Es importante destacar que las nanocápsulas con diferentes aceites, como aceite de limón, aceite de romero y curcumina formados ya sea con PCL o etilcelulosa, presentaron potenciales zeta mayores a -10 mV.

De acuerdo con diferentes autores (Galindo-Rodríguez et al., 2004; Piirma, 1992), se dice que las partículas en dispersión con potenciales zeta cercanos a cero son inestables. Sin embargo, los estabilizantes como el PF-127 y el PVA, al ser moléculas poliméricas, tienen la capacidad de estabilizar las nanodispersiones debido a los efectos estéricos. Es decir, hay un impedimento estérico provocado por los polímeros estabilizantes en la superficie de las nanocápsulas que impide la unión de una partícula con otra, evitando la agregación y favoreciendo la estabilidad de las nanocápsulas en suspensión.

4.3. Evaluación de aceptabilidad de la papaya fresca cortada recubierta con los diferentes sistemas nanométricos

Una característica importante en el desarrollo e innovación de alimentos es su aceptación. En este aspecto, se realizó una prueba hedónica con panelistas no entrenados, con la finalidad de establecer de manera cuantitativa el agrado o desagrado de la papaya recubierta con las nanocápsulas preparadas.

La prueba consistió en preguntar la escala de agrado o desagrado de la papaya recubierta, donde se contaron con 5 niveles: me desagrada, me desagrada poco, ni me gusta ni me desagrada, me gusta y me gusta mucho, a los cuales se les asignó un valor numérico desde 2 hasta 10 respectivamente. Los resultados promedios de las determinaciones hedónicas se presentan en la Tabla 12.

Los resultados indicaron que la mayor aceptación de la papaya fue el sistema control alcanzando un valor de 9.0, seguido de la papaya tratada con nanocápsulas de curcumina y las nanocápsulas de aceite de limón que tuvieron valores por arriba de 8.

De manera general, las nanocápsulas de aceite de romero no tuvieron una buena aceptación entre los panelistas teniendo valores promedio de sabor entre 1.67 y 4.67, lo que es atribuido al fuerte sabor a aceite de eucalipto, ya que el aceite de romero tiene como componente principal el 1,8-cineole (33.45%).

Resultados similares fueron encontrados por Mehra et al., (2013), utilizando Sporotec[®] (aceite de romero, clavo y timol) como biofumigante para el control de hongos en moras

azules, donde la adición de Sporatec® tuvo la menor aceptación entre el grupo de panelistas entrenados. Por lo anterior, se decidió eliminar este tratamiento para las pruebas siguientes.

Tabla 12: Valores promedio de la evaluación sensorial de la papaya fresca cortada recubierta con las nanodispersiones

Sistema	Calificación
Control	9.0 ± 1.03
NC de aceite de limón/etilcelulosa	6.0 ± 2.14
NC de aceite de limón/PCL	6.57 ± 1.51
NC de aceite de romero/etilcelulosa	3.0 ± 1.67
NC de aceite de romero/PCL	1.67 ± 1.97
NC de curcumina/etilcelulosa	8.67 ± 1.03
NC de curcumina/PCL	4.67 ± 1.63

4.4. Caracterización de las nanopartículas antes de ser aplicadas en la papaya fresca cortada

En la Tabla 13 se presentan los resultados de tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta de las nanopartículas conteniendo aceite de limón, y curcumina preparadas con PCL o etilcelulosa como polímeros barrera en la formación de las nanocápsulas y usando PVA como estabilizante.

Tabla 13: Caracterización de las nanopartículas antes de ser utilizadas como recubrimientos en papaya fresca cortada

Sistema	TP (nm)	IPD	ζ (mV)
NC de aceite de limón/etilcelulosa PVA	116 ± 0.72	0.126 ± 0.02	-7.52 ± 0.53
NC de aceite de limón/PCL PVA	87.57 ± 0.34	0.142 ± 0.01	-12.43 ± 0.98
NC de curcumina/etilcelulosa PVA	115.73 ± 0.83	0.246 ± 0.01	-6.15 ± 1.04
NC de curcumina/PCL PVA	100.18 ± 0.98	0.167 ± 0.01	-5.80 ± 0.78

De forma general se observó que las nanopartículas preparadas presentaron tamaños de partícula en la escala nanométrica siendo el sistema de nanocápsulas aceite de limón/PCL PVA el que tuvo el menor tamaño. Las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa PVA y nanocápsulas de aceite de limón/PCL PVA tuvieron tamaños de 116 y 87.57 nm respectivamente.

Para nanocápsulas de aceite de limón empleando quitosana y almidón modificado como estabilizante se obtuvieron nanocápsulas con diámetros de partícula entre 339 y 553 nm donde la relación quitosana/almidón modificado tuvo una mayor relación en el tamaño de las dispersiones (Hasani et al., 2018).

También, para nanocápsulas de colonia (donde el compuesto principal es el aceite de limón) preparadas con metilmetacrilato-estireno como polímeros barrera se encontraron tamaños de partícula de 136 nm (Zambrano-Zaragoza et al., 2011), similares a los reportados en este trabajo (Liu et al., 2015).

Para las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y curcumina/PCL usando PVA como estabilizante, los tamaños medidos por la técnica de dispersión de luz dinámica fueron de 115 y 100 nm respectivamente, estando dentro de la escala nanométrica. Para nanocápsulas de curcumina obtenidas con caseinato de sodio se han reportado tamaños de partícula de 165 nm (Pan et al., 2013). Así mismo se ha reportado la nanoencapsulación de curcumina con diferentes aceites como aceite de castor, aceite de soya y aceite miglyoil donde se encontraron tamaños de partícula de 150, 142.5 y 206 nm respectivamente (Zanotto-Filho et al., 2013).

Respecto de los índices de polidispersión obtenidos, los valores se encontraron entre el intervalo de 0.126 y 0.246, indicando que los sistemas son monodispersos con una distribución de tamaños estrecha. Para las nanocápsulas conteniendo aceite de limón, ya sea utilizando etilcelulosa o PCL, se presentaron índices de polidispersión menores a 0.150. Se ha reportado que para nanocápsulas de aceite de limón formadas con quitosana y almidón modificado se obtuvieron índices de polidispersión de 0.424, mucho mayores a los obtenidos en este trabajo (Hasani et al., 2018); por lo cual, las nanopartículas de aceite de limón preparadas para recubrir la papaya tuvieron distribuciones estrechas con una tendencia a la media.

De igual manera, los índices de polidispersión para las nanocápsulas de curcumina formadas con PCL o etilcelulosa y PVA como estabilizante se encontraron índices de polidispersión de 0.246 para las formadas con etilcelulosa y de 0.167 para las preparadas con PCL. De acuerdo con estos resultados también se pueden describir como sistemas monodispersos, con una estrecha distribución de tamaños de partícula.

Para nanocápsulas de curcumina disuelta en diferentes aceites se han encontrado índices de polidispersión entre 0.16 y 0.29, similares a los reportados en este trabajo, indicando que los sistemas preparados para su uso farmacéutico tienen buena heterogeneidad (Klippstein et al., 2015).

Los potenciales zeta determinados tuvieron un bajo potencial encontrándose entre -5.80 y -12.43 mV. Las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y aceite de limón/PCL tuvieron potenciales zeta de -7.52 y 12.43 mV, respectivamente. Las nanocápsulas de curcumina preparadas con etilcelulosa y PCL tuvieron potenciales zeta de -6.15 y -5.80,

respectivamente. El potencial zeta de las nanopartículas es un parámetro de estabilidad, donde se puede predecir que los sistemas son estables cuando los valores absolutos de potencial zeta se encuentran más alejados de cero.

Sin embargo, por las características de los estabilizantes no iónicos, generalmente se presentan bajos potenciales zeta, teniendo un efecto estérico lo que evita que las nanopartículas se agreguen o flocculen, lo que se puede correlacionar con los resultados de estabilidad donde los sistemas lograron ser estables por 30 días en almacenamiento a temperatura ambiente.

Para nanocápsulas de aceite de limón fabricadas con quitosana y almidón se han reportado valores de potencial zeta de 10.58 cuando la relación quitosana/almidón fue de 0.5%/9.5% (Hasani et al., 2018). Por ello, el proceso de emulsificación-difusión usando homogeneización con ultrasonido es una excelente herramienta para preparar sistemas de talla nanométrica, capaces de encapsular aceites esenciales y curcumina, con una buena distribución de tamaños y estables, que pueden ser útiles para conservar alimentos.

Las siguientes secciones describen el efecto de las nanocápsulas conteniendo aceites esenciales como el aceite de limón y la curcumina sin ser mezcladas en un soporte polisacárido en las características físicas, químicas y fisicoquímicas de papaya fresca cortada, ya que uno de los objetivos principales de este trabajo es establecer su funcionalidad en la preservación de los alimentos, con la intención de proponer su utilización en otras matrices alimentarias que tienen un rápido deterioro como las carnes y otros frutos enteros o mínimamente procesados.

4.5. Efecto de recubrimientos con nanopartículas sobre propiedades fisicoquímicas de papaya fresca cortada

4.5.1. Cambios en el pH y la acidez

En la Tabla 14 se presentan los resultados obtenidos para las determinaciones de pH y acidez de la papaya tratadas con nanocápsulas de aceite de limón y curcumina usando etilcelulosa y PCL como polímeros barrera.

Para las muestras control tratadas con CaCl₂ se observó un decremento en el pH durante todo el almacenamiento teniendo un valor promedio de pH al final de 4.97. Además, la acidez tuvo ligeras variaciones con respecto a su condición inicial obteniéndose valores a final del almacenamiento de 0.416 mg de ácido cítrico/100 g de muestra.

La disminución del pH es atribuida a la formación de ácidos orgánicos debido a la biotransformación de los glúcidos a ácidos orgánicos, así como al crecimiento de microorganismos en la superficie de la papaya que, en cierta medida, pueden producir ácidos orgánicos.

La disminución en la acidez es debida a que los ácidos orgánicos como el ácido cítrico y málico de la papaya son utilizados por las enzimas durante los procesos respiratorios (Ali et al., 2011). La velocidad de respiración es significativamente mayor en el sistema control que en la papaya recubierta con nanocápsulas (Anexo A.1.). El análisis estadístico mostró que, tanto el pH como la acidez, presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos con nanocápsulas (Anexo A.2 y A.3).

Para las nanocápsulas formadas con etilcelulosa conteniendo ya sea aceite de limón o curcumina se observaron ligeras variaciones en el contenido de pH y acidez durante el periodo de almacenamiento.

El tratamiento compuesto por nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa mostró que el pH apenas varió en 0.3 durante el almacenamiento, con un valor de 5.25 al día 10. Para la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa se observó un comportamiento similar donde el menor valor de pH fue encontrado en el día 7 teniendo un pH promedio de 5.41. Con respecto a la acidez, se observó un comportamiento creciente durante los primeros 12 días de almacenamiento, disminuyendo posteriormente.

El valor promedio final para el tratamiento con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa fue de 0.48 mg de ácido cítrico/100g de fruta y para la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa fue de 0.45 mg de ácido cítrico/100g.

Tabla 14: Cambios en el pH y acidez de papaya tratada con nanocápsulas de aceite de limón y curcumina usando etilcelulosa y PCL como polímeros barrera

Tiempo		Control	NC L/etil	NC L/PCL	NC C/etil	NC C/PCL
Día 0	pH	5.20 ± 0.01	5.25 ± 0.03	5.23 ± 0.01	5.11 ± 0.04	5.20 ± 0.04
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.518 ± 0.05	0.532 ± 0.01	0.525 ± 0.03	0.534 ± 0.07	0.538 ± 0.06
Día 3	pH	5.21 ± 0.08	5.62 ± 0.02	5.45 ± 0.02	5.67 ± 0.02	5.33 ± 0.06
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.395 ± 0.02	0.529 ± 0.02	0.431 ± 0.02	0.375 ± 0.02	0.533 ± 0.02
Día 5	pH	5.30 ± 0.02	5.55 ± 0.09	5.54 ± 0.05	5.53 ± 0.04	5.59 ± 0.04
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.363 ± 0.05	0.497 ± 0.02	0.395 ± 0.02	0.400 ± 0.02	0.463 ± 0.02
Día 7	pH	5.23 ± 0.02	5.37 ± 0.05	5.37 ± 0.04	5.41 ± 0.05	5.38 ± 0.03
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.405 ± 0.02	0.568 ± 0.01	0.494 ± 0.02	0.535 ± 0.01	0.509 ± 0.03
Día 10	pH	5.35 ± 0.01	5.25 ± 0.01	5.52 ± 0.01	5.40 ± 0.07	5.48 ± 0.01
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.469 ± 0.04	0.520 ± 0.01	0.689 ± 0.02	0.608 ± 0.03	0.546 ± 0.03
Día 12	pH	5.16 ± 0.04	5.16 ± 0.06	5.35 ± 0.12	5.48 ± 0.03	5.46 ± 0.02
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.416 ± 0.03	0.560 ± 0.02	0.515 ± 0.03	0.511 ± 0.03	0.469 ± 0.02
Día 14	pH	5.08 ± 0.03	5.27 ± 0.04	4.94 ± 0.05	5.40 ± 0.02	5.30 ± 0.04
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.427 ± 0.05	0.417 ± 0.01	0.592 ± 0.02	0.428 ± 0.02	0.546 ± 0.03
Día 17	pH	4.97 ± 0.05	5.56 ± 0.04	4.86 ± 0.04	5.47 ± 0.04	5.29 ± 0.04
	Acidez (mg ácido cítrico/100g)	0.416 ± 0.03	0.480 ± 0.03	0.656 ± 0.02	0.449 ± 0.01	0.576 ± 0.03

NC L/etil: Nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa; NC L/PCL: Nanocápsulas de aceite de limón/PCL; NC C/etil: nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa; NC C/PCL: Nanocápsulas de curcumina/PCL

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre el compuesto encapsulado (Anexo A.3). Las pocas diferencias en el comportamiento del pH y la acidez, son debidas a que los tratamientos de tamaño nanométrico pueden actuar como una barrera al intercambio de gases con lo que se reduce la respiración de la papaya, manteniendo con ello los glúcidos presentes, por lo que no son modificados ni utilizados en los procesos respiratorios. Para papaya recubierta con quitosana se han observado menores cambios, tanto en el pH como en la acidez del fruto, lo que implica que la quitosana forma una barrera al intercambio de gases, disminuyendo la respiración del fruto e incrementando la estabilidad de los componentes de la papaya (Ali et al., 2011).

En cambio, para las nanocápsulas de aceite de limón y curcumina formadas con PCL como polímero barrera se observó una tendencia creciente a lo largo del periodo de almacenamiento con respecto a la acidez. Las nanocápsulas de aceite de limón/PCL tuvieron un valor final de 0.65 mg de ácido cítrico/100g y las nanocápsulas de curcumina/PCL un valor final de 0.576 mg de ácido cítrico/100g. Si bien las nanocápsulas tienen un efecto protector disminuyendo la velocidad de respiración, el PCL a lo largo del almacenamiento se degrada formando grupos terminales carboxilo que pueden disminuir la acidez de las muestras.

La degradación del PCL es debido a que el polímero en un ambiente acuoso puede hincharse, provocando que moléculas de agua interaccionen con el polímero, atacando a los grupos éster de la PCL. Esto provoca la hidrólisis y la formación de grupos carboxilo terminales. Además, la hidrólisis de los grupos éster puede ser catalizada por enzimas lipasas encontradas en el tejido de las papaya (Mochizuki et al., 1995).

De igual manera, el pH en la papaya tratada con nanocápsulas de aceite de limón/PCL disminuyó drásticamente durante la última semana de almacenamiento alcanzando un valor de 4.8. Esto pudo ser atribuido a la formación de ácidos orgánicos de la papaya, relacionándose con una disminución en la cantidad de glúcidos solubles totales por el incremento en la respiración de las muestras. Sin embargo, en la papaya con nanocápsulas de curcumina/PCL se tuvo una disminución en el pH después del día 12 hasta alcanzar un valor de 5.29.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre ambos tratamientos; por lo que el tratamiento de curcumina/PCL fue más efectivo para disminuir los cambios asociados con el deterioro de la papaya fresca cortada (Anexo A.3).

4.5.2. Contenido de sólidos solubles totales (SST) en la papaya fresca cortada y recubierta con las nanocápsulas

En la Figura 18 se muestra el comportamiento respecto a la cantidad de sólidos solubles totales encontrados en la papaya fresca cortada a diferentes días de muestreo, donde el sistema control presentó una disminución de los sólidos solubles totales a lo largo del periodo de almacenamiento.

Para la papaya control evaluada en este estudio, la disminución de la cantidad de sólidos solubles puede ser debida al incremento en la respiración. El tratamiento químico no generó una barrera a los gases e incrementó la tasa de respiratoria. Con ello, el metabolismo de la fruta cortada también aumentó, produciendo la reducción de los glúcidos en la fruta. La rapidez en la disminución de SST fue de 0.29 SST/día hasta el séptimo día y se redujo después a 0.05 SST/día.

Para papaya ‘Maradol’ cortada en diferentes formas se ha encontrado una ligera disminución de la cantidad de sólidos solubles totales almacenada a 5°C. Las que son almacenadas a temperaturas más elevadas (10 y 25 °C) mostraron una rápida disminución en la cantidad de sólidos solubles totales. Esto puede ser producido por un incremento en la respiración de las muestras (Rivera-López et al., 2005).

Con los recubrimientos de nanocápsulas con diferentes aceites esenciales y curcumina, se observó un incremento en la cantidad de sólidos solubles representados por la cantidad de SST, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento control (Anexo A.4).

Este comportamiento podría atribuirse a la disminución de la respiración de la papaya tratada con las nanocápsulas, lo que generó una conservación de los glúcidos debida a la reducción del metabolismo de la fruta en todos los casos estudiados (Jayathunge et al., 2014).

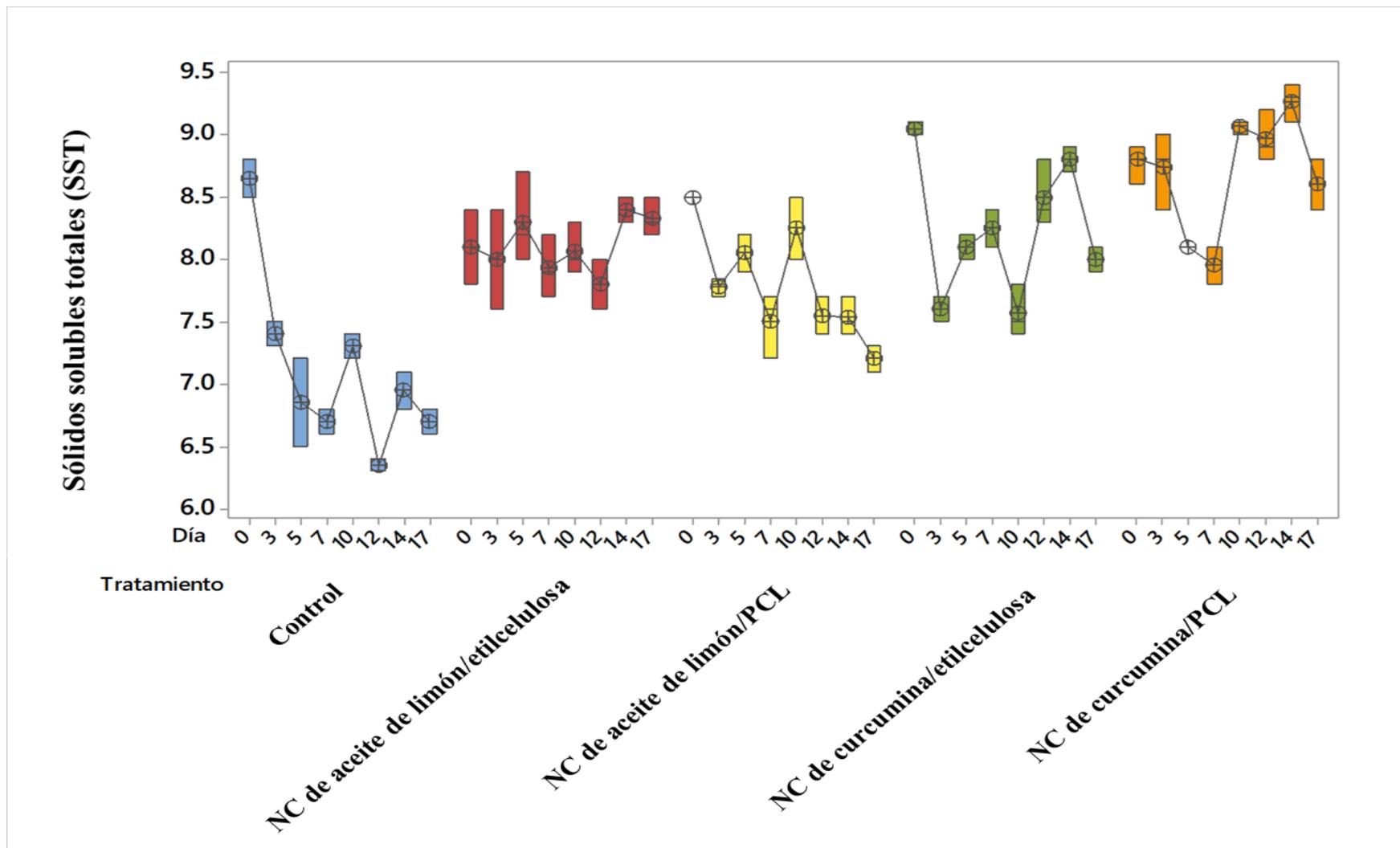


Figura 18: Sólidos solubles totales en la papaya fresca cortadas almacenadas por 17 días a 4°C. Blanco: trozos sin ningún tratamiento.

Control: trozos tratados con CaCl₂

Para la papaya recubierta con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se observaron pocos cambios en la cantidad de sólidos solubles totales durante los 17 días de almacenamiento, teniendo una velocidad de cambio de 0.02 SST/día hasta el día 12, aumentando después la cantidad de sólidos solubles encontrados en el fruto. Un comportamiento similar en el incremento de los sólidos solubles fue encontrado por Cortez-Vega et al. (2014), en papaya fresca cortada recubierta con un nanocomposito compuesto por aislado de proteína de corvina y montmorilonita.

El aumento en los SST fue atribuido a la degradación y biosíntesis de polisacáridos como resultado de los procesos metabólicos relacionados con la maduración y las enzimas involucradas en este proceso. Sin embargo, la poca variación en los valores de SST de la papaya recubierta con nanopartículas indica que los procesos metabólicos disminuyen en comparación con la papaya no recubierta, mostrando la efectividad del sistema para mantener las características de la papaya durante el almacenamiento refrigerado.

Por otra parte, en los trozos de papaya tratados con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa se observó que la cantidad de sólidos solubles disminuyó durante los primeros días de almacenamiento, debido al metabolismo de los glúcidos. Esto se correlacionó con un incremento en los valores de acidez. Sin embargo, posteriormente, los valores fueron en aumento durante todo el periodo de muestreo, no observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto del recubrimiento de nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa (Anexo A.4). Para papayas enteras recubiertas con quitosana se ha encontrado que el tratamiento disminuye la respiración de la fruta, manteniendo la cantidad de sólidos solubles en la papaya y aumentando su vida útil (Mochizuki et al., 1995).

Los trozos de papaya recubiertos con nanocápsulas de curcumina/PCL tuvieron un comportamiento similar a los de papaya tratados con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa respecto de la cantidad de sólidos solubles totales, ya que se observó que durante los primeros días de almacenamiento hubo una disminución en los SST.

Posteriormente, se tuvo un comportamiento ascendente. Esto podría relacionarse, como ya se ha mencionado, con la degradación inicial de los glúcidos y la posterior transformación

(hidrólisis) de los biopolímeros encontrados en la papaya que producen la formación de nuevos sólidos solubles.

Con base en los resultados obtenidos, se puede concluir que las nanopartículas de aceite de limón y curcumina formadas con etilcelulosa y PCL son capaces de mantener la cantidad de sólidos solubles totales por mayor tiempo en comparación con los trozos de papaya sin los tratamientos nanocapsulares. Las características fisicoquímicas de la papaya fresca cortada se mantuvieron, siendo los tratamientos nanocapsulares con aceite de limón mejores a los que contienen curcumina.

4.6. Propiedades físicas de la papaya recubierta con los diferentes nanosistemas

4.6.1. Respiración de la papaya fresca cortada tratada con nanocápsulas

Los objetivos principales para el almacenamiento de los productos frescos cortados es mantener el control de la velocidad de transpiración y la velocidad de respiración, para proteger a este tipo de alimentos de enfermedades, la pérdida de compuestos nutricionales, minimizar la carga de microorganismos y otros cambios desfavorables de los aspectos físicos y químicos (Falah et al., 2015).

4.6.2. Efecto de las nanopartículas en la velocidad de producción de CO₂

En la Figura 19 se presentan los valores para la velocidad de producción de CO₂ de la papaya en función de los tratamientos utilizados. La mayor velocidad de producción de CO₂ fue observada en el lote de papaya “blanco”, donde durante los tres primeros días se observó un incremento significativo, teniendo un valor promedio de 3.27 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Esto se mantuvo prácticamente durante los días posteriores, donde al final del periodo de almacenamiento (día 14) se observó otro incremento en la velocidad de respiración alcanzando un valor promedio de 5.23 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Significa que el oxígeno encontrado dentro del envase fue utilizado por la papaya para continuar con su metabolismo teniendo una alta velocidad de respiración por lo que la concentración de CO₂ en el espacio superior del contenedor (*head space*) aumentó. Así mismo el inicio del metabolismo biodegradativo produce un incremento en la concentración de CO₂ (Toivonen y Brummell, 2008), provocado por la necesidad de la fruta para producir energía (ATP) para su supervivencia (Baldwin, y Bai, 2011; Toivonen y Brummell, 2008).

Un comportamiento similar fue encontrado en papaya fresca cortada de la variedad 'Honey Dew' donde el sistema control exhibió un incremento en la concentración de CO₂ en la parte superior del contenedor (*head space*) durante 17 días de almacenamiento, siendo las muestras sin tratamiento las que presentaron un mayor incremento en la cantidad de CO₂, siendo disminuido por un recubrimiento de alginato conteniendo antimicrobianos (Narsaiah et al., 2015).

Para la papaya fresca cortada, tratada únicamente con CaCl₂, se observó una disminución de la producción de CO₂, donde también se observó un incremento en la velocidad de producción de CO₂. Durante los primeros días de prueba se tuvo una velocidad promedio de 1.30 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, observándose diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) con respecto al blanco (Anexo A.5).

El comportamiento es atribuido a que la adición de iones Ca²⁺ produce la gelación de las pectinas de la pared celular, formando de esta manera una barrera al intercambio de gases entre la papaya y el medio, reduciendo con ello la velocidad de conversión del O₂ a CO₂. Este comportamiento ha sido analizado ampliamente en diferentes frutas.

En papayas enteras de la variedad 'Eksottika II' tratadas con CaCl₂ se observó una disminución de entre 1.5 y 2% en la velocidad de producción de CO₂ con respecto al sistema sin ningún tratamiento. Como el CaCl₂ es un inhibidor de la maduración, dado que disminuye la desintegración de los tejidos, mantiene con ello la integridad de la membrana (Madani et al., 2014).

Por otra parte, en la papaya troceada y tratada con nanocápsulas se observó que disminuyeron las velocidades de formación de CO₂ en todos los casos, lo que indica que los nanosistemas fueron capaces de formar un recubrimiento sobre la superficie de la papaya reduciendo con ello la respiración del producto, con lo que se mantienen las características deseables de la papaya.

El análisis estadístico indicó diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) con respecto a los lotes de papaya control y la papaya sin ningún tratamiento (Anexo A.5).

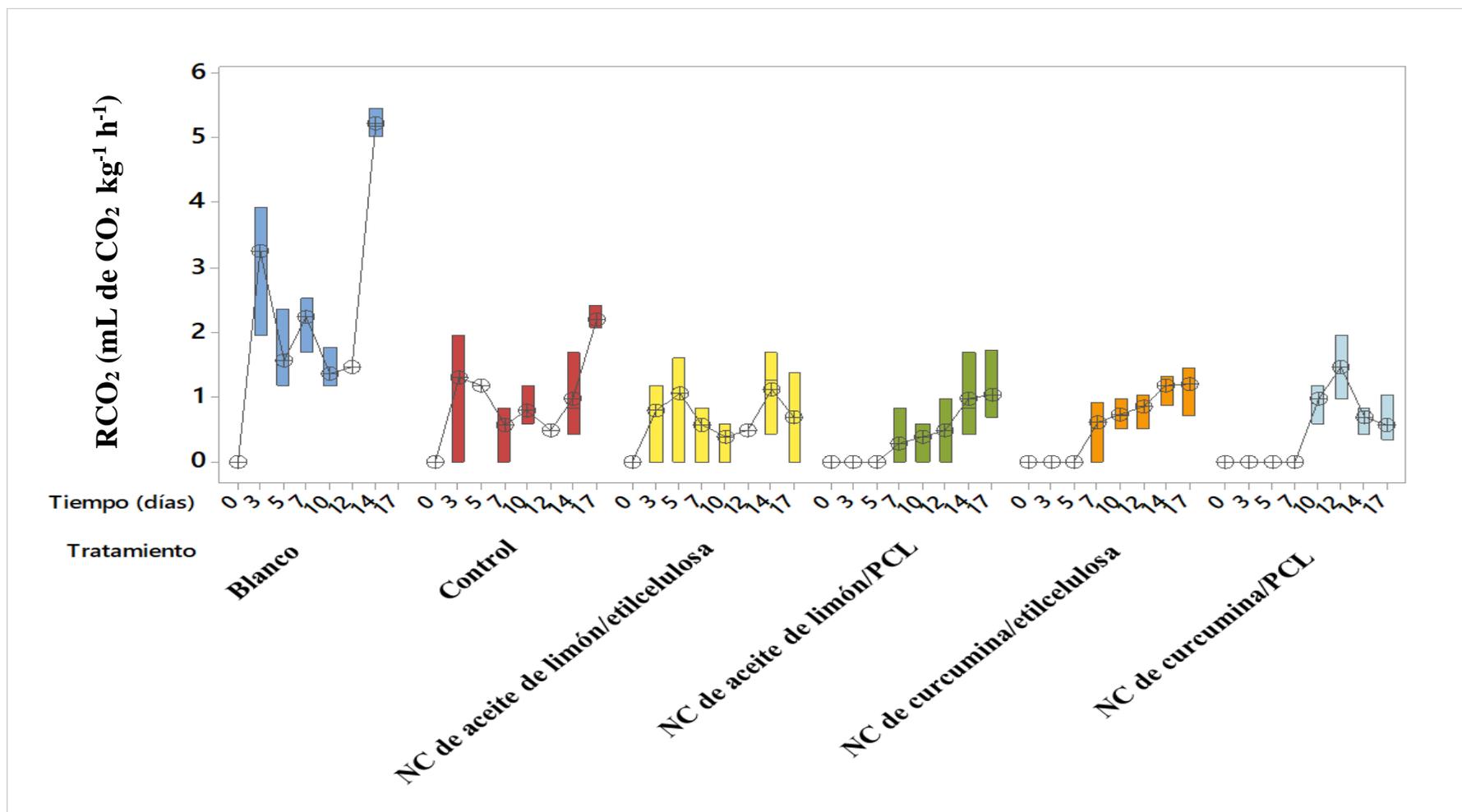


Figura 19: Velocidad de formación de CO₂ de los lotes con trozos de papaya tratados con nanocápsulas conteniendo aceite de limón o curcumina. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl₂

Para la papaya recubierta con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se observó que la velocidad de producción de CO₂ fue ligeramente mayor a 1.0 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ en los días 7 y 14, por lo que el recubrimiento fue capaz de reducir la respiración de la papaya. Un comportamiento similar ha sido observado en manzana fresca cortada recubierta con nanocápsulas de α-tocoferol/PCL donde la velocidad inicial de respiración fue abatida 43% menos que la velocidad de respiración de la manzana control (Galindo-Pérez et al., 2015).

La papaya troceada tratada con nanocápsulas de aceite de limón/PCL tuvieron una velocidad de producción de CO₂ de cero durante los primeros cinco días de almacenamiento, incrementándose posteriormente y mostrando una tendencia ascendente en la producción de CO₂, hasta alcanzar un valor máximo de 1.04 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ en el día 17 de almacenamiento.

Un comportamiento similar fue observado en la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL, donde durante los primeros días no mostraron cambios en la producción de CO₂ hasta el día 7 para la papaya tratada con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y el día 10 para la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/PCL obteniéndose velocidades de 0.6 y 1.09 mL de CO₂ kg⁻¹h⁻¹, respectivamente.

El comportamiento de la papaya con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa fue creciente, teniendo alcanzando un valor final de 1.19 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, mientras que, la papaya tratada con nanocápsulas de curcumina/PCL se observó un máximo en la velocidad de respiración en el día 12 teniendo un valor de 1.45 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Los resultados indican que las nanopartículas pueden incluirse sobre la superficie de la papaya formando un recubrimiento que limita el transporte de gases y la respiración, lo que conduce a mantener las características iniciales de la papaya por más tiempo.

Resultados similares con respecto a la aplicación de nanorrecubrimientos han sido reportados por Costa et al. (2012), que utilizaron nanopartículas de plata mezcladas con alginato de sodio, donde observaron un decremento significativo en la respiración de zanahoria fresca cortada, sin mostrar diferencias significativas con el uso de alginato sin nanopartículas.

4.6.3. Efecto de las nanopartículas en la velocidad de consumo de O₂

En la Figura 20 se presentan los comportamientos de la velocidad de disminución de O₂ en la parte superior del contenedor (*head space*) de los contenedores con papaya con los diferentes tratamientos. Cabe destacar que todos los sistemas tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la velocidad de consumo de O₂ (Anexo A.6).

El sistema blanco presentó altos valores en el consumo de O₂ durante los primeros cinco días teniendo velocidades medias de alrededor de 30 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹. La tendencia después fue descendente, donde la velocidad de consumo de O₂ disminuyó hasta alcanzar valores de 13.72 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹ en el día 14 de prueba.

Este comportamiento es atribuido al efecto de los cortes que aumentan el área superficial en la papaya blanco (sin ningún tratamiento). Además, se han eliminado las barreras que limitan la permeabilidad de los gases contribuyendo al aumento de la velocidad de respiración de la papaya.

Para la papaya tratada con CaCl₂ se observó que la velocidad de consumo de O₂ fue alta durante los primeros tres días teniendo una velocidad promedio de 31.43 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹. Después hubo una disminución en la velocidad de consumo de O₂, alcanzando valores de 7.28 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹, habiendo después un incremento nuevamente en el consumo de O₂ en la parte superior del contenedor (*head space*), hasta alcanzar un valor de 14.2 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹ en el día 17 de muestreo.

La velocidad de consumo de O₂ para las nanocápsulas de aceite de limón preparadas con etilcelulosa o PCL mostraron las menores velocidades de consumo de O₂, teniendo valores iniciales para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y nanocápsulas de aceite de limón/PCL de 17.63 y 11.75 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente.

Además, la velocidad de consumo de O₂ descendió durante el resto del periodo de prueba alcanzando valores de velocidad de consumo de O₂ de 6.45 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹ para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y 7.72 mL de O₂ kg⁻¹ h⁻¹ para las nanocápsulas de aceite de limón/PCL.

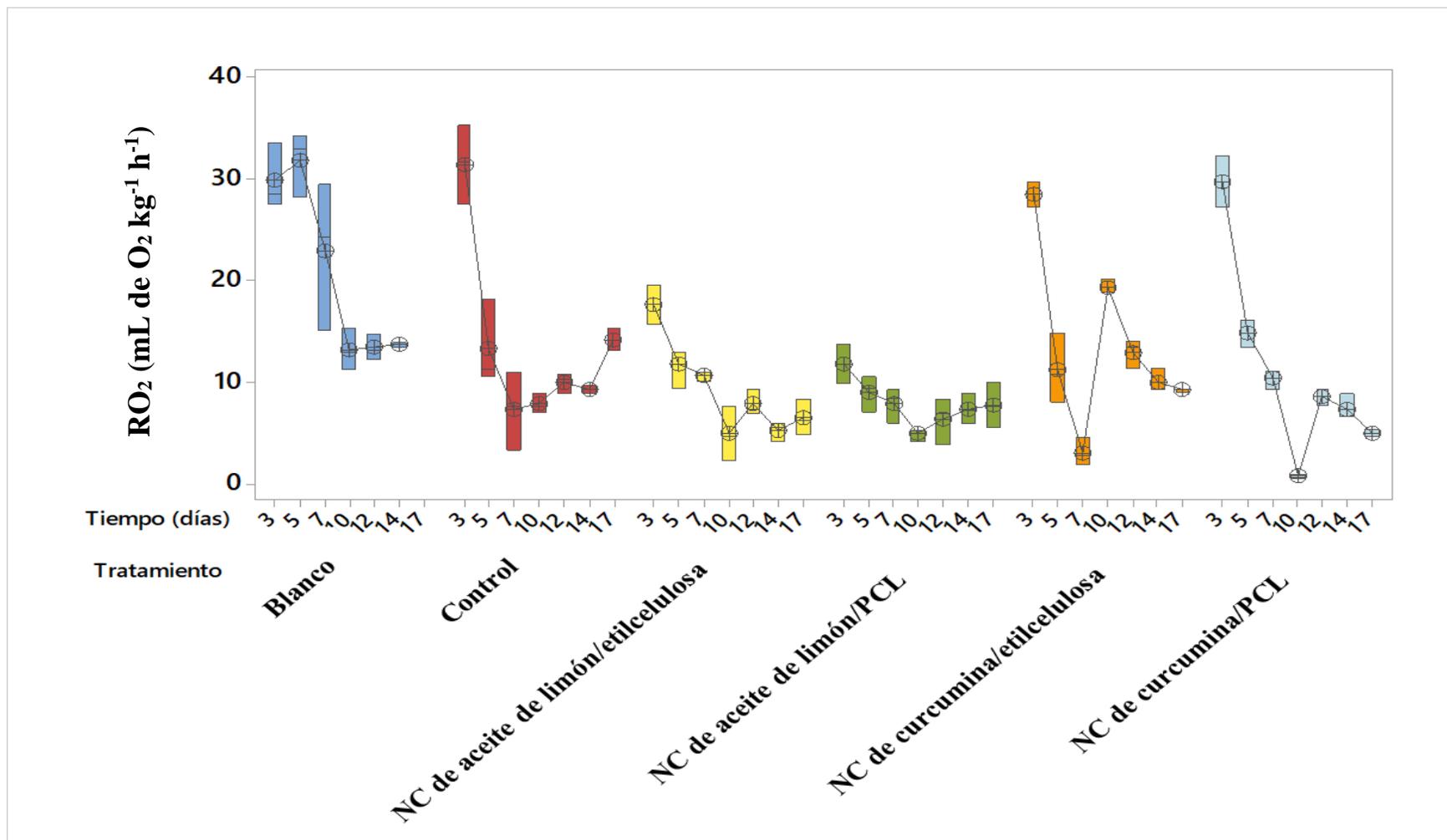


Figura 20: Velocidad de consumo de O₂ de la papaya tratadas con nanopartículas conteniendo aceite de limón o curcumina. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl₂

Los resultados fueron estadísticamente significativos con respecto al sistema control y al tratamiento de CaCl_2 (Anexo A.6), indicando que las nanopartículas forman un recubrimiento sobre la superficie de la papaya troceada, limitando la difusión del O_2 y la respiración del producto. Además, es posible que el aceite de limón por sus características antimicrobianas destruya la membrana celular de los microorganismos alojados sobre la superficie de los cortes de la papaya con lo que se disminuye en gran medida la velocidad de respiración. Un comportamiento similar fue observado en nanopartículas de quitosana encapsulando aceite esencial de limón aplicadas como recubrimiento de fresas, donde se observó una reducción de la velocidad de consumo de oxígeno mucho menor que las nanopartículas de quitosana solo y que el sistema control (Perdones et al., 2012).

Para las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL se observó un decremento en el consumo de O_2 no teniendo diferencias estadísticamente significativas con respecto al lote control; sin embargo, sí mostraron diferencias significativas con respecto al lote blanco (Anexo A.6).

La tendencia en el consumo de oxígeno fue descendente, teniendo una velocidad de consumo de O_2 de 28.47 mL de $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para el tratamiento de curcumina/etilcelulosa y 29.71 mL de $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para el tratamiento formado por nanocápsulas de curcumina/PCL durante los primeros tres días de almacenamiento, disminuyendo a lo largo del periodo de almacenamiento hasta alcanzar valores de 9.22 y 4.91 mL de $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente.

Resultados similares han sido reportados en pepinos enteros recubiertos con nanopartículas de quitosana encapsulando aceite esencial de canela, donde se disminuyó la velocidad de respiración de los pepinos teniendo diferencias estadísticamente significativas con los pepinos no recubiertos, no observándose diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento de quitosana sin nanopartículas (Mohammadi et al., 2015).

4.6.4. Evolución de los cambios de color de la papaya fresca cortada y recubierta con los diferentes tratamientos

En la Figura 21 se presentan los resultados de la luminosidad de la papaya recubierta con las nanodispersiones y su comparación con la papaya únicamente tratadas con CaCl_2 y el sistema

blanco que no tuvo ningún tratamiento. El valor de L^* es un indicativo de la luminosidad de las frutas donde valores cercanos a cero indican poca luminosidad, mientras que valores cercanos a 100 demuestran alta luminosidad. Este parámetro en las frutas está relacionado con la formación o degradación de compuestos en el alimento, por ejemplo, la degradación de carotenoides disminuye la luminosidad de las muestras. En este sentido, para el lote blanco se observó una rápida disminución en la luminosidad de la papaya. El valor promedio inicial de luminosidad fue 51.59, reduciéndose drásticamente durante los primeros 3 días y alcanzando un valor promedio de $L^* = 34.34$, manteniéndose después en los siguientes días de almacenamiento, donde se determinó un valor de L^* promedio de 36.5 en el día 14 de almacenamiento.

El comportamiento de la papaya que no tuvo ningún tratamiento es atribuido a que la pérdida de las barreras físicas permite una mayor difusión del oxígeno hacia el tejido expuesto. Esto da lugar a la descomposición de los componentes de la papaya, en especial los carotenoides que dan el color rojo a la fruta. Así mismo, aumentan las reacciones de oxidación de los fenoles lo que produce un incremento en el oscurecimiento de las muestras. Un comportamiento similar ha sido observado por González-Aguilar et al. (2009) en papaya recubierta con quitosana de diferentes masas moleculares, donde la papaya troceada sin tratamiento tuvo una drástica disminución en el valor de L^* durante los primeros 3 días de almacenamiento reduciéndose el valor de luminosidad desde 53 hasta 44, mientras que la papaya con quitosana de masa molecular media tuvieron los mejores resultados en la preservación de la luminosidad.

Las muestras control tuvieron un descenso gradual de la luminosidad a lo largo del almacenamiento, con una velocidad de cambio en el valor de L^* de $-1.23 L^*/\text{día}$ hasta el día 5. Posteriormente, la velocidad de cambio aumentó a $1.62 L^*/\text{día}$ en el día 7, en menor medida que para el tratamiento blanco. El análisis estadístico mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto al sistema blanco (Anexo A.7), por lo que el tratamiento de CaCl_2 disminuye los cambios de coloración de la papaya fresca cortada almacenada durante 17 días. Este efecto es atribuido a que el CaCl_2 produce la gelación de las pectinas formando pectatos, produciendo un recubrimiento en la estructura celular de la papaya.

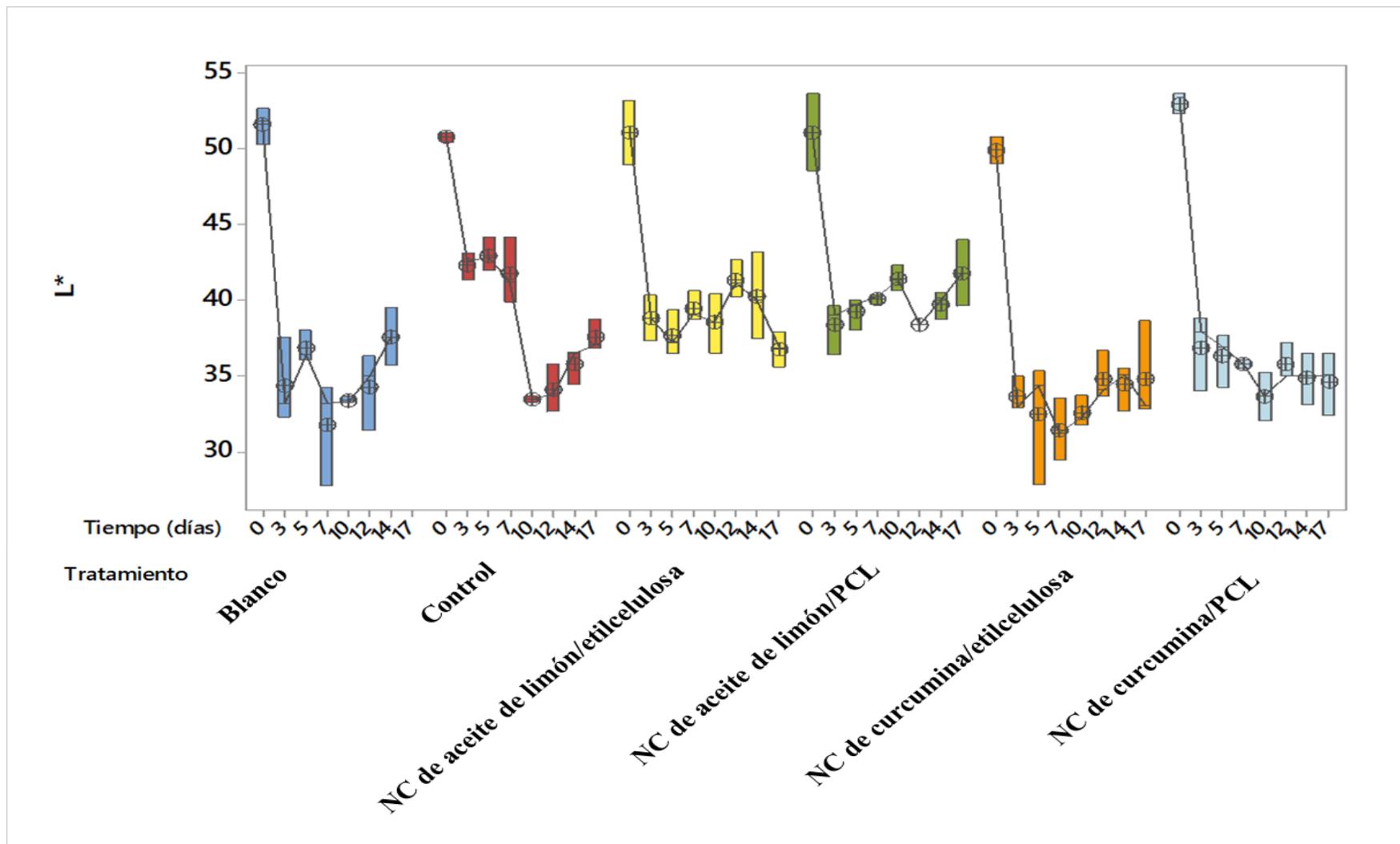


Figura 21: Evolución en los valores de L* de la papaya recubierta con los diferentes sistemas nanocapsulares. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl₂

Estos pectatos disminuyen la respiración debido a un claro decremento en la difusión del oxígeno en el fruto cortado y la diferencia en la cantidad de oxígeno permitió una conservación de los componentes de la papaya como los carotenos. Para papaya ‘Maradol’ tratada con una solución de CaCl_2 se ha observado un mantenimiento de la luminosidad comparada con el sistema sin tratamiento (Ayón-Reyna et al., 2015). Para los tratamientos de nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y aceite de limón/PCL se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto de los tratamientos ($p < 0.05$) (Anexo A.7).

Los resultados indican que los sistemas fueron efectivos para mantener la luminosidad de la papaya, por lo que fueron capaces de limitar la transferencia de gases en especial del oxígeno. Como resultado, se redujo la oxidación de los carotenoides que le dan el color rojo a la fruta, así como la formación de compuestos oscuros provocados por la enzima polifenoloxidasas. Por tanto, los tratamientos compuestos por nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa o aceite de limón/PCL son efectivos para disminuir los cambios asociados con el deterioro del producto.

Para papaya ‘Formosa’ fresca cortada recubierta con montmorillonita (TP=100 nm) soportadas en un recubrimiento formado por un aislado de proteína de corvina, se observó que, si bien la luminosidad en la papaya disminuyó, fue en mucho menor medida que en la papaya sin tratamiento. Además, se tuvieron mejores resultados comparados con la papaya troceadas y tratada con el aislado de proteína sin nanopartículas (Cortez-Vega et al., 2014).

Los tratamientos de nanocápsulas curcumina/etilcelulosa y etilcelulosa/PCL mostraron mayores cambios en los valores de luminosidad, disminuyendo rápidamente durante los primeros días de almacenamiento, donde el comportamiento en el valor de L^* permaneció prácticamente constante durante el resto del almacenamiento. El análisis estadístico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las nanocápsulas conteniendo curcumina, el sistema control y el sistema blanco (Anexo A.7).

Este efecto es atribuido a que las nanopartículas depositadas sobre la superficie de la papaya no tuvieron la capacidad de disminuir la respiración. Como el O_2 contenido en la parte superior del envase (*head space*) se encontró mayoritariamente disponible, causó con ello

una oxidación de los componentes que dan color a la papaya, como los carotenoides o la formación de pigmentos oscuros por efecto de la actividad polifenoloxidasas. La adición de compuestos liposolubles en los recubrimientos comestibles puede modificar en cierta medida las propiedades de permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos formados, como ha sido observado por Perdonés et al. (2014), donde la adición de aceite de canela con o sin ácido oleico en una matriz de quitosana, disminuyó de manera significativa la permeabilidad al oxígeno en comparación con la película de quitosana sin los aceites.

4.6.5. Cambios en el valor de a^* de la papaya recubiertas con las nanodispersiones

En la Figura 22 se presentan los resultados con respecto a los valores de a^* obtenidos de la superficie de los trozos de papaya con los diferentes tratamientos y almacenados durante 17 días en refrigeración. El valor de a^* indica los cambios de color rojo a verde donde valores positivos indican colores rojos mientras que valores negativos indican coloraciones verdes.

En la papaya troceada del lote blanco, el valor de a^* tuvo una tendencia decreciente durante el tiempo de almacenamiento, donde la velocidad de disminución en el valor de a^* fue de $-0.68 a^*/día$ alcanzando un valor promedio al final del periodo de almacenamiento de 19.89.

Los cambios en el valor de a^* indican una pérdida del color rojo de la papaya, lo cual puede ser atribuido a la oxidación de los carotenos que le dan la pigmentación al fruto, debido a la inexistencia de barreras que puedan interferir en la distribución del O_2 dentro de los tejidos de la papaya. Así mismo, no se observó una disminución tan grande en este parámetro, a diferencia de que en la papaya tratada con nanocápsulas debido a que la formación de compuestos oscuros en el tejido puede modificar los valores medidos de a^* , como ha sido observado en manzana fresca cortada donde el aumento en los valores de a^* están correlacionados con la formación de compuestos oscuros sobre la superficie de las manzanas (Zambrano-Zaragoza et al., 2014b). Para la papaya troceada control se observó una menor disminución en el valor de a^* durante el periodo de almacenamiento. El valor disminuyó a una velocidad de $-0.59 a^*/día$, siendo ligeramente menor a la velocidad de disminución de a^* para la papaya troceada del lote blanco.

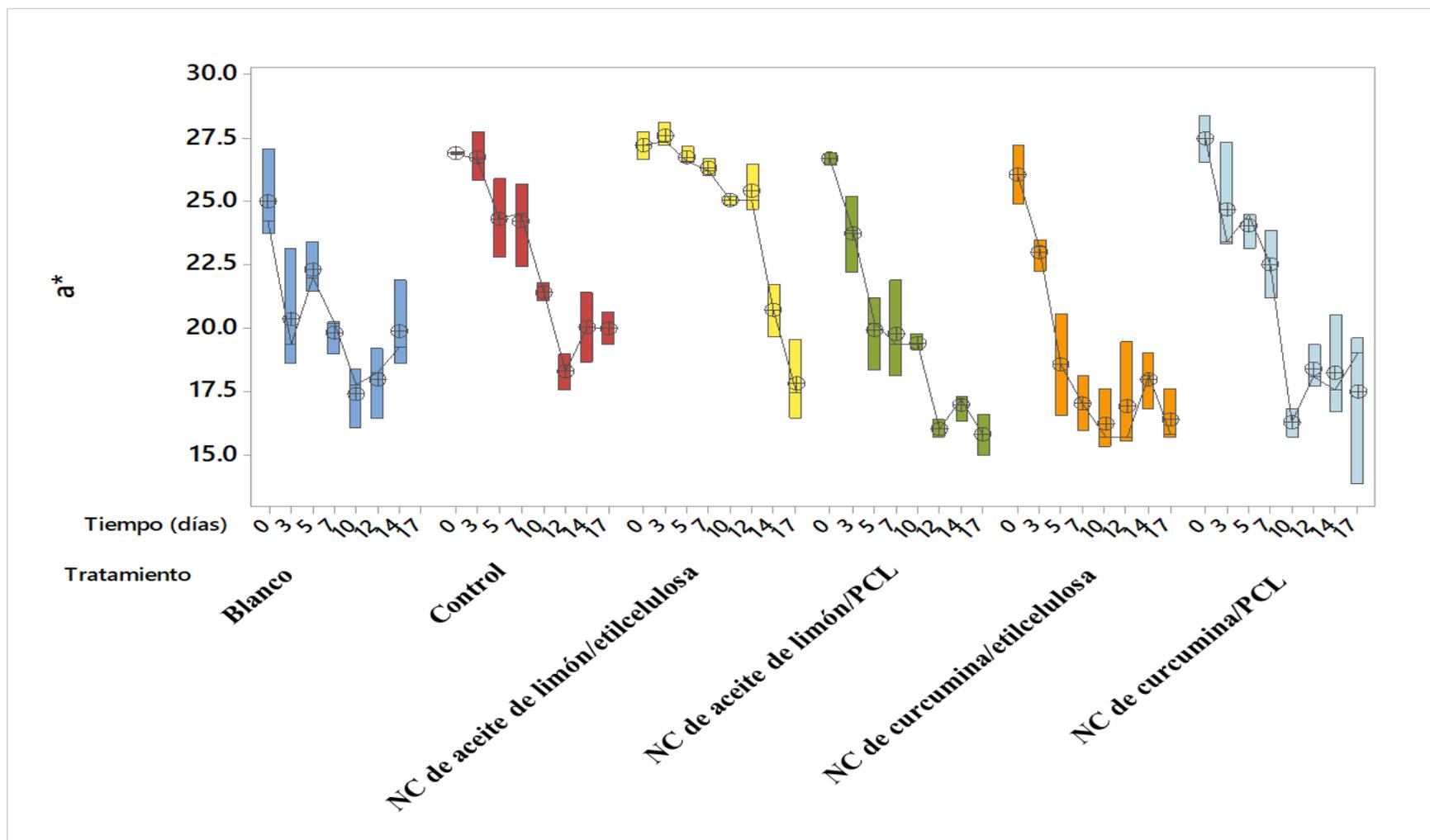


Figura 22: Cambios en los valores de a^* de la papaya recubiertas con los diferentes sistemas nanocapsulares. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl_2

Además, los trozos de papaya tratados con CaCl_2 fueron significativamente diferentes a los trozos de papaya tratados con nanocápsulas de curcumina/PCL, nanocápsulas de aceite de limón/PCL y nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa (Anexo A.8).

Las pocas variaciones en el valor de a^* en la papaya control (a diferencia de la papaya con nanocápsulas) puede ser atribuido a la formación de compuestos oscuros sobre la superficie cortada de la fruta por efecto de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas, provocando con ello un mantenimiento en el valor de a^* , pero debido a la presencia de melaninas, lo que no es deseable, ya que cambia el color final del producto.

Para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se observó una menor disminución en el valor de a^* teniendo una velocidad de cambio de $-0.33 a^*/\text{día}$, lo que indica que el tratamiento fue capaz de disminuir el deterioro de la papaya.

Así mismo el análisis de medias demostró que tuvo diferencias estadísticamente significativas con todos los otros tratamientos (Anexo A.8), sugiriendo que el tratamiento fue capaz de generar una barrera entre la papaya y el medio, disminuyendo con ello el ingreso de O_2 a los tejidos, con lo que se abate la respiración del fruto, los cambios de coloración debido a la oxidación de los carotenos y la formación de compuestos oscuros debido a la polifenoloxidasas.

En cambio, el tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón/PCL mostró una disminución en el valor de a^* , teniendo una velocidad de cambio de $-0.77 a^*/\text{día}$ durante los primeros 12 días de almacenamiento. Después de este tiempo, la velocidad de cambio se modificó a $-0.38 a^*/\text{día}$. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas con respecto al sistema blanco (Anexo A.8). Para la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina ya sea formadas con etilcelulosa o con PCL se observó una disminución del valor de a^* durante todo el periodo de almacenamiento.

Los trozos de papaya con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa presentaron una velocidad de cambio de $-0.82 a^*/\text{día}$ desde el día cero hasta el día 12, mientras que para los de la papaya con nanocápsulas de curcumina/PCL tuvieron una velocidad de cambio de $-0.95 a^*/\text{día}$ en el mismo intervalo de tiempo.

Esto sugiere una mayor pérdida del color rojo en la papaya, posiblemente por la oxidación de los carotenos. Sin embargo, los menores valores de a^* encontrados son atribuidos a que, con los tratamientos nanocapsulares, se disminuye la actividad polifenoloxidasas impidiendo la formación de melaninas que puedan interferir en las mediciones del valor de a^* .

Por tanto, los sistemas nanométricos fueron capaces de disminuir la aparición de compuestos oscuros en la papaya, con lo que su color puede ser preservado en mayor medida, a diferencia de la papaya sin nanocápsulas.

4.6.6. Cambios en los valores de b^* de la papaya recubiertas con las diferentes nanodispersiones

En la Figura 23 se presentan las gráficas de cajas para la evolución de los valores de b^* durante todo el periodo de almacenamiento. La escala de b^* varía desde valores positivos que indican colores amarillos a valores negativos donde los colores tienden a ser azules.

Para la papaya sin ningún tipo de tratamiento se observó una disminución rápida en el valor de b^* durante los primeros días de almacenamiento teniendo una velocidad de cambio de $-1.66 b^*/\text{día}$, permaneciendo prácticamente constante hasta los 14 días de almacenamiento, teniendo un porcentaje de pérdida del 42.1% respecto a su condición inicial.

En papaya empaquetada en bolsas de PVC con 15 microperforaciones se ha observado un porcentaje de disminución en el valor de b^* del 36.94% con respecto a su estado en el día cero, después de 9 días de almacenamiento, obteniéndose también un incremento en el oscurecimiento para el sistema con mayor número de microperforaciones lo que produce una mayor exposición al oxígeno, con la subsecuente activación de la polifenoloxidasas y la formación de melaninas (Jayathunge et al., 2014).

Así mismo, Waghmare y Annapure (2013) observaron una rápida disminución en el valor de a^* , teniendo un valor final de 20.97 en 10 días de almacenamiento con un porcentaje de pérdida del parámetro b^* de 21.16%.

Para la papaya troceada y tratada con CaCl_2 la velocidad de cambio en el valor de b^* fue de -0.90 durante los primeros 12 días de almacenamiento.

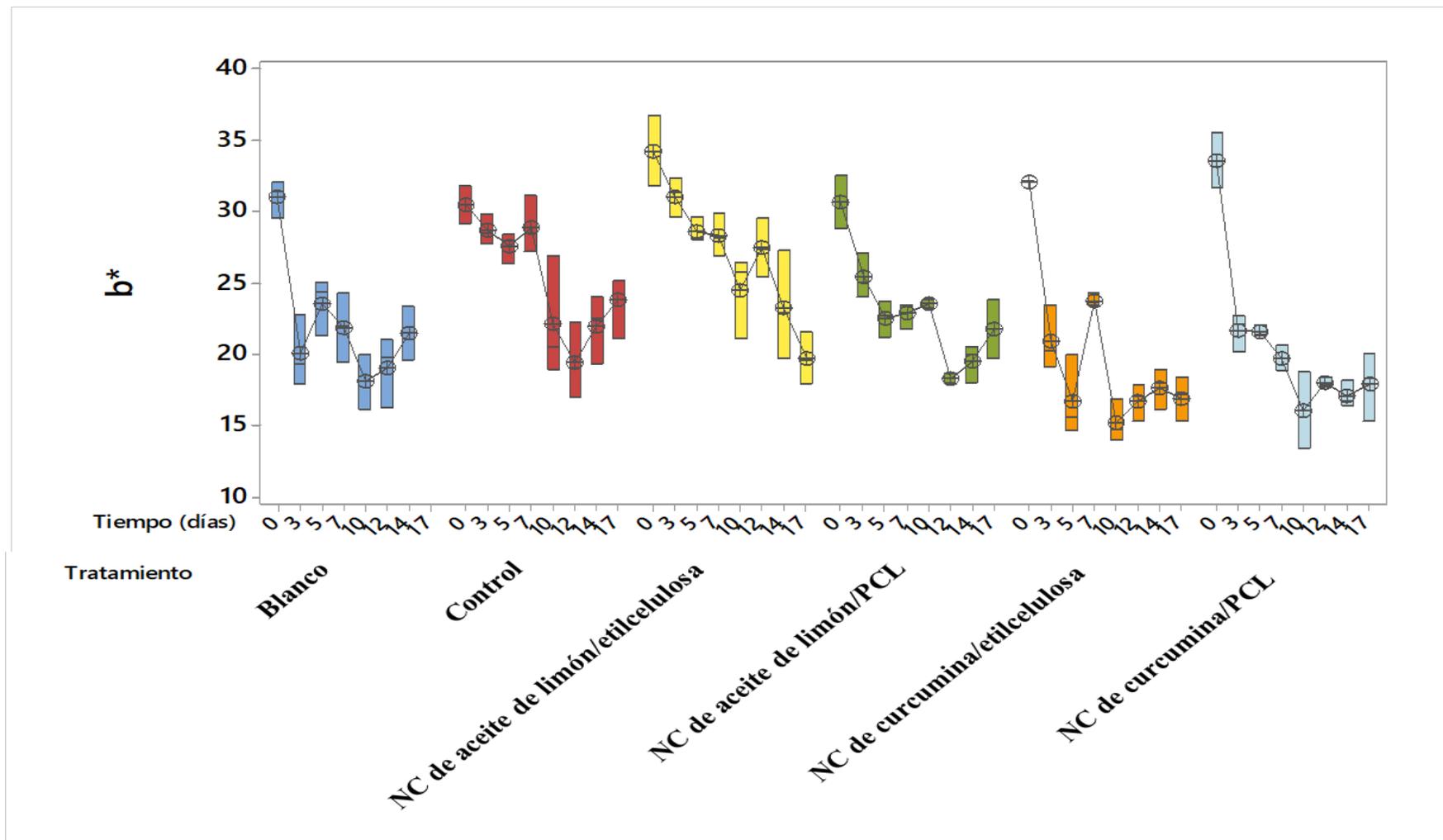


Figura 23: Cambios en el valor de b^* en la papaya tratada con los diferentes sistemas. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl_2

Posteriormente la velocidad de pérdida en el valor de b^* se redujo considerablemente durante los últimos días de prueba alcanzando una velocidad de pérdida de menor a 0.2. Con ello se alcanzó un valor promedio de b^* de 23.74 en el día 12, teniendo un porcentaje de pérdida en el valor de b^* del 34% con respecto a su estado inicial.

El análisis estadístico demostró diferencias significativas con respecto al sistema blanco (Anexo A.9). Por ello, el tratamiento de CaCl_2 tuvo la capacidad de disminuir la pérdida del color amarillo en la papaya manteniendo, de esta manera las características de color de la papaya en comparación con el sistema blanco. La menor disminución en el valor de b^* indica una mayor conservación del color amarillo de las muestras.

Esto ha sido observado en papaya fresca cortada, tratada con CaCl_2 , donde el valor de b^* disminuyó hasta 18.53 después de 25 días de almacenamiento teniendo con ello un porcentaje de pérdida del valor b^* del 22%. Resultados similares han sido obtenidos para papaya ‘Maradol’ troceada y tratada con una solución hidrotérmica de CaCl_2 , donde se observó que el tratamiento químico mantiene en mayor medida el valor de b^* con respecto al sistema control, teniendo aproximadamente una pérdida del valor de b^* del 15% después de 10 días de almacenamiento refrigerado (Ayón-Reyna et al., 2015).

En la papaya troceada recubierta con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se observó una tendencia descendente a lo largo del almacenamiento con una velocidad de disminución del valor de b^* de $-0.72 b^*/\text{día}$. Se alcanzó un valor final de 19.66, presentando una pérdida del valor de b^* del 8.78% en el día 12 y del 34.5% en los 17 días de almacenamiento refrigerado. Estas pérdidas fueron estadísticamente significativas con respecto al control y a la papaya blanco (Anexo A.9).

Este comportamiento es atribuido a la capacidad de las nanocápsulas de limitar el intercambio de oxígeno entre la papaya troceadas y el ambiente lo que permite mantener las características sensoriales del producto. Una menor presencia de O_2 en los tejidos cortados disminuye la oxidación de los compuestos que le dan color a la fruta como los carotenos, así como una disminución de las actividades de enzimas implicadas en la formación de compuestos oscuros como las polifenoloxidasas (Toivonen y Brummell, 2008).

Para plátanos recubiertos con liposomas contenido aceite de romero se ha observado un mantenimiento en el color de los plátanos que fue correlacionado con una disminución de la polifenoloxidasa (Alikhani-Koupaei, 2015).

Por otra parte, para las nanocápsulas de aceite de limón/PCL se observó una disminución del valor de b^* mayor en durante los primeros 12 días teniendo una velocidad de cambio de $-0.84 b^*/día$. Posteriormente la velocidad disminuyó alcanzando valores de $-0.11 b^*/día$. Se alcanzó un porcentaje de pérdida en el valor de b^* del 27.83% en el día 12 de almacenamiento.

El análisis estadístico demostró que la papaya troceada con el recubrimiento de nanocápsulas aceite de limón/PCL tienen diferencias estadísticamente significativas con respecto del lote blanco, pero no se obtuvo significancia con respecto al control (Anexo A.9).

El recubrimiento logró mantener el valor de b^* con respecto al blanco, por lo que se puede considerar efectivo para disminuir los cambios asociados al deterioro del producto, pero con menor capacidad que el recubrimiento de nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa.

Los recubrimientos de nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y curcumina/PCL aplicados como recubrimiento sobre trozos de papaya mostraron ser los tratamientos menos efectivos. Para la papaya con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa se observó una rápida disminución en el valor de b^* durante los primeros 12 días de almacenamiento con una velocidad de pérdida de $-1.1 b^*/día$. Después del día 12 la velocidad de pérdida de b^* se modificó hasta alcanzar un valor de -0.25 .

Un comportamiento similar fue observado en la papaya con nanocápsulas de curcumina/PCL donde la velocidad de cambio en el valor de b^* durante los primeros 12 días fue de $-1.2 b^*/día$. Los porcentajes de pérdida del valor de b^* calculados al día 12 fueron del 48.1% para las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y de 46.5% para las nanocápsulas de curcumina/PCL.

Los tratamientos conteniendo curcumina no presentaron diferencias significativas entre ellos (Anexo A.9), pero sí con entre el resto de los sistemas probados. La disminución extra observada en los tratamientos de nanocápsulas puede ser debido a la descomposición de los

constituyentes de la curcumina que le dan su color amarillo característico como la desmetoxicurcumina, la curcumina y la bisdesmetoxicurcumina, que pueden ser fácilmente descompuestos por efecto de la luz (Price y Buescher, 2007).

Los procesos autooxidativos que pueden tardar desde varios días (Schneider et al., 2015), provocando la pérdida del color amarillo en las muestras. Las nanocápsulas de aceite de limón conformadas ya sea por etilcelulosa o PCL mostraron disminuir la pérdida de amarillamiento de la papaya fresca cortada y pueden ser útiles para conservar otros alimentos.

4.6.7. Cambios en la firmeza de la papaya fresca cortada

La firmeza de la papaya se determinó durante 17 días de almacenamiento refrigerado. Los resultados se presentan en la Figura 24.

La papaya tratada con las nanopartículas tuvo un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$) con respecto a la firmeza y el tiempo de almacenamiento (Anexo A.10). En la papaya blanco se observó que la firmeza disminuyó rápidamente durante los primeros 3 días de almacenamiento encontrándose una firmeza promedio de 3.35 N en el día cero, mientras que al día 3 tuvieron una firmeza promedio de 1.07 N lo que indica que en los primeros días de almacenamiento la papaya blanco pierde hasta el 68% de la firmeza con respecto a su estado inicial. Este comportamiento es atribuido a que las enzimas pectolíticas en la papaya sin ningún tipo de tratamiento tienen una actividad mucho mayor que en la papaya tratada, ya sea con CaCl_2 o con nanocápsulas.

Este comportamiento ha sido ampliamente estudiado en papaya. Por ejemplo, en papaya de la variedad 'Sunrise Solo' sin ningún tratamiento se observó una pérdida de firmeza de alrededor del 50% en los primeros dos días de almacenamiento disminuyendo desde 4.7 a 2.5 N (Ergun et al., 2006).

Así mismo, González-Aguilar et al. (2009) observaron una disminución de la firmeza de papaya fresca cortada sin ningún tratamiento, donde la firmeza de la papaya 'Maradol' en el día cero fue de alrededor de 10-11N mientras que al tercer día de almacenamiento se encontró una firmeza ligeramente superior a los 4N, lo que indica una pérdida de firmeza de alrededor del 64% en los primeros días de almacenamiento.

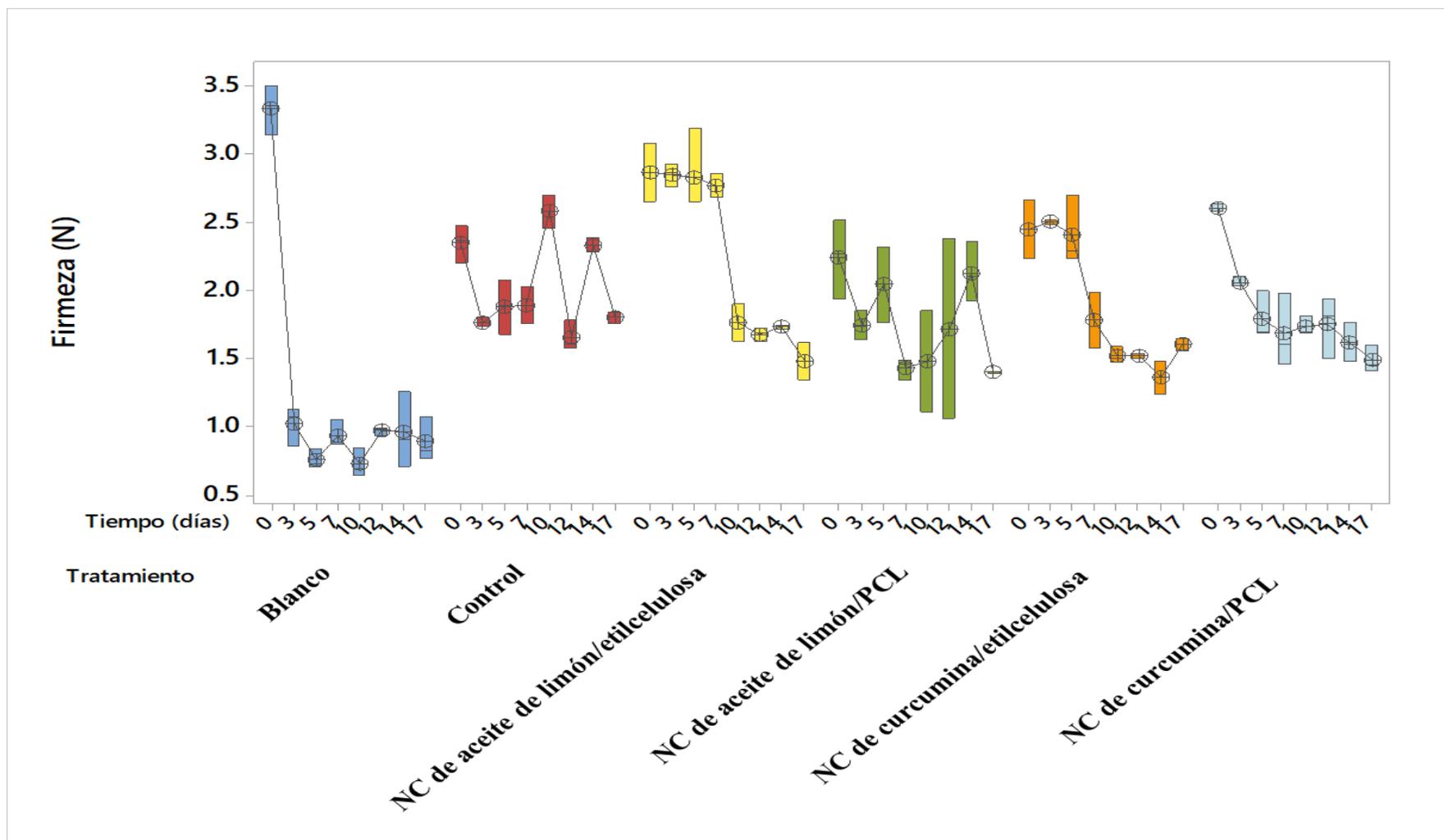


Figura 24: Firmeza de la papaya recubierta con las diferentes dispersiones durante 17 días de almacenamiento. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl_2

El sistema control, tuvo una reducción de la firmeza de del 32% después de 17 días de almacenamiento, mostrando además un incremento en la firmeza durante los primeros días, lo que es atribuido a la activación de las enzimas pécticas como la pectinmetilesterasa (como resultado del procesamiento mínimo) que provoca la desmetilación de las cadenas de homogalacturonanos.

Después de haber sido desmetiladas las pectinas y debido a la presencia de CaCl_2 , se produce un entrecruzamiento entre el CaCl_2 y los grupos carboxilo terminales en las cadenas dando lugar al modelo de gelación conocido como “caja de huevo” (Rojas-Graü et al., 2009). Esto genera un incremento en la firmeza durante los primeros 9 días. Posteriormente, la firmeza de la papaya control cae drásticamente debido a la acción de las enzimas pécticas en especial de la poligalacturonasa que produce la hidrólisis de las pectinas desmetiladas, Esto lleva a tener una menor firmeza sobre la superficie de la papaya troceada. El análisis estadístico mostró que los tratamientos y el tiempo de almacenamiento tienen un efecto significativo ($p < 0.005$) en la pérdida de firmeza (Anexo A.10).

Un incremento en la firmeza de papaya ‘Formosa’ fresca cortada cuando se utiliza una solución de CaCl_2 ha sido reportado por Albertini et al. (2016), donde la firmeza se incrementó hasta el día 12 de almacenamiento, observándose un posterior descenso de este parámetro. De igual manera, para papaya troceada tratada con CaCl_2 y ácido cítrico empacadas en bolsas con una atmósfera de aire se encontró una disminución de la firmeza del 20% durante los primeros 5 días de almacenamiento y del 55% después de 20 días de prueba (Waghmare y Annapure, 2013).

Para la papaya troceada tratada con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa se observaron pocos cambios en la pérdida de firmeza durante los primeros 5 días de almacenamiento. El porcentaje de pérdida con respecto a su valor inicial fue de apenas el 9%. Sin embargo, la firmeza decayó hasta 1.57 N en el día 7 con un porcentaje de pérdida de firmeza del 26% y alcanzando un valor final del 36%. Esto indica que el recubrimiento de nanocápsulas fue capaz de retener la firmeza de la papaya fresca cortada durante 17 días de almacenamiento refrigerado. Además, se observaron diferencias estadísticamente

significativas (Anexo A.10) cuando se compararon los lotes de papaya blanco y de papaya control ($p < 0.05$).

Los resultados sugieren que las nanopartículas de aceite de limón forman un recubrimiento en la superficie cortada de la papaya limitando con ello la transferencia de gases entre el medio y la papaya, lo que da lugar a la disminución del metabolismo y la disminución en la actividad de las enzimas pécticas relacionadas con los cambios en la firmeza de la papaya. Para papaya recubierta con nanocompositos compuestos por aislados de proteína de corvina blanca y montmorillonita se encontró una pérdida de firmeza de apenas 17% en comparación de las muestras no tratadas que tuvieron una pérdida de firmeza del 69.76% después de 12 días de almacenamiento refrigerado (Cortez-Vega et al., 2014).

Para pepinos tratados con nanopartículas de quitosana conteniendo aceite esencial de canela se ha encontrado una disminución en la pérdida de firmeza entre el 13 y 16%, indicando que los sistemas nanocapsulares conteniendo aceites esenciales son útiles para mantener las características texturales de los productos hortofrutícolas (Mohammadi et al., 2015).

Los trozos de papaya tratados con nanocápsulas de aceite de limón/PCL tuvieron un comportamiento similar a los de papaya cubiertos con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, mostrando pocas variaciones en la pérdida de firmeza, observándose una velocidad de cambios de 0.017 N/día durante el periodo de almacenamiento.

Se obtuvo una firmeza en el día 17 de 1.54 N con una pérdida de firmeza con respecto a su estado inicial del 32%. El tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón/PCL no mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con su similar pero formadas con etilcelulosa ($p > 0.05$) (Anexo A.10).

De igual manera se puede describir que las nanocápsulas de limón/PCL tuvieron la capacidad de mantener la firmeza de la papaya fresca cortada. Para papaya ‘Sinta’ fresca cortada y recubierta con nanoquitosana se observó un comportamiento similar, indicando que los nanosistemas son capaces de disminuir la pérdida de firmeza de la papaya (Allanigue et al., 2017).

Para la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa se observó una disminución periódica de la firmeza alcanzando un valor final 1.44 N, que significó una pérdida de firmeza del 39% con respecto a un estado inicial, disminuyendo el porcentaje de pérdida en más de 20% con respecto al sistema sin tratamiento, lo que indica que el tratamiento es eficaz para mantener la firmeza de la papaya.

Sin embargo también se observó un mantenimiento de la firmeza en los primeros cinco días de almacenamiento con poca variación en los valores de firmeza dado que la velocidad de reducción fue 0.0056 N/día. El comportamiento es atribuido a la formación de un recubrimiento en la superficie de la papaya que reduce la pérdida de firmeza en la papaya.

Además, la capacidad antioxidante de la curcumina puede ayudar a mantener la estructura de la membrana celular. Si bien la rápida aparición de especies oxidantes puede afectar la estructura de la membrana celular, los antioxidantes contenidos en las nanocápsulas pueden limitar la oxidación de los fosfolípidos y con ello mantener la estructura física de la papaya fresca cortada. Esto ha sido observado en papaya tratada con antioxidantes obtenidos de mango (Velderrain-Rodríguez et al., 2015b).

Por otra parte, para los trozos de papaya tratados con nanocápsulas de curcumina/PCL, presentaron velocidades de pérdida de firmeza de -0.038 N/día, obteniéndose una firmeza final de la papaya de 1.44 N en el día 17, presentando una pérdida de firmeza del 40%, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con los sistemas conteniendo aceite de limón (Anexo A.10).

Para manzana 'Red Delicious' fresca cortada, tratadas con nanocápsulas de α -tocoferol se ha encontrado que pueden reducirse las pérdidas de firmeza hasta un 28% con respecto a la condición inicial, en comparación con la manzana control tratada con CaCl_2 , donde la pérdida de firmeza fue del 63% con respecto de su estado inicial (Zambrano-Zaragoza et al., 2014b).

Las nanocápsulas conteniendo aceites esenciales y curcumina fueron capaces de mantener la firmeza de la papaya mejor que el control. El mejor el tratamiento fue el de nanocápsulas de aceite de limón comparado con el tratamiento de curcumina para mantener las características de firmeza de la papaya fresca cortada.

Los resultados fueron similares a lo reportado por Dhital et al. (2017), quienes encontraron una ligera mejoría en el efecto conservante de liposomas conteniendo limoneno en comparación con liposomas conteniendo curcumina aplicados sobre fresas.

4.7. Cambios bioquímicos de la papaya troceada recubierta con las nanodispersiones

4.7.1. Evolución de la actividad de la PME en la papaya tratada con las nanodispersiones

En la Figura 25 se presentan los valores de la papaya recubierta con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL y las muestras comparativas que fueron la papaya blanco, sin ningún tipo de tratamiento y la papaya control tratada únicamente con CaCl_2 .

El lote de papaya blanco que únicamente fue cortada y envasada tuvo un comportamiento creciente en la actividad de la PME durante los primeros días de almacenamiento refrigerado que está relacionado con la rápida disminución de la firmeza. Se alcanzó una actividad máxima PME de 1.44 U/mg de proteína en el quinto día de almacenamiento, reduciéndose después y teniendo una actividad en el día 17 de 0.29 U/mg de proteína.

Este comportamiento es atribuido a que en la papaya blanco se inducen los procesos de madurez provocados por los cortes, con lo que a su vez se incrementan las actividades de enzimas pectolíticas como la PME y la poligalacturonasa, dando lugar la modificación e hidrólisis de las pectinas (Toivonen y Brummell, 2008). La firmeza de la papaya fresca cortada se reduce drásticamente durante los primeros días de almacenamiento.

Un comportamiento similar fue reportado por González-Aguilar et al. (2009), donde la papaya ‘Maradol’ sin ningún tratamiento mostró un rápido incremento en la actividad de la PME durante los primeros 3 días de almacenamiento a comparación de la papaya tratada.

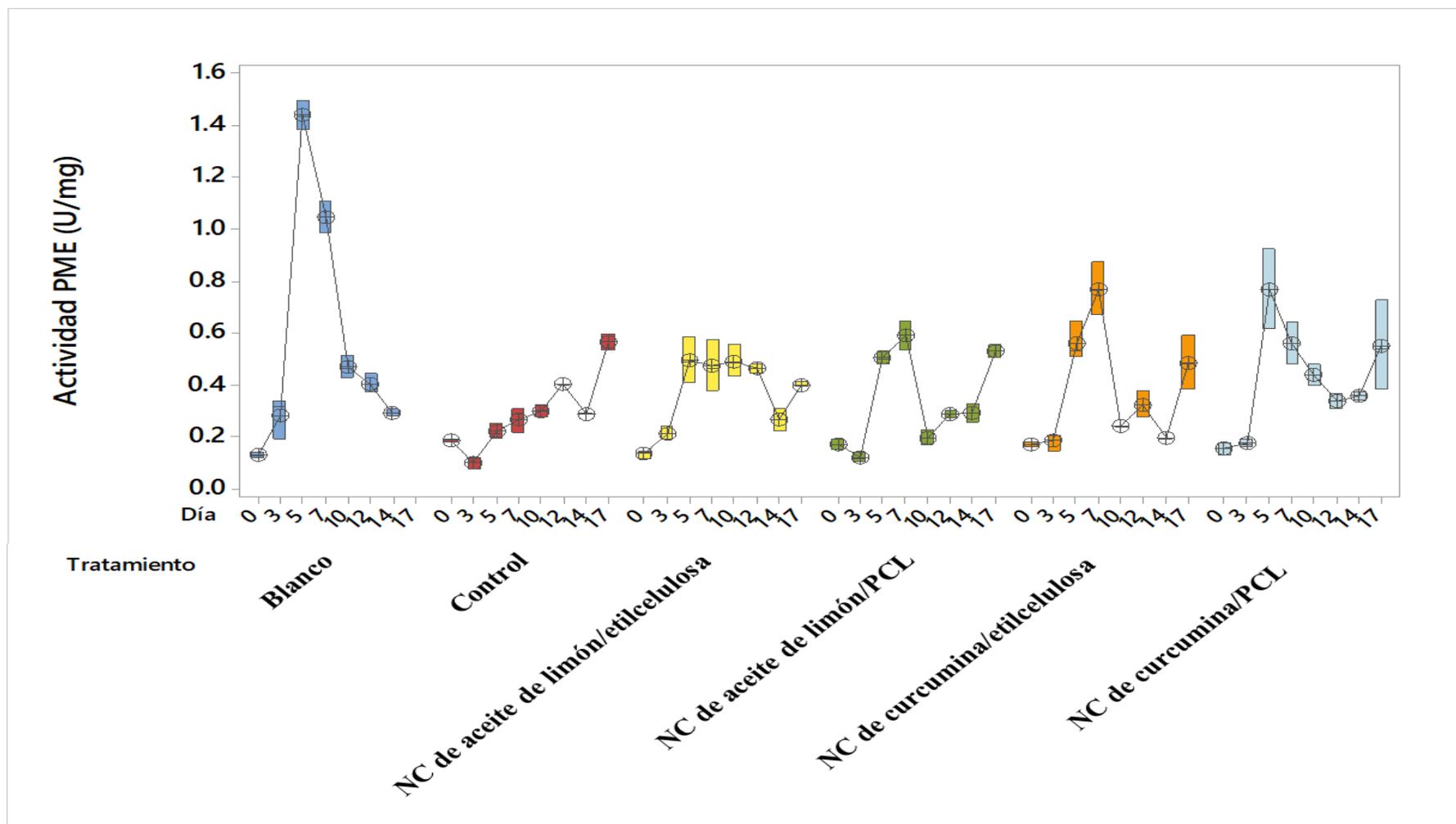


Figura 25: Cambios en la actividad de la enzima PME de la papaya tratada y almacenadas. Blanco: trozos sin ningún tratamiento.

Control: trozos tratados con CaCl_2

Así mismo, el daño en los tejidos provoca la rápida liberación de ácidos linolénico y linoleico a partir de los fosfolípidos contenidos en las membranas celulares por la actividad de lipooxigenasas, que funcionan como señalizadores químicos en la síntesis de enzimas ligadas a la pared celular (Karakurt y Huber, 2003). También, la hidrólisis de las pectinas debido a la actividad de enzimas pectolíticas como la PME y la poligalacturonasa, producen la liberación de oligogalacturónidos provocando la sobreexpresión de la PME.

Para la papaya control se observó una disminución de la actividad de la PME con respecto al blanco, encontrándose un incremento paulatino y alcanzando una actividad máxima de 0.56 U/mg de proteína al final del periodo de prueba. Este comportamiento es debido a que los compuestos divalentes como el Ca^{2+} interactúan con las pectinas desmetiladas de la papaya.

La papaya al tener un estado de madurez comercial (nivel 5). Su grado de esterificación de las pectinas solubles en agua se encuentra entre el 50 y 60% (Manrique y Lajolo, 2002). Esto promueve la desesterificación de la papaya por acción de la PME dando lugar a la formación de grupos carboxilo terminales y su posterior entrecruzamiento con los iones divalentes de Ca^{2+} , generando la estructura de ‘caja de huevo’.

Dicha estructura limita la hidrólisis de las pectinas por acción de la poligalacturonasa, manteniendo de esta forma la firmeza de la papaya, reduciendo también, la incidencia de los desórdenes fisiológicos provocados por los cortes (Jianglian, 2013). Además, la rigidez de la pared celular de la papaya debido a la formación de pectatos, puede modificar el intercambio de gases, con lo que se reduce la respuesta celular provocada por los daños. Esto es, se inhibe de cierta manera la descomposición de la membrana celular, disminuyendo la formación de nuevas enzimas pectolíticas que pudiesen degradar la pared celular.

Para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, se presentó un incremento en la actividad de la PME teniendo un valor máximo al quinto día de almacenamiento de 0.41 U/mg de proteína, manteniéndose en este nivel prácticamente durante el resto del periodo de prueba. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el blanco y el tratamiento de nanocápsulas aceite de limón/etilcelulosa; sin embargo, no se observaron

diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento compuesto por CaCl_2 ($p > 0.05$) (Anexo A.11). Se sugiere que el tratamiento inhibe en gran medida la expresión de la PME.

Así mismo, para las nanocápsulas de aceite de limón/PCL se encontró que la actividad PME fue baja durante los primeros días de almacenamiento presentando una actividad promedio de 0.14 U/mg de proteína. Sin embargo, en el séptimo día se observó un incremento considerable en la actividad alcanzando un valor de 0.59 U/mg de proteína, para después reducirse. Este comportamiento indica que las nanocápsulas de aceite de limón también inhiben la sobreexpresión de la PME.

De igual manera, el comportamiento de las nanocápsulas de curcumina formadas con etilcelulosa o PCL mostraron un máximo de actividad PME en el día cinco para las nanocápsulas de curcumina/PCL, teniendo una actividad promedio de 0.72 U/mg de proteína. Las nanocápsulas de curcumina PCL tuvieron un máximo de actividad en el día 7 con valores de 0.76 U/mg de proteína. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas con la utilización de las nanocápsulas conteniendo ya sea aceite de limón o bien curcumina (Anexo A.11).

4.7.2. Evolución de la actividad de la PFO

En la Figura 26 se presentan los resultados obtenidos para la actividad de la polifenoloxidasas en la papaya fresca cortada tratada con nanopartículas. Con la prueba de comparación de medias de Dunnett, se observó que los tratamientos tienen diferencias estadísticamente significativas con respecto al sistema blanco (Anexo A.12). Esto indica que los tratamientos utilizados incluyendo al CaCl_2 disminuyen la actividad de la PFO.

Para el sistema blanco se encontró que la actividad de la enzima PFO se incrementó durante los días 5 y 7 obteniéndose valores de actividad de 35.53 y 32.68 U/g de proteína. Posteriormente, la actividad de la PFO decayó teniendo valores menores a 1 U/g de proteína. Este comportamiento es atribuido a la inexistencia de alguna barrera física que limite el transporte de O_2 en el interior de la papaya, permitiendo en mayor medida la interacción del O_2 con la polifenoloxidasas y los compuestos fenólicos encontrados en el fruto. Se podría generar su vez, la formación de compuestos oscuros que modifican el color de las superficies cortadas, reduciendo con ello los valores de luminosidad de las muestras.

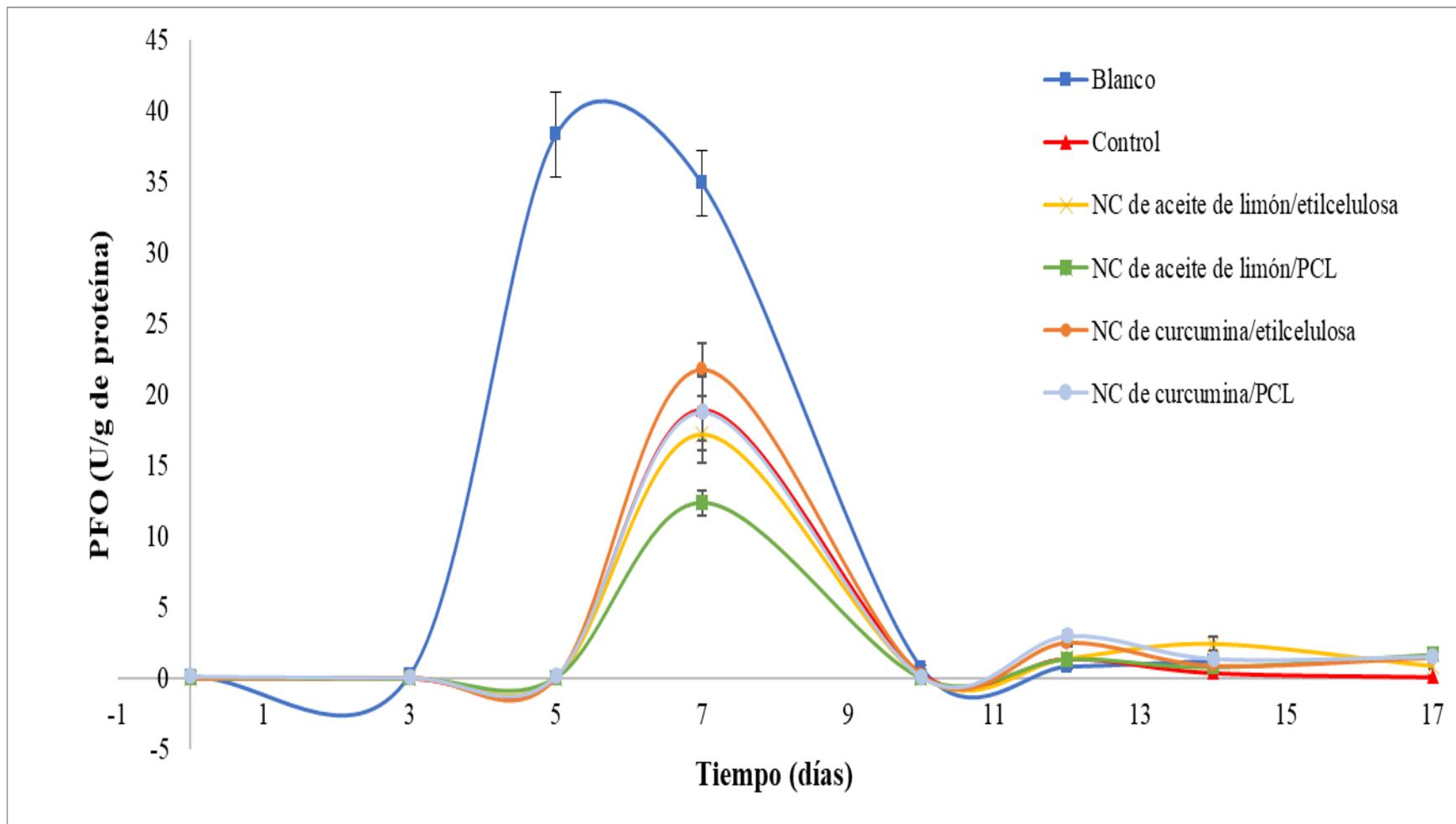


Figura 26: Evolución de la actividad enzimática PFO de la papaya recubierta y almacenadas en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl_2

Arjun et al. (2015) encontraron resultados similares en papaya sin ningún tipo de tratamiento donde la actividad de la PFO se incrementó durante los primeros días y disminuyó después de alcanzar un máximo de actividad, siendo significativamente mayor que la actividad PFO encontrada en papaya tratada con un recubrimiento de quitosana-soya, indicando que la menor actividad de la PFO es debida al efecto protector del recubrimiento que limita el suministro de oxígeno en el tejido con lo que se disminuye la actividad de la PFO, siendo el oxígeno un elemento clave en la el mecanismo de acción de la enzima.

Para las muestras tratadas con CaCl_2 se observó una disminución significativa de la PFO con respecto al sistema blanco, donde la máxima actividad PFO fue encontrada en el día 7, teniendo un porcentaje de inhibición de la PFO del 42%. Este comportamiento es debido al efecto del CaCl_2 que genera la formación de pectatos en la membrana celulares de la papaya debido a la interacción entre las pectinas y los iones divalentes de Ca^{2+} . El fundamento se basaría en los resultados de respiración, donde el tratamiento de CaCl_2 disminuyó de manera significativa la conversión de O_2 a CO_2 (Anexo A.5 y A.6), indicando que existe una barrera que limita la difusión del oxígeno dentro de los tejidos y con ello, la disminución de la actividad PFO en la papaya.

En manzana fresca cortada y tratada con CaCl_2 y ácido ascórbico, se observó un comportamiento similar encontrándose un máximo de actividad en el día 4. Para las muestras sin tratamiento, el máximo valor de actividad de la PFO fue encontrado en el día 3, por lo cual, el tratamiento químico fue capaz de mantener las características de la manzana. Sin embargo, el tratamiento químico combinado con un recubrimiento a base de quitosana fue mejor (Qi et al., 2011).

Para el tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y nanocápsulas de aceite de limón/PCL, de igual manera, se observó un aumento en la actividad PFO en el día 7 alcanzando valores de 17.14 y 12.35 U/g de proteína respectivamente. Se tuvo un porcentaje de inhibición del 47.55% para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y del 62.18% para las nanocápsulas de aceite de limón/PCL, encontrándose diferencias estadísticamente significativas (prueba de Tukey; $p < 0.05$) con respecto al sistema blanco y al control (Anexo A.12).

Estos resultados son atribuidos a que el tratamiento es capaz de formar un recubrimiento sobre la superficie cortada de la papaya. Ese recubrimiento limita en gran medida la transferencia de gases entre la papaya y el medio. Con ello se genera una atmósfera modificada en el tejido del fruto, lo que produce una disminución en la actividad de la PFO, menores cambios en el color debido a la disminución en la formación de compuestos oscuros y el mantenimiento de los componentes con valor biológico en la papaya fresca cortada.

Además, los aceites esenciales pueden inhibir la actividad de la PFO, como ha sido demostrado por Eissa et al. (2008) en jugo de manzana donde el extracto de aceite de pasto de limón tuvo un porcentaje de inhibición del 92%.

Respecto de la utilización de nanoestructuras para disminuir la actividad PFO, se ha encontrado que en manzana ‘Red delicious’ fresca cortada y tratada con nanocápsulas de α -tocoferol, la actividad de la enzima PFO fue retrasada con respecto al control de CaCl_2 (Galindo-Pérez et al., 2015).

La papaya fresca cortada tratada con nanocápsulas de curcumina, ya sea formadas con etilcelulosa o PCL presentaron una alta actividad de la PFO en el día 7 de almacenamiento. Se encontró una actividad de 21.7 U/g de proteína y 18.7 U/g proteína y un porcentaje de inhibición de 33.61 y 42.79%, respectivamente. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control ($p > 0.05$), pero el análisis fue significativo con respecto al sistema blanco ($p < 0.05$) (Anexo A.12).

Estos resultados son consistentes a los encontrados para la respiración donde, de igual manera, las nanocápsulas conteniendo curcumina no presentaron diferencias significativas con respecto al control, lo cual permite diferenciarlas con respecto de las nanocápsulas de aceite de limón (Anexo A.5 y A.6).

De esta manera, los tratamientos con curcumina no son tan efectivos para limitar la transferencia de gases en comparación con los sistemas que contiene aceite de limón. Una mayor cantidad de oxígeno en los tejidos de la papaya permite la activación de las enzimas PFO, aumentando con ello la aparición de compuestos oscuros, así como la disminución de los compuestos bioactivos en la papaya.

Para manzanas tratadas con nanoquitosana se ha encontrado de igual manera una ligera disminución en la actividad de la PFO, relacionándose con las propiedades de barrera al O₂ de la quitosana (Pilon et al., 2015).

4.8. Modificación de los compuestos químicos en la papaya fresca cortada y tratada con nanodispersiones

4.8.1. Contenido de fenoles totales en la papaya fresca cortada

En la Figura 27 se presentan los resultados de fenoles totales en la papaya fresca cortada sin tratar (blanco), tratada con CaCl₂ (control) y la papaya recubierta con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas cargadas con curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL, donde se observó que todos los tratamientos tuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al sistema blanco ($p < 0.05$) (Anexo A.13).

Para el sistema blanco que no contó con ningún tipo de tratamiento se observó un incremento en la cantidad de fenoles totales, donde hubo una tendencia ascendente durante todo el periodo de almacenamiento, presentándose una velocidad de producción de compuestos fenólicos a razón de 0.17 mg EAG/día.

El incremento en la cantidad de fenoles totales es atribuido a la degradación de la papaya tanto en la pared celular como en la membrana celular generando especies como oligogalacturónidos a partir de la hidrólisis de las pectinas o ácidos grasos libres como resultado de la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana celular de la papaya.

Las especies generadas sirven como señalizadores para la producción y activación de nuevas enzimas que están implicadas en los mecanismos de protección ante ataques de patógenos. En particular, los oligogalacturónidos inducen la formación y la activación de enzimas como la fenilalanina amonio-liasa, siendo la enzima clave en la ruta fenilpropanoide (o del ácido shikimico) produciendo una amplia variedad de compuestos fenólicos que después de ser polimerizados forman ligninas que obstruyen el ataque de los patógenos. Así mismo, la enzima chalcona metaboliza la producción de fitoalexinas que tienen actividad microbiana (Ridley et al., 2001).

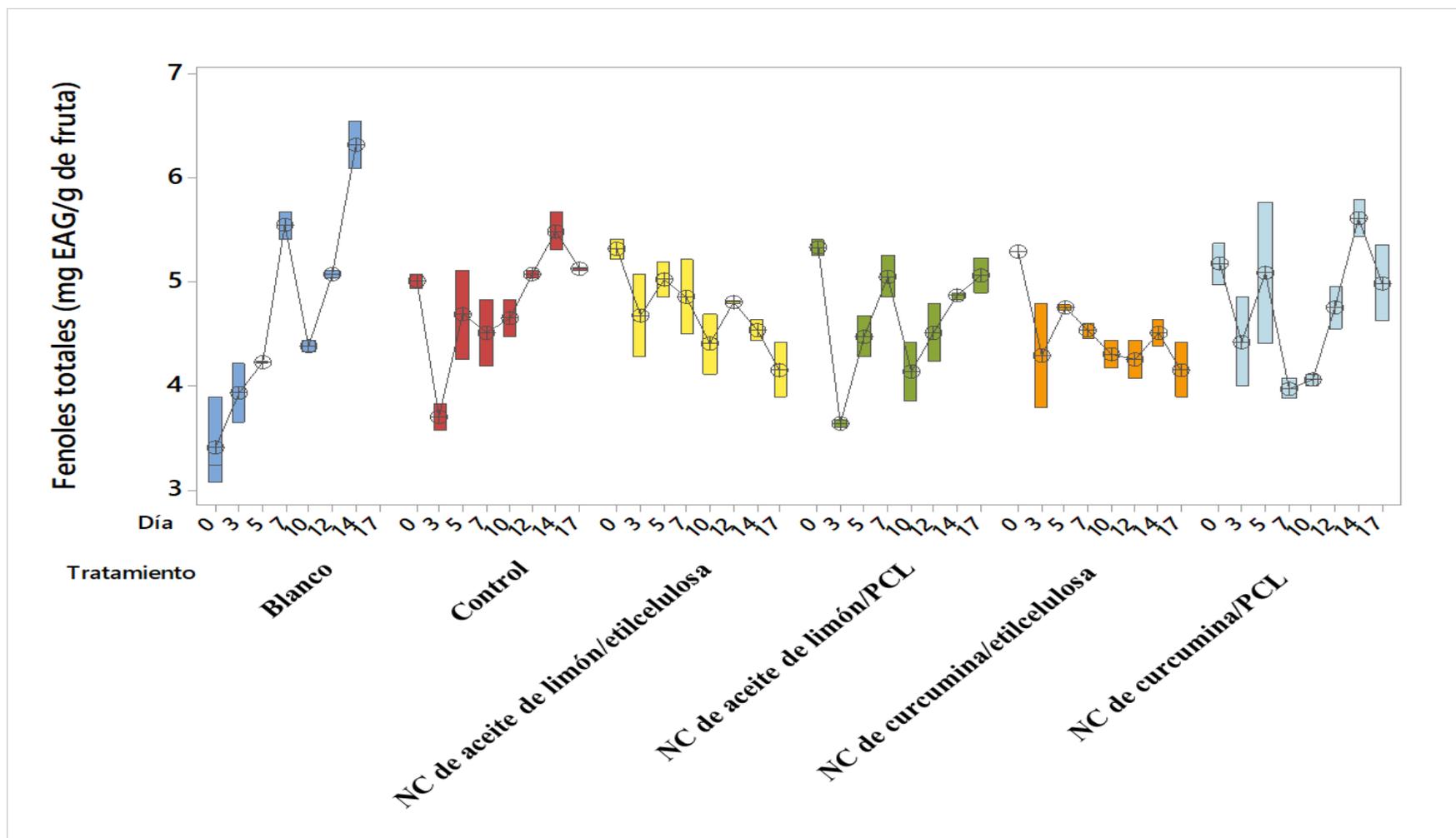


Figura 27: Contenido de fenoles totales en la papaya recubierta y almacenada en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento. Control: trozos tratados con CaCl_2

Para la papaya tratada únicamente con CaCl_2 , se encontró una disminución inicial de los compuestos fenólicos que es atribuido a la expresión de la PFO. Sin embargo, después del día tres se observa un incremento en la cantidad de compuestos fenólicos a una velocidad de acumulación de 0.06 mg EAG/día siendo mucho menor que el sistema blanco.

Este comportamiento indica que el tratamiento químico de CaCl_2 modifica la estructura de la pared celular de la papaya, ya que la adición de iones divalentes como el Ca^{2+} genera la formación de pectatos (Raybaudi-Massilia et al., 2010; Yang et al., 2017), limitando la hidrólisis de las pectinas por efecto de la galacturonasa, que a su vez inhibe la producción de oligogalacturonanos, disminuyendo la señalización celular, por consiguiente, la activación de las enzimas fenilalanina amonio-liasa y la formación de nuevos compuestos fenólicos.

En cambio, la tendencia para las nanocápsulas formadas por etilcelulosa ya sea conteniendo aceite de limón o curcumina fue ligeramente decreciente con respecto a la cantidad de compuestos fenólicos. En la papaya tratada con aceite de limón/etilcelulosa se observó una velocidad de disminución en la cantidad de fenoles totales de 0.0434 mg EAG/día.

Las nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa tuvieron una velocidad de 0.047 mg EAG/día. Este comportamiento es atribuido a la buena interacción entre la pectina encontrada en la pared celular de la papaya y la etilcelulosa (Macleod et al., 1997), logrando con ello la deposición de las nanopartículas en la superficie del fruto, disminuyendo la degradación de las pectinas y todas las reacciones de señalización involucradas en la síntesis de los compuestos fenoles totales. Para las nanopartículas conteniendo ya sea aceite de limón o curcumina formadas con PCL se observó una mayor variación en el contenido de compuestos fenólicos; sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las nanocápsulas preparadas con PCL o etilcelulosa.

Si bien el comportamiento es algo aleatorio, las nanocápsulas de PCL se pueden integrar a la superficie del fruto formando con ello un recubrimiento que minimiza la degradación de la papaya fresca cortada. En estudios recientes se han observado comportamiento similares donde nanocápsulas de α -tocoferol/PCL reducen la velocidad inicial de respiración y las actividades enzimáticas PME y fenilalanina amonio-liasa de manzana 'Red Delicious' fresca cortada (Galindo-Pérez et al., 2015; Zambrano-Zaragoza et al., 2014a).

4.8.2. Evaluación del contenido de carotenos

En la Figura 28 se presentan los resultados para la concentración de carotenos en la papaya almacenadas durante 17 días. Donde los tratamientos tuvieron una diferencia estadísticamente significativa con respecto al sistema control ($p > 0.05$) (Anexo A.14). El contenido de β -caroteno en la papaya cortada sin tratamiento decayó a lo largo del periodo de almacenamiento a una velocidad de reducción de 0.0033 mg de carotenos/día. Este comportamiento es atribuido a la degradación química de los carotenoides por efecto del oxígeno, siendo que la papaya sin tratamiento no tuvo ninguna barrera, aumentando su exposición al oxígeno, en consecuencia, la rápida oxidación de los carotenos.

Los tratamientos generan una barrera a la difusión del oxígeno, disminuyendo la oxidación de los carotenos y su preservación. Un comportamiento similar fue encontrado en papaya ‘Maradol’ empaquetada en bolsas tipo Ziploc® donde la papaya sin ningún tratamiento presentó una disminución considerable desde el día 3 de almacenamiento. Se redujo la concentración de carotenos hasta el 50% en el día 15, donde la degradación de los carotenos fue debida a la exposición de los tejidos al oxígeno provocando su descomposición por oxidación (Brasil et al., 2012; Rivera-López et al., 2005).

El tratamiento de CaCl_2 presentó una disminución en el contenido de carotenos durante los primeros 3 días, siendo atribuido a la oxidación de los carotenos por la luz, tiempo después se observó una tendencia creciente con respecto a la cantidad de carotenos aumentando hasta llegar a un contenido de carotenos de 0.12 mg de caroteno en el día 14. La disminución del contenido de carotenos durante los primeros días es atribuida a su rápida descomposición de los carotenos, debido a la exposición a oxígeno o a la luz.

Sin embargo, después, la cantidad de carotenos aumentó debido a la síntesis de las moléculas por efecto del etileno. Si bien, el tratamiento químico demostró disminuir la velocidad de respiración de la papaya no fue superior a algunos sistemas nanocapsulares, por lo que es posible que la cantidad de etileno incremente. Dado que el etileno es un señalizador para la síntesis de carotenos, su incremento por efecto de los cambios metabólicos de la papaya, promueve la formación de nuevos carotenoides (Khaliq et al., 2015), explicando de esta manera el incremento en su concentración.

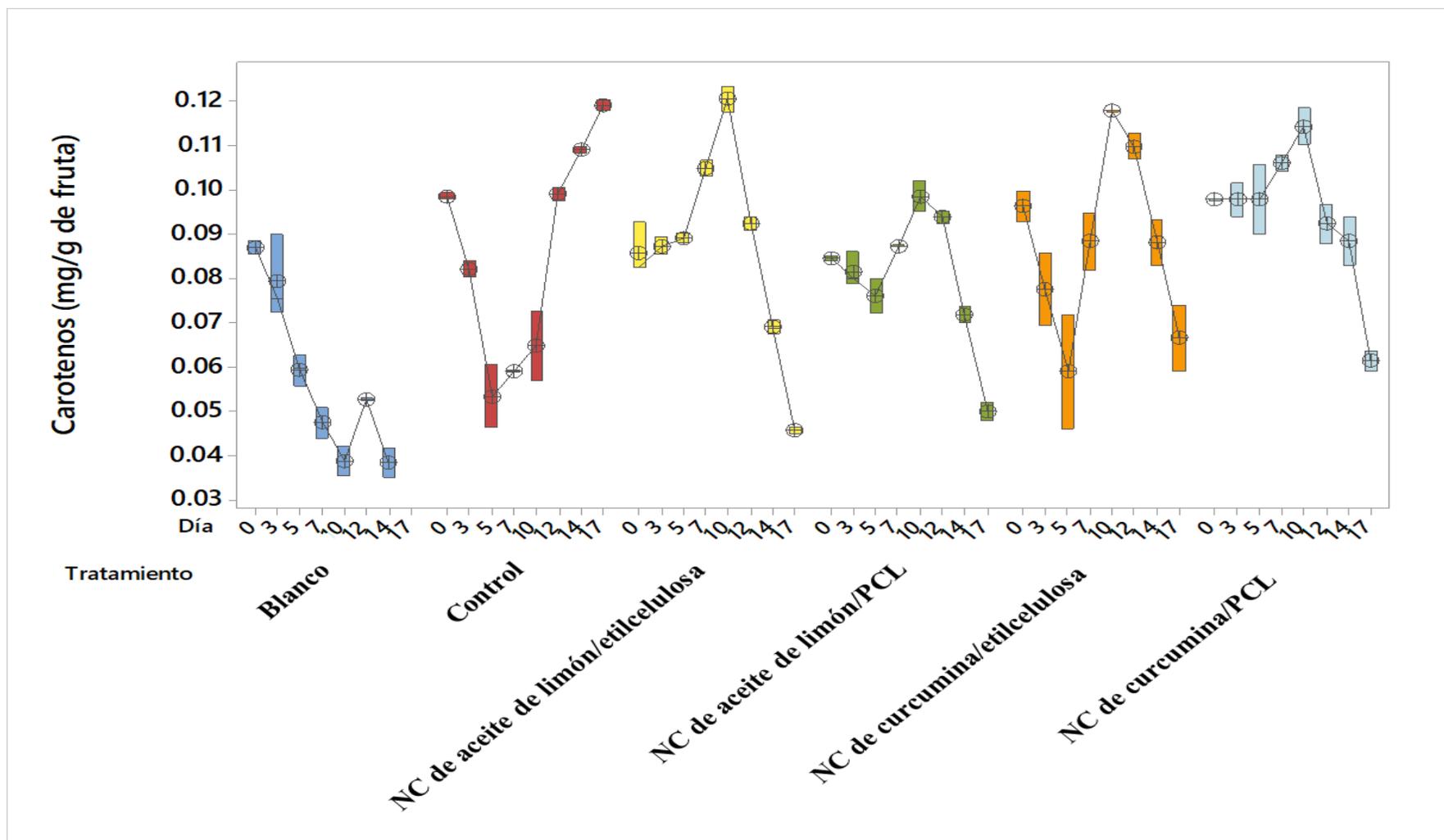


Figura 28: Contenido de carotenos en la papaya recubierta y almacenada en refrigeración. Blanco: trozos sin ningún tratamiento.

Control: trozos tratados con CaCl_2

Se ha demostrado que la oxidación de los carotenos por efecto del O₂ involucra la formación de radicales libres. El proceso de isomerización de la molécula desde la forma trans- a la forma cis- y viceversa, puede generar un estado de espín desapareado que fácilmente reacciona con el O₂ ambiental para formar un birradical carbono-peroxilo. Estos compuestos después pueden formar endoperóxidos o reaccionar con una molécula neutra de caroteno, formando epóxidos. De esta manera, la autooxidación de los carotenos provocada inicialmente por la reacción con O₂ forma epóxidos, compuestos carbonilos y oligómeros, seguido por las reacciones secundarias de oxidación futuras que dan lugar a la generación de compuestos carbonilos de cadena corta, dióxido de carbono y ácidos carboxílicos (Boon et al., 2010; Mordi, 1993) (Figura 29).

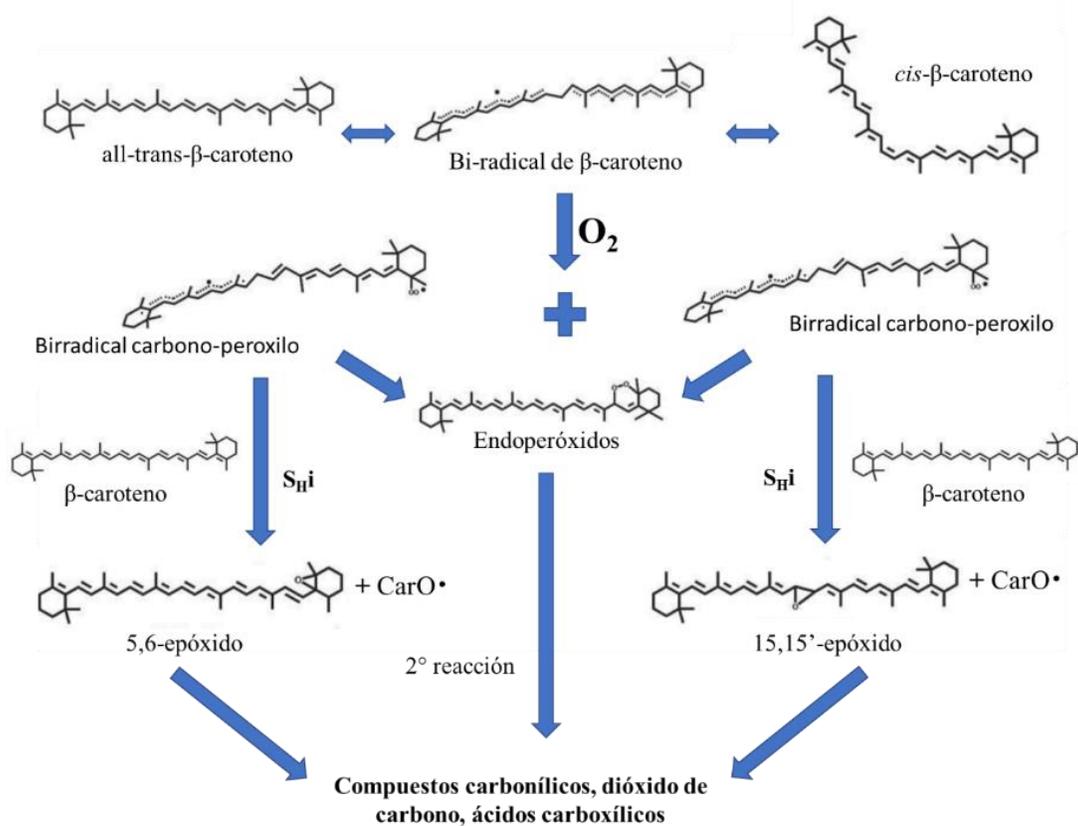


Figura 29: Proceso de oxidación del β-caroteno (Boon et al., 2010)

Para la papaya recubierta con nanocápsulas de aceite de limón se observó un mantenimiento de la concentración de carotenos durante los primeros 5 días de almacenamiento, donde las concentraciones variaron entre 0.07 y 0.09 mg de caroteno/g de fruta. Se observó un

incremento en este parámetro durante los siguientes 5 días de almacenamiento. La máxima cantidad de carotenos determinada fue de 0.120 mg de caroteno/g de fruta para el tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa y para las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa de 0.098 mg de caroteno/g de fruta.

Posteriormente, la cantidad de carotenos disminuyó dramáticamente, alcanzando concentraciones en el día 17 de 0.045 mg de caroteno/g de fruta en la papaya con nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa 0.049 mg de caroteno/g de fruta para la papaya con nanocápsulas de aceite de limón/PCL.

Un comportamiento similar fue encontrado en la papaya recubierta con nanocápsulas de curcumina/PCL, donde la concentración de caroteno se mantuvo prácticamente constante en por lo menos los primeros 7 días de almacenamiento llegando a un máximo de concentración de 0.11 mg de caroteno/g de fruta en el día 10. La cantidad de carotenos decayó progresivamente hasta alcanzar un valor de 0.06 mg de caroteno/g de fruta en el día 17.

Este comportamiento es atribuido a que los sistemas tuvieron la capacidad de reducir la respiración de las papaya, aunque el efecto no fue tan marcado como el observado con el tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón. Sin embargo, la baja formación de CO₂ por efecto de la respiración demostró que los nanorrecubrimientos son capaces de limitar la transferencia de oxígeno. Esto, a su vez, inhibe la degradación de los carotenoides de la papaya, por lo el color de la fruta cortada dado por los valores de a* y b* se mantienen en mayor medida con respecto al sistema sin tratamientos.

Se ha encontrado un comportamiento similar en jitomates recubiertos con goma arábica a diferentes concentraciones, donde la concentración de carotenos se incrementó a lo largo de los primeros días de almacenamiento, donde se observó también un decremento en el contenido de carotenos en la etapa final del periodo de prueba (del día 12 al 20), donde los recubrimientos inhiben la producción de etileno y en consecuencia los procesos de maduración (Ali et al., 2013).

Por otra parte, el tratamiento que presentó una menor retención de los carotenos durante los primeros días fue el compuesto por curcumina/etilcelulosa, ya que la cantidad de carotenos

decaió hasta alcanzar valores de 0.058 mg de caroteno/g de fruta en el día 5, incrementándose después hasta alcanzar una cantidad de 0.12 mg de caroteno/g de fruta en el día 10, para después nuevamente disminuir en los últimos días de almacenamiento encontrándose una cantidad de carotenos de 0.066 mg/g de fruta en el día 17.

La disminución del contenido de carotenos está correlacionada con un muy rápido decremento en el valor de a^* y b^* , por lo que la papaya perdió su color por efecto de la degradación de los carotenoides, siendo que exhibieron una mayor velocidad de respiración inicial, aumentando con ello la formación de etileno que conlleva a la síntesis de carotenos y a la disminución de la calidad del producto (Brasil et al., 2012).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos general y particulares se obtuvieron las siguientes conclusiones.

Las condiciones idóneas encontradas para la formación de nanocápsulas usando β -caroteno como compuesto modelo fueron: 54 watts de potencia ultrasónica, 237 mg de β -caroteno y 307 mg de PCL.

Se obtuvieron nanocápsulas con tamaños de partícula de 306.5 nm, índices de polidispersión de 0.054, potenciales zeta de -25.4 mV y una eficiencia de encapsulación del 75% usando β -caroteno como aceite modelo, mediante la optimización del sistema. La densidad de las nanocápsulas fue de 1.0211, indicando un buen acoplamiento entre la barrera polimérica de PCL y el aceite usado; por consiguiente, la formación de estructuras capsulares fue evidenciadas con la microscopía electrónica de barrido.

Bajo las condiciones optimizadas con β -caroteno, se obtuvieron nanocápsulas conteniendo curcumina y aceites esenciales de limón y romero usando PCL o etilcelulosa como barrera polimérica. Los sistemas presentaron tamaños de partícula menores a 150 nm, índices de polidispersión menores a 0.2, potenciales zeta mayores a -10 mV y eficiencias de encapsulación mayores al 80%, excepto para las nanocápsulas de curcumina que tuvieron eficiencias de encapsulación cercanas a 30%.

El mecanismo de inestabilidad de las nanocápsulas de aceite de limón, aceite de romero y curcumina fue la sedimentación, siendo estables por 30 días en almacenamiento a temperatura ambiente.

Las nanocápsulas con aceites esenciales y curcumina fueron usadas como recubrimiento en papaya fresca cortada y almacenadas en refrigeración, para evaluar su efecto en la conservación del fruto. Se eliminó el aceite de romero debido a que no fue aceptado sensorialmente.

Las nanocápsulas de aceite de limón y curcumina formadas con etilcelulosa y PCL mostraron una reducción significativa en la velocidad de respiración de la papaya fresca cortada y almacenadas por 17 días.

La papaya tratada con nanopartículas mostró una menor variación en la acidez, el pH y la cantidad de sólidos solubles totales.

Se disminuyeron los cambios físicos de la papaya fresca cortada, teniendo mayor atención el tratamiento de nanocápsulas de aceite de limón/PCL que mostró una mejor retención del color y la firmeza del producto.

Se correlacionaron las actividades enzimáticas de la PFO y de la PME con lo que se logró el mantenimiento de las características de la papaya, ya que al utilizar los nanosistemas se observó una disminución significativa en la actividad de ambas enzimas lo que supuso una conservación del color y de la firmeza de la papaya con respecto a su estado inicial.

Los sistemas nanocapsulares y en especial las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa tuvieron un efecto significativo sobre los compuestos químicos de la papaya como son la cantidad de fenoles totales y la cantidad de β -caroteno, mantenido por más tiempo su concentración en el fruto, lo que es favorable durante su comercialización.

PERSPECTIVAS

Como perspectivas para futuras investigaciones se plantean los siguientes objetivos.

- Evaluar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales al ser aplicados en las frutas, con la finalidad de conocer el mecanismo de conservación.
- Realizar los análisis microbiológicos de la papaya fresca cortada, para contrastarlos con su conservación.
- Evaluar las cinéticas de liberación de los aceites esenciales o curcumina encapsulados de manera *in vitro* e *in situ*.
- Obtener micrografías de la papaya fresca cortada cuando son tratadas con los sistemas nanocapsulares.
- Determinar las propiedades de barrera de las películas a base de nanocápsulas, con la intención de correlacionar su comportamiento *in vitro* con el comportamiento *in situ*.

REFERENCIAS

- Abdollahi, M., Rezaei, M., y Farzi, G. (2014). Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 811–818.
- Aditya, N. P., Aditya, S., Yang, H. J., Kim, H. W., Park, S. O., Lee, J., y Ko, S. (2015). Curcumin and catechin co-loaded water-in-oil-in-water emulsion and its beverage application. *Journal of Functional Foods*, 15, 35–43.
- Akram, M., Shahab-Uddin, A. A., Usmanhany, K., Hannan, A., Mohiuddin, E., y Asif, M. (2010). *Curcuma longa* and curcumin: A review article. *Romanian Journal of Biology - Plant Biology*, 55(2), 65–70.
- Albertini, S., Reyes, A. E. L., Trigo, J. M., Sarriés, G. A., y Spoto, M. H. F. (2016). Effects of chemical treatments on fresh-cut papaya. *Food Chemistry*, 190, 1182–1189.
- Ali, A., Maqbool, M., Alderson, P. G., y Zahid, N. (2013). Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 119–124.
- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., y Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 124(2), 620–626.
- Alikhani-Koupaei, M. (2015). Liposomal and edible coating as control release delivery systems for essential oils: Comparison of application on storage life of fresh-cut banana. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 7(2), 175–185.
- Alikhani, M. (2014). Enhancing safety and shelf life of fresh-cut mango by application of edible coatings and microencapsulation technique. *Food Science and Nutrition*, 2(3), 210–217.
- Allanigue, D. K. A., Sabularse, V. C., Hernandez, H. P., y Serrano, E. P. (2017). The effect of chitosan-based nanocomposite coating on the postharvest life of papaya (*Carica papaya* L.) fruits. *Philippine Agricultural Scientist*, 100(3), 233–242.

An, J., Zhang, M., Wang, S., y Tang, J. (2008). Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1100–1107.

Anandharamakrishnan, C. (2014). Techniques for nanoencapsulation of food ingredients (1st ed.). New York: Springer, 1-16.

Arasog, T., y Derman, S. (2018). Assessment of the antigenotoxic activity of poly(D,L-lactico-glycolic acid) nanoparticles loaded with caffeic acid phenethyl ester using the Ames Salmonella/microsome assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(24), 6196–6204.

Arjun, P., Kumar Semwal, D., Badoni Semwal, R., Prasad Mishra, S., Blessy Vijayan, A., y Krishnamoorthy, M. (2015). Quality retention and shelf-life improvement of fresh-cut apple, papaya, carrot and cucumber by chitosan-soy based edible coating. *Current Nutrition y Food Science*, 11(4), 282–291.

Atiemo-Obeng, V. A., Calabrese, R. V, y Kresta, S. M. (2004). Rotor – Stator Mixing Devices. In E. L. Paul, V. A. Atiemo - Obeng, y S. M. Kresta (Eds.), *Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice* (p.p. 479–505). John Wiley y Sons, Inc.

Augustin, M. A., y Hemar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 902–912.

Ayón-Reyna, L. E., Tamayo-Limón, R., Cárdenas-Torres, F., López-López, M. E., López-Angulo, G., López-Moreno, H. S., López-Cervántes, J., López-Valenzuela, J.A. y Vega-García, M. O. (2015). Effectiveness of hydrothermal-calcium chloride treatment and chitosan on quality retention and microbial growth during storage of fresh-cut papaya. *Journal of Food Science*, 80(3), C594–C601.

Bagherifam, S., Griffiths, G. W., Mælandsmo, G. M., Nyström, B., Hasirci, V., y Hasirci, N. (2015). Poly(sebacic anhydride) nanocapsules as carriers: Effects of preparation parameters on properties and release of doxorubicin. *Journal of Microencapsulation*, 32(2), 166–174.

- Baldwin, E. A., y Bai, J. (2011). Physiology of fresh-cut fruits and vegetables. In O., Martín-Belloso y R., Soliva-Fortuny (Ed.), *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing* (1st ed., p.p. 87–113). CRC Press, Taylor y Francis Group.
- Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., y Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(4), 235–244.
- Basulto, F. S., Duch, E. S., Gil, F. E. Y., Plaza, R. D., Saavedra, A. L., y Santamaría, J. M. (2009). Postharvest ripening and maturity indices for maradol papaya. *Interciencia*, 34(8), 583–588.
- Bermúdez-Aguirre, D., Mobbs, T., y Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). Ultrasound Applications in Food Processing Daniela. In H. Feng, G. Barbosa-Canovas, y J. Weiss (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (p.p. 65–105). Springer, New York.
- Bhandari, B. R., D’Arc, B. R., y Thi Bich, L. L. (2002). Lemon oil to β -cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of β -cyclodextrin and the retention of oil volatiles in the complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(4), 1494–1499.
- Bhandari, B. R., D’Arcy, B. R., y Padukka, I. (1999). Encapsulation of lemon oil by paste method using β -cyclodextrin: Encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5194–5197.
- Bhatia, S. (2016). Natural polymer drug delivery systems. In: *Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae* (p.p. 1–225). Springer, Cham.
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337–351.
- Bhavna, Md, S., Ali, M., Baboota, S., Sahni, J. K., Bhatnagar, A., y Ali, J. (2014). Preparation, characterization, *in vivo* biodistribution and pharmacokinetic studies of donepezil-loaded PLGA nanoparticles for brain targeting. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(2), 278–287.

- Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E., y Bohn, T. (2010). Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 75(1), 55-61.
- Bodelón, G., Costas, C., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., y Liz-Marzán, L. M. (2017). Gold nanoparticles for regulation of cell function and behavior. *Nano Today*, 13, 40–60.
- Boehm, A. L., Martinon, I., Zerrouk, R., Rump, E., y Fessi, H. (2003). Nanoprecipitation technique for the encapsulation of agrochemical active ingredients. *Journal of Microencapsulation*, 20(4), 433–441.
- Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., y Decker, E. A. (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 515–532.
- Boonyaritthongchai, P., y Kanlayanarat, S. (2010). Effect of chitosan and heat treatment on postharvest quality of shredded green papaya. *Acta Horticulturae*, 875, 185–190.
- Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, E., Fessi, H., Bonnet, I., y Zydowicz, N. (2004). Synthesis and characterization of polyurethane and poly(ether urethane) nanocapsules using a new technique of interfacial polycondensation combined to spontaneous emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, 269(1), 89–100.
- Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., y Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481–484.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., y Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7879–7885.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.

- Brasil, I. M., Gomes, C., Puerta-Gomez, A., Castell-Perez, M. E., y Moreira, R. G. (2012). Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 39–45.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Campo, J. D., Amiot, M. J., y Nguyen-The, C. (2016). Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*, 63(10), 1359–1368.
- Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L. García, H.S. y Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta potential of food matrices. *Food Engineering Reviews*, 10(3), 113–138.
- Celia, C., Trapasso, E., Cosco, D., Paolino, D., y Fresta, M. (2009). Turbiscan Lab® Expert analysis of the stability of ethosomes® and ultradeformable liposomes containing a bilayer fluidizing agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72(1), 155–160.
- Chemat, F., Zill-e-Huma., y Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.
- Chien, P. J., Sheu, F., y Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225–229.
- Choi, M. J., Ruktanonchai, U., Min, S. G., Chun, J. Y., y Soottitantawat, A. (2010). Physical characteristics of fish oil encapsulated by β -cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion-diffusion method. *Food Chemistry*, 119(4), 1694–1703.
- Choi, M. J., Soottitantawat, A., Nuchuchua, O., Min, S. G., y Ruktanonchai, U. (2009). Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion-diffusion method. *Food Research International*, 42(1), 148–156.
- Chow, S. F., Wan, K. Y., Cheng, K. K., Wong, K. W., Sun, C. C., Baum, L., y Chow, A. H. L. (2015). Development of highly stabilized curcumin nanoparticles by flash

nanoprecipitation and lyophilization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 94, 436–449.

Chu, B., y Liu, T. (2000). Characterization of nanoparticles by scattering techniques. *Journal of Nanoparticle Research*, 2(1), 29–41.

Chu, B. S., Ichikawa, S., Kanafusa, S., y Nakajima, M. (2007). Preparation and characterization of β -carotene nanodispersions prepared by solvent displacement technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6754–6760.

Chung, I.-M., Rajakumar, G., Gomathi, T., Park, S.-K., Kim, S.-H., y Thiruvengadam, M. (2017). Nanotechnology for human food: Advances and perspective. *Frontiers in Life Science*, 10(1), 63–72.

Ciriminna, R., Lomeli-Rodriguez, M., Cara, P. D., Lopez-Sanchez, J. A., y Pagliaro, M. (2014). Limonene: A versatile chemical of the bioeconomy. *Chemical Communications*, 50(97), 15288–15296.

Codex Alimentarius (1995). Norma general para los aditivos alimentarios. Codex Stan, 192–1995.

Coradini, K., Lima, F. O., Oliveira, C. M., Chaves, P. S., Athayde, M. L., Carvalho, L. M., y Beck, R. C. R. (2014). Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their *in vitro* antioxidant effects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(1), 178–185.

Cortez-Vega, W. R., Piotrowicz, I. B. B., Prentice, C., y Borges, C. D. (2013). Conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4), 1753–1764.

Cortez-Vega, W. R., Pizato, S., De Souza, J. T. A., y Prentice, C. (2014). Using edible coatings from whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut “Formosa” papaya. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 197–202.

Cosco, D., Paolino, D., De Angelis, F., Cilurzo, F., Celia, C., Di Marzio, L., Russo, D. Tsapis, N., Fattal, E, y Fresta, M. (2015). Aqueous-core PEG-coated PLA nanocapsules for an

efficient entrapment of water soluble anticancer drugs and a smart therapeutic response. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 89, 30–39.

Costa, C., Conte, A., Buonocore, G. G., Lavorgna, M., y Del Nobile, M. A. (2012). Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots. *Food Research International*, 48(1), 164–169.

Da Silva, M. M., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Rutz, J. K., Flores Cantillano, R. F., Nora, L., Rios, A. de O. (2017). Thermal and ultraviolet–visible light stability kinetics of co-nanoencapsulated carotenoids. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 86–94.

Dasgupta, N., Ranjan, S., Mundekkad, D., Ramalingam, C., Shanker, R., y Kumar, A. (2015). Nanotechnology in agro-food: From field to plate. *Food Research International*, 69, 381–400.

De Barros Fernandes, R. V., Marques, G. R., Borges, S. V., y Botrel, D. A. (2014). Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. *Industrial Crops and Products*, 58, 173–181.

De Paz, E., Rodríguez, S., Kluge, J., Martín, Á., Mazzotti, M., y Cocero, M. J. (2013). Solubility of β -carotene in poly-(ϵ -caprolactone) particles produced in colloidal state by Supercritical Fluid Extraction of Emulsions (SFEE). *Journal of Supercritical Fluids*, 84, 105–112.

De Sousa, L., Kleidson, B., Paese, K., Forgearini, J. C., Guterres, S. S., Jablonski, A., y De Oliveira, R. A. (2013). Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. *Food Chemistry*, 141(4), 3906–3912.

Desgouilles, S., Vauthier, C., Bazile, D., Vacus, J., Grossiord, J. L., Veillard, M., y Couvreur, P. (2003). The design of nanoparticles obtained by solvent evaporation: A comprehensive study. *Langmuir*, 19(22), 9504–9510.

Dhital, R., Joshi, P., Becerra-Mora, N., Umagiliyage, A., Chai, T., Kohli, P., y Choudhary, R. (2017). Integrity of edible nano-coatings and its effects on quality of strawberries subjected to simulated in-transit vibrations. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 257–264.

DOF. (2009). DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. **Diario Oficial de la Federación**: jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.

Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., y Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *ACTA Scientiarum Polonorum*, 63(6), 89–99.

Dong, Y., y Feng, S. S. (2007). Poly(d,l-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles prepared by high pressure homogenization for paclitaxel chemotherapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 342(1–2), 208–214.

Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., y Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1908–1914.

Dos Santos, P. P., Flôres, S. H., De Oliveira, R. A., y Chisté, R. C. (2016). Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. *Trends in Food Science and Technology*, 53, 23–33.

Dos Santos, P. P., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Costa, T.H., Jablonski, A., Flôres, S. H., y De Oliveira, R. A. (2015). Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2), 1–11.

Dufresne, A., Sabu, T., y Pothan, L. A. (2013). Bionanocomposites: State of the art, challenges, and opportunities. In: A. Dufresne, S. Thomas, L.A. Pothan (Eds.). *Biopolymer Nanocomposites: Processing, Properties, and Applications* (p.p. 1-10). John Wiley y Sons, Inc.

- Eerikäinen, H., y Kauppinen, E. I. (2003). Preparation of polymeric nanoparticles containing corticosteroid by a novel aerosol flow reactor method. *International Journal of Pharmaceutics*, 263(1–2), 69–83.
- Eissa, H. A., Abd-Elfattah, S. M., y Abu-Seif, F. A. (2008). Anti-microbial, anti-browning and anti-mycotoxigenic activities of some essential oil extracts in apple juice. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58(4), 425–432.
- Eltayeb, M., Bakhshi, P. K., Stride, E., y Edirisinghe, M. (2013). Preparation of solid lipid nanoparticles containing active compound by electrohydrodynamic spraying. *Food Research International*, 53(1), 88–95.
- Eltayeb, M., Stride, E., y Edirisinghe, M. (2015). Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. *Journal of Functional Foods*, 14, 726–735.
- Ergun, M., Huber, D., Jeong, J., y Bartz, J. A. (2006). Extended shelf life and quality of fresh-cut papaya derived from ripe fruit treated with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131(1), 97–103.
- Ergun, M., Karakurt, Y., y Huber, D. J. (2011). Cell wall modification in 1-methylcyclopropene-treated post-climacteric fresh-cut and intact papaya fruit. *Plant Growth Regulation*, 65(3), 485–494.
- Esfanjani, A. F., y Jafari, S. M. (2016). Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 532–543.
- Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badii, F., Mohammadhoseini, Z., y Ahmadi, K. (2014). Effect of nanochitosan-based coating with and without copper loaded on physicochemical and bioactive components of fresh strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duchesne) during storage. *Food and Bioprocess Technology*, 7(8), 2397–2409.
- Esmaeili, A., y Ebrahimzadeh, M. (2015). Polymer-based of extract-loaded nanocapsules *Aloe vera* L. delivery. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 45(1), 40–47.

Falah, M. A. F., Nadine, M. D., y Suryandono, A. (2015). Effects of storage conditions on quality and shelf-life of fresh-cut melon (*Cucumis Melo* L.) and papaya (*Carica Papaya* L.). *Procedia Food Science*, 3, 313–322.

Farrag, Y., Ide, W., Montero, B., Rico, M., Rodríguez-Llamazares, S., Barral, L., y Bouza, R. (2018). Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 426–433.

Fathi, M., Martín, Á., y McClements, D. J. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 39(1), 18–39.

FDA (2014). Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. *U.S. Department of Health and Human Services of Food and Drug Administration*, 3-4.

Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology

Feczkó, T., Varga, O., Kovács, M., Vidóczy, T., y Voncina, B. (2011). Preparation and characterization of photochromic poly (methyl methacrylate) and ethyl cellulose nanocapsules containing a spirooxazine dye. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 222, 293–298.

Feng, T., Wei, Y., Lee, R. J., y Zhao, L. (2017). Liposomal curcumin and its application in cancer physical property. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 6027–6044.

Fernandes, R. V. de B., Borges, S. V., Botrel, D. A., y Oliveira, C. R. de. (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 1522–1529.

Fernandes, R. V. de B., Borges, S. V., Botrel, D. A., Silva, E. K., Costa, J. M. G. da, y Queiroz, F. (2013). Microencapsulation of rosemary essential oil: characterization of particles. *Drying Technology*, 31(11), 1245–1254.

Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J. P., Ammoury, N., y Benita, S. (1989). Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics*, 55(1), 1–4.

Fisher, K., y Phillips, C. A. (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* *in vitro* and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101(6), 1232–1240.

Frising, T., Noïk, C., y Dalmazzone, C. (2006). The liquid/liquid sedimentation process: From droplet coalescence to technologically enhanced water/oil emulsion gravity separators: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 27(7), 1035–1057.

Friskén, B. J. (2001). Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. *Applied Optics*, 40(24), 4087.

Galindo-Pérez, M. J., Quintanar-Guerrero, D., Mercado-Silva, E., Real-Sandoval, S. A., y Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L. (2015). The effects of tocopherol nanocapsules/xanthan gum coatings on the preservation of fresh-cut apples: Evaluation of phenol metabolism. *Food and Bioprocess Technology*, 8(8), 1791-1799.

Galindo-Rodríguez, S., Allémann, E., Fessi, H., y Doelker, E. (2004). Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research*, 21(8), 1428–1439.

García-Betanzos, C. I., Hernández-Sánchez, H., Bernal-Couoh, T. F., Quintanar-Guerrero, D., y Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L. (2017). Physicochemical, total phenols and pectin methylesterase changes on quality maintenance on guava fruit (*Psidium guajava* L.) coated with candeuba wax solid lipid nanoparticles-xanthan gum. *Food Research International*, 101, 218–227.

García-Betanzos, C. I., Hernández-Sánchez, H., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, L. A., y Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L. (2016). The evaluation of mechanical, thermal, optical and microstructural properties of edible films with solid lipid nanoparticles-xanthan gum stored at different temperatures and relative humidities. *Food and Bioprocess Technology*, 9(10), 1756–1768.

Garcia, E. y Barrett, D. M. (2002). Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: O. Lamikanra (Ed.). *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market* (p.p. 267–303). CRC Press.

Ghaderi, S., Ghanbarzadeh, S., y Hamishehkar, H. (2015). Evaluation of different methods for preparing nanoparticle containing gammaoryzanol for potential use in food fortification. *Pharmaceutical Sciences*, 20, 130–134.

Gomes, C., Moreira, R. G., y Castell-Perez, E. (2011). Poly (dl-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles with entrapped trans-cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications. *Journal of Food Science*, 76(2), N16-N24.

Gómez-Estaca, J., Gavara, R., y Hernández-Muñoz, P. (2015). Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 302–307.

González-Aguilar, G. A., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J., Goycoolea, F., Martínez-Téllez, M. A., Villegas-Ochoa, M. A., Monroy-García, I.N. y Ayala-Zavala, J. F. (2009). Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1), 15–23.

González-Reza, R. M., Quintanar-Guerrero, D., Flores-Minutti, J. J., Gutiérrez-Cortez, E., y Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L. (2015). Nanocapsules of β -carotene: Thermal degradation kinetics in a scraped surface heat exchanger (SSHE). *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 124–130.

Gou, M., Men, K., Shi, H., Xiang, M., Zhang, J., Song, J., Long, J. Wan, Y., Luo, F., Zhao, X. y Qian, Z. (2011). Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo*. *Nanoscale*, 3(4), 1558–1567.

Granata, G., Stracquadanio, S., Leonardi, M., Napoli, E., Consoli, G. M. L., Cafiso, V., Stefani, S. y Geraci, C. (2018). Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. *Food Chemistry*, 269, 286–292.

Granillo-Guerrero, V. G., Villalobos-Espinosa, J. C., Alamilla-Beltrán, L., Téllez-Medina, D. I., Hernández-Sánchez, H., Dorantes-Álvarez, L., y Gutiérrez-López, G. F. (2017).

Optimization of the formulation simplex centroid and analysis of colocalization of its on. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(3), 861–872.

Grassin, C., y Coutel, Y. (2010). Enzymes in Fruit and Vegetable Processing and Juice Extraction. In R. J. Whitehurst y M. van Oort (Eds.), *Enzymes in Food Technology: Second Edition* (p.p. 236–263). Wiley-Blackwell.

Graßmann, J., Schneider, D., Weiser, D., y Elstner, E. (2011). Antioxidative effects of lemon oil and its components on copper induced oxidation of low-density lipoprotein. *Arzneimittelforschung*, 51(10), 799–805.

Hadjidemetriou, M., Al-Ahmady, Z., Mazza, M., y Kostarelos, K. (2017). The emergence of nanopharmacy: from biology to nanotechnology and drug molecules to nanodrugs. In: J. Cornier, A. Owen, A. Kwade, y M. Van de Voorde (Eds.), *Pharmaceutical Nanotechnology, 2 Volumes: Innovation and Production* (1st ed., p.p. 43–62). John Wiley & Son.

Hagerman, A. A. E., y Austin, P. P. J. (1986). Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyl esterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(3), 440–444.

Hamad, A. F., Han, J. H., Kim, B. C., y Rather, I. A. (2018). The intertwine of nanotechnology with the food industry. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(1), 27–30.

Hammer, K. A., Carson, C. F., y Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985–990.

Hasani, S., Ojagh, S. M., y Ghorbani, M. (2018). Nanoencapsulation of lemon essential oil in chitosan-hicap system. Part 1: Study on its physical and structural characteristics. *Biological Macromolecules*. 143.151.

Hatanaka, J., Chikamori, H., Sato, H., Uchida, S., Debari, K., Onoue, S., y Yamada, S. (2010). Physicochemical and pharmacological characterization of α -tocopherol-loaded nano-emulsion system. *International Journal of Pharmaceutics*, 396(1–2), 188–193.

Hatanaka, J., Kimura, Y., Lai-Fu, Z., Onoue, S., y Yamada, S. (2008). Physicochemical and pharmacokinetic characterization of water-soluble Coenzyme Q₁₀ formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1–2), 112–117.

- Henry, D. C. (1931). The cataphoresis of suspended particles. Part I. The equation of cataphoresis. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 133(821), 106–129.
- Herculano, E. D., de Paula, H. C. B., de Figueiredo, E. A. T., Dias, F. G. B., y Pereira, V. de A. (2015). Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 484–491.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Venier-Julienne, M.C. C., Proust, J.E. E., Phan-Tan-Luu, R., y Benoît, J.P. (2003). The influence of lipid nanocapsule composition on their size distribution. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(1), 55–61.
- Hori, M., y Komatsu, H. (1997). Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, 32(2), 303–310.
- Hoseinnejad, M., Jafari, S. M., y Katouzian, I. (2018). Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(2), 161–181.
- Hou, D. Z., Xie, C. S., Huang, K. J., y Zhu, C. H. (2003). The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, 24(10), 1781–1785.
- Im, J. H., Jang, I. H., Pellet, N., Grätzel, M., y Park, N. G. (2014). Growth of CH₃NH₃PbI₃ cuboids with controlled size for high-efficiency perovskite solar cells. *Nature Nanotechnology*, 9(11), 927–932.
- ISO 22412. (2017). ISO 22412. Particle size analysis — Dynamic light scattering (DLS). *International Organization for Standardization*, 1–42.
- ISO 80004-1. (2007). Nanotechnologies-Vocabulary-Part 1: Core terms. 2007. *International Organization for Standardization*, 1–7.
- Iqbal, M., Valour, J. P., Fessi, H., y Elaissari, A. (2014). Preparation of biodegradable PCL particles via double emulsion evaporation method using ultrasound technique. *Colloid and Polymer Science*, 293(3), 861–873.

- Iqbal, T., Rodrigues, F. A. S., Mahajan, P. V., Kerry, J. P., Gil, L., Manso, M. C., y Cunha, L. M. (2008). Effect of minimal processing conditions on respiration rate of carrots. *Journal of Food Science*, 73(8), 396–402.
- Izadifar, Z., Babyn, P., y Chapman, D. (2019). Ultrasound cavitation/microbubble detection and medical applications. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 39(3), 259–276.
- Jafari, S. M. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. In: Jafari, S.M. (Ed.), *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries* (1st ed., p.p. 1–34). Academic Press.
- Jafari, S. M., He, Y., y Bhandari, B. (2007a). Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray drying: Role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technology*, 25(6), 1069–1079.
- Jafari, S. M., He, Y., y Bhandari, B. (2007b). Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 478–488.
- Jagannathan, R., Abraham, P. M., y Poddar, P. (2012). Temperature-dependent spectroscopic evidences of curcumin in aqueous medium: A mechanistic study of its solubility and stability. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(50), 14533–14540.
- Jayaprakasha, G. K., Jaganmohan Rao, L., y Sakariah, K. K. (2006). Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry*, 98(4), 720–724.
- Jayathunge, K. G. L. R., Gunawardhana, D. K. S. N., Illeperuma, D. C. K., Chandrajith, U. G., Thilakarathne, B. M. K. S., Fernando, M. D., y Palipane, K. B. (2014). Physico-chemical and sensory quality of fresh cut papaya (*Carica papaya*) packaged in micro-perforated polyvinyl chloride containers. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 3918–3925.
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., Zu, Y.G. y Liu, X. L. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(1), 63–68.
- Jianglian, D. (2013). Application of chitosan based coating in fruit and vegetable preservation: A review. *Journal of Food Processing y Technology*, 4(5), 1–4.

- Joung, H. J., Choi, M. J., Kim, J. T., Park, S. H., Park, H. J., y Shin, G. H. (2016). Development of food-grade curcumin nanoemulsion and its potential application to food beverage system: Antioxidant property and *in vitro* digestion. *Journal of Food Science*, 81(3), N745–N753.
- Joye, I. J., y McClements, D. J. (2014). Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 19(5), 417–427.
- Kamel, S., Ali, N., Jahangir, K., Shah, S. M., y El-Gendy, A. A. (2008). Pharmaceutical significance of cellulose: A review. *Express Polymer Letters*, 2(11), 758–778.
- Kapuscinska, A., Olejnik, A., y Nowak, I. (2016). Nanocapsules as carriers of active substances. In: A.M., Grumezescu (Ed.). *Nanobiomaterials in galenic formulations and cosmetics: Applications of Nanobiomaterials* (p.p. 175–199). William Andrew.
- Karakurt, Y., y Huber, D. J. (2003). Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 28(2), 219–229.
- Khaliq, G., Mohamed, M. T. M., Ali, A., Ding, P., y Ghazali, H. M. (2015). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190, 187–194.
- Khayata, N., Abdelwahed, W., Chehna, M. F., Charcosset, C., y Fessi, H. (2012). Preparation of vitamin E loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method: From laboratory scale to large scale using a membrane contactor. *International Journal of Pharmaceutics*, 423(2), 419–427.
- Khoobdel, M., Ahsaei, S. M., y Farzaneh, M. (2017). Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with *Rosmarinus officinalis* essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Entomological Research*, 43(7), 175–184.

Klippstein, R., Wang, J. T., El-Gogary, R. I., Bai, J., Mustafa, F., Rubio, N., Bansal, S., Al-Jamal, W.T. y Al-Jamal, W. T. (2015). Passively targeted curcumin-loaded PEGylated PLGA nanocapsules for colon cancer therapy *in vivo*. *Small*, 11(36), 4704–4722.

Koppel, D. E. (1972). Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: The method of cumulants. *The Journal of Chemical Physics*, 57(11), 4814–4820.

Kuwar, U., Sharma, S., y Tadapaneni, V. R. R. (2015). *Aloe vera* gel and honey-based edible coatings combined with chemical dip as a safe means for quality maintenance and shelf life extension of fresh-cut papaya. *Journal of Food Quality*, 38(5), 347–358.

Kwiatkowski, P., Giedrys-Kalemba, S., Mizielińska, M., y Bartkowiak, A. (2016). Modification of PLA foil surface by ethylcellulose and essential oils. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5(5), 440–444.

Kwon, S. S., Nam, Y. S., Lee, J. S., Ku, B. S., Han, S. H., Lee, J. Y., y Chang, I. S. (2002). Preparation and characterization of coenzyme Q₁₀-loaded PMMA nanoparticles by a new emulsification process based on microfluidization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 210, 95–104.

Labet, M., y Thielemans, W. (2009). Synthesis of polycaprolactone: A review. *Chemical Society Reviews*, 38(12), 3484–3504.

Lacatusu, I., Mitrea, E., Badea, N., Stan, R., Oprea, O., y Meghea, A. (2013). Lipid nanoparticles based on omega-3 fatty acids as effective carriers for lutein delivery. Preparation and *in vitro* characterization studies. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1260–1269.

Lopez-Montilla, J. C., Herrera-Morales, P. E., Pandey, S., y Shah, D. O. (2002). Spontaneous emulsification: Mechanisms, physicochemical aspects, modeling, and applications. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 23(1–3), 219–268.

Lee, S. J., y McClements, D. J. (2010). Fabrication of protein-stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation approach. *Food Hydrocolloids*, 24(6–7), 560–569.

- Lemarchand, C., Couvreur, P., Besnard, M., Costantini, D., y Gref, R. (2003). Novel polyester–polysaccharide nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 20(8), 1284–1292.
- Liang, J., Yu, M., Guo, L., Cui, B., Zhao, X., Sun, C., Wang, Y. Liu, G. Cui, H. y Zeng, Z. (2018). Bioinspired development of P(St-MAA)-ivermectin nanoparticles with high affinity for foliage to enhance folia retention. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(26), 6578–6584.
- Lidén, G. (2011). The European comission tries to define nanomaterials. *Annals of Occupational Hygiene*, 55(1), 1-5.
- Lince, F., Marchisio, D. L., y Barresi, A. A. (2008). Strategies to control the particle size distribution of poly-ε-caprolactone nanoparticles for pharmaceutical applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 322(2), 505–515.
- Liu, C., Liang, B., Shi, G., Li, Z., y Zheng, X. (2015). Preparation and characteristics of nanocapsules containing essential oil for textile application. *Flavor and Fragrance Journal*, 30(4), 295–301.
- Liu, Y., Yu, S., Liu, L., Yue, X., Zhang, W., Yang, Q., wang, L., Wang, Y., Zhang, D. y Wang, J. (2017). Inhibition of the double-edged effect of curcumin on Maillard reaction in a milk model system by a nanocapsule strategy. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 643–649.
- Luo, M., Qi, X., Ren, T., Huang, Y., Keller, A. A., Wang, H., Wu, B., Jin, H. y Li, F. (2017). Heteroaggregation of CeO₂ and TiO₂ engineered nanoparticles in the aqueous phase: Application of turbiscan stability index and fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectra. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 533, 9–19.
- Macleod, G. S., Fell, J. T., y Collett, J. H. (1997). Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose films intended for colonic drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 157(1), 53–60.
- Madani, B., Mohamed, M. T. M., Watkins, C. B., Kadir, J., Awang, Y., y Shojaei, T. R. (2014). Preharvest calcium chloride sprays affect ripening of Eksotika II'papaya fruits during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 171, 6–13.

- Mahendra, C. G., y Nikhil, D. A. (2016). Nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* Linn.): A review. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 3, 162–169.
- Mahmoud, K. F., Ibrahim, M. A., Mervat, E. D., Shaaban, H. A., Kamil, M. M., y Hegazy, N. A. (2016). Nano-encapsulation efficiency of lemon and orange peels extracts on cake shelf life. *American Journal of Food Technology*, 11(3), 63–75.
- Malvern Instruments. (2004). *Zetasizer Nano Series User Manual*. 1-1-F-4. Worcestershire, Reino Unido.
- Manrique, G. D., y Lajolo, F. M. (2002). FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 25(1), 99–107.
- Martín-Belloso, O., y Soliva-Fortuny, R. (2010). *Advances in Fresh-cut Fruits and Vegetables Processing*. CRC Press, Taylor y Francis Group.
- Martin-Piñero, M. J., Ramirez, P., Muñoz, J., y Alfaro, M. C. (2019). Development of rosemary essential oil nanoemulsions using a wheat biomass-derived surfactant. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 173, 486–492.
- Martínez-Abad, A., Sánchez, G., Fuster, V., Lagaron, J. M., y Ocio, M. J. (2013). Antibacterial performance of solvent cast polycaprolactone (PCL) films containing essential oils. *Food Control*, 34(1), 214–220.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., y Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3), S253–S260.
- McClements, D. J. (2007). Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649.
- McClements, D. J., y Xiao, H. (2017). Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. *Npj Science of Food*, 1(1), 1-6.

- Mehra, L. K., Maclean, D. D., Shewfelt, R. L., Smith, K. C., y Scherm, H. (2013). Postharvest biology and technology effect of postharvest biofumigation on fungal decay, sensory quality, and antioxidant levels of blueberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 109–115.
- Mendoza-Muñoz, N., Quintanar-Guerrero, D., y Allémann, E. (2012). The impact of the salting-out technique on the preparation of colloidal particulate systems for pharmaceutical applications. *Recent Patents on Drug Delivery y Formulation*, 6(3), 236–249.
- Meng, X., Zhang, M., y Adhikari, B. (2014). The effects of ultrasound treatment and nano-zinc oxide coating on the physiological activities of fresh-cut kiwifruit. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 126–132.
- Mengual, O., Meunier, G., Cayre, I., Puech, K. y Snabre, P. (1999). Turbiscan MA 2000: Multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*, 50(2), 445–456.
- Menon, V. P., y Sudheer, A. R. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. In B. A. Bharat, S. Young-Joon, y S. Shishir (Eds.), *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease* (p.p. 105–125). Springer.
- Misharina, T. A., y Samusenko, A. L. (2008). Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(4), 438–442.
- Mochizuki, M., Hirano, M., Kanmuri, Y., Kudo, K., y Tokiwa, Y. (1995). Hydrolysis of polycaprolactone fibers by lipase: Effects of draw ratio on enzymatic degradation. *Journal of Applied Polymer Science*, 55(2), 289–296.
- Mohammadi, A., Hashemi, M., y Hosseini, S. M. (2015). Chitosan nanoparticles loaded with *Cinnamomum zeylanicum* essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 203–213.
- Mohammed Fayaz, A., Balaji, K., Girilal, M., Kalaichelvan, P. T., y Venkatesan, R. (2009). Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6246–6252.

- Moinard-Chécot, D., Chevalier, Y., Briançon, S., Beney, L., y Fessi, H. (2008). Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion-diffusion process. *Journal of Colloid and Interface Science*, 317(2), 458–468.
- Moncada, J., Tamayo, J. A., y Cardona, C. A. (2016). Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in Colombia. *Journal of Cleaner Production*, 112, 172–181.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., y Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 385, p.p. 113–142.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., y Elaissari, A. (2011). Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods: Critical comparison. *Advances in Colloid and Interface Science*, 163(2), 90–122.
- Mordi, R. C. (1993). Mechanism of β -carotene degradation. *Biochemical Journal*, 292(1), 310–312.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., y Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346–2353.
- Mukherjee, S. (2013). Preparation and stability of nanofluids - A review. *IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering*, 9(2), 63–69.
- Murtaza, G. (2012). Ethylcellulose microparticles: A review. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 69(1), 11–22.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., y Anderson-Cook, C. M. (2009). Response surface methodology. Process and product optimization using designed experiments. John Wiley y Sons, Inc., 1–1247.
- Narsaiyah, K., Wilson, R. A., Gokul, K., Mandge, H. M., Jha, S. N., Bhadwal, S., Anurag, K., Malik, R.K. y Vij, S. (2015). Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 100, 212–218.

NNI (2019). What is nanotechnology? *National Nanotechnology Initiative*. Recuperado 04 de noviembre de 2019. <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition>

Noronha, C. M., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., y Barreto, P. L. M. (2014). Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. *Food Chemistry*, 159, 529–535.

Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., de OB Maciel, M. V., y Barreto, P. L. M. (2013). Optimization of α -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial Crops and Products*, 50, 896–903.

Ojeda-Sana, A. M., van Baren, C. M., Elechosa, M. A., Juárez, M. A., y Moreno, S. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control*, 31(1), 189–195.

Okitsu, K., Ashokkumar, M., y Grieser, F. (2005). Sonochemical synthesis of gold nanoparticles: Effects of ultrasound frequency. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(44), 20673–20675.

Olmedo, R. H., Nepote, V., y Grosso, N. R. (2013). Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 409–417.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2017). FAOSTAT. Recuperado: octubre 16, 2019, <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Ozogul, Y., Yuvka, Í., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A. R., Öz, M., y Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 677–684.

Padukka, I., Bhandari, B., y D'arcy, B. (2000). Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from β -cyclodextrin-lemon oil complex powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(1), 59–70.

- Pan, K., Zhong, Q., y Baek, S. J. (2013). Enhanced dispersibility and bioactivity of curcumin by encapsulation in casein nanocapsules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(25), 6036–60431.
- Park, M. J., Balakrishnan, P., y Yang, S. G. (2013). Polymeric nanocapsules with SEDDS oil-core for the controlled and enhanced oral absorption of cyclosporine. *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1–2), 757–764.
- Pecora R. (2000). Dynamic light scattering measurement of nanometer particles in liquids. *Journal of Nanoparticle Research*, 2(2), 123–131.
- Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., y Vargas, M. (2012). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32–41.
- Perdones, Á., Vargas, M., Atarés, L., y Chiralt, A. (2014). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. *Food Hydrocolloids*, 36, 256–264.
- Pérez-Mosqueda, L. M., Trujillo-Cayado, L. A., Carrillo, F., Ramírez, P., y Muñoz, J. (2015). Formulation and optimization by experimental design of eco-friendly emulsions based on d-limonene. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128, 127–131.
- Piirma, I. (1992). *Polymeric Surfactants*. CRC Press, Taylor y Francis Group.
- Pilon, L., Spricigo, P. C., Miranda, M., de Moura, M. R., Assis, O. B. G., Mattoso, L. H. C., y Ferreira, M. D. (2015). Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 440–448.
- Prasad, A., Astete, C. E., Bodoki, A. E., Windham, M., Bodoki, E., y Sabliov, C. M. (2018). Zein nanoparticles uptake and translocation in hydroponically grown sugar cane plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(26), 6544–6551.
- Presti, M. Lo, Ragusa, S., Trozzi, A., Dugo, P., Visinoni, F., Fazio, A., Dugo, G. y Mondello, L. (2005). A comparison between different techniques for the isolation of rosemary essential oil. *Journal of Separation Science*, 28(3), 273–280.

- Price, L. C., y Buescher, R. W. (2007). Decomposition of turmeric curcuminoids as affected by light, solvent and oxygen. *Journal of Food Biochemistry*, 20(5), 125–133.
- Qi, H., Hu, W., Jiang, A., Tian, M., y Li, Y. (2011). Extending shelf-life of fresh-cut ‘Fuji’ apples with chitosan-coatings. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(1), 62–66.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Doelker, E., y Fessi, H. (1998a). Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research*, 15(7), 1056–1062.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., y Doelker, E. (1998b). Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24(12), 1113–1128.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., y Doelker, E. (1999). Pseudolatex preparation using a novel emulsion-diffusion process involving direct displacement of partially water-miscible solvents by distillation. *International Journal of Pharmaceutics*, 188(2), 155–164.
- Quintanar-Guerrero, D., Zambrano-Zaragoza, M. d. l. L., Gutiérrez-Cortez, E., y Mendoza-Muñoz, N. (2012). Impact of the emulsification-diffusion method on the development of pharmaceutical nanoparticles. *Recent Patents on Drug Delivery y Formulation*, 6(3), 184–194.
- Rahimnejad, M., Mokhtarian, N., y Ghasemi, M. (2009). Production of protein nanoparticles for food and drug delivery system. *Journal of Biotechnology*, 8(19), 4738–4743.
- Rahman, E. A. A., Talib, R. A., Aziz, M. G., y Yusof, Y. A. (2013). Modelling the effect of temperature on respiration rate of fresh cut papaya (*Carica papaya* L.) fruits. *Food Science and Biotechnology*, 22(6), 1581–1588.
- Ramsden, J. (2016). *Nanotechnology: An introduction* (2nd ed.). Matthew Deans.
- Rao, J. P., y Geckeler, K. E. (2011). Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 36(7), 887–913.

- Raso, J., Mañas, P., Pagán, R., y Sala, F. J. (1999). Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 5(4), 157–162.
- Raybaudi-Massilia, R., Calderón-Gabaldón, M. I., Mosqueda-Melgar, J., y Tapia, M. S. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* ser. Poona and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut ‘Maradol’ red papaya (*Carica papaya* L) treated with UV-C light and malic acid. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, 8(1–2), 37–44.
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., y Tapia, M. S. (2010). Edible coatings as carriers of food additives on fresh-cut fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 6(3), 1–7.
- Reis, C. P., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., y Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2(1), 8–21.
- Rekhi, G. S., y Jambhekar, S. S. (1995). Ethylcellulose - A polymer review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(1), 61–77.
- Reverchon, E., y Senatore, F. (1992). Isolation of rosemary oil: Comparison between hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 7(4), 227–230.
- Ribeiro, H. S., Chu, B. S., Ichikawa, S., y Nakajima, M. (2008). Preparation of nanodispersions containing β -carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 12–17.
- Ridley, B. L., O’Neill, M. A. O., y Mohnen, D. (2001). Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57, 929–967.
- Rivera-López, J., Vazques-Ortiz, F. A., Ayala-Zavala, J. F., Sotelo-Mundo, R. R., y Gonzalez-Aguilar, G. A. (2005). Cutting shape and storage temperature affect overall quality of fresh-cut Papaya cv. ‘Maradol’. *Journal of Food Science*, 70(7), 482–489.
- Rodgers, T. L., y Trinh, L. (2016). High-shear mixing: Applications in the food industry. In: *Reference Module in Food Science*. Elsevier.

- Rodríguez-Rojo, S., Visentin, A., Maestri, D., Cocero, M. J. (2012). Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 98–103.
- Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 20(10), 438–447.
- Saeed, F., Arshad, M. U., Pasha, I., Naz, R., Batool, R., Khan, A. A., Nasir, M.A. y Shafique, B. (2014). Nutritional and phyto-therapeutic potential of papaya (*Carica papaya* Linn.): An overview. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1637–1653.
- Saji, V. S., Choe, H. C., y Yeung, K. W. K. (2010). Nanotechnology in biomedical applications: A review. *International Journal of Nano and Biomaterials*, 3(2), 119.
- Sanchez-Garcia, M. D., Ocio, M. J., Gimenez, E., y Lagaron, J. M. (2008). Novel polycaprolactone nanocomposites containing thymol of interest in antimicrobial film and coating applications. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 24(3–4), 239–251.
- Sandoval, V. K., Ávila, D. D., y Gracia, T. J. H. (2017). Estudio del mercado de papaya mexicana: Un análisis de su competitividad (2001-2015). *Suma de Negocios*, 8(18), 131–139.
- Santos, J., Jimenez, M., Calero, N., Alfaro, M. C., y Muñoz, J. (2019). Influence of a shear post-treatment on rheological properties, microstructure and physical stability of emulgels formed by rosemary essential oil and a fumed silica. *Journal of Food Engineering*, 241, 136–148.
- Sari, T. P., Mann, B., Kumar, R., Singh, R. R. B., Sharma, R., Bhardwaj, M., y Athira, S. (2015). Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. *Food Hydrocolloids*, 43, 540–546.
- Schneider, C., Gordon, O. N., Edwards, R. L., y Luis, P. B. (2015). Degradation of curcumin: From mechanism to biological implications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(35), 7606–7614.
- Schultz, S., Wagner, G., Urban, K., y Ulrich, J. (2004). High-pressure homogenization as a process for emulsion formation. *Chemical Engineering and Technology*, 27(4), 361–368.

Serdaroglu, M., y Felekoglu, E. (2005). Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*, 28(2), 109–120.

Severino, R., Ferrari, G., Vu, K. D., Donsì, F., Salmieri, S., y Lacroix, M. (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on green beans. *Food Control*, 50, 215–222.

Shah, B., Ikeda, S., Michael Davidson, P., y Zhong, Q. (2012). Nanodispersing thymol in whey protein isolate-maltodextrin conjugate capsules produced using the emulsion-evaporation technique. *Journal of Food Engineering*, 113(1), 79–86.

Sheikhzadeh, S., Alizadeh, M., Rezazad, M., y Hamishehkar, H. (2016). Application of response surface methodology and spectroscopic approach for investigating of curcumin nanoencapsulation using natural biopolymers and nonionic surfactant. *Journal of Food Science and Technology*, 53(11), 3904–3915.

Shi, A. M., Li, D., Wang, L. J., Li, B. Z., y Adhikari, B. (2011). Preparation of starch-based nanoparticles through high-pressure homogenization and miniemulsion cross-linking: Influence of various process parameters on particle size and stability. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1604–1610.

Shi, X. Y., y Tan, T. W. (2002). Preparation of chitosan/ethylcellulose complex microcapsule and its application in controlled release of vitamin D₂. *Biomaterials*, 23(23), 4469–4473.

Shit, S. C., y Shah, P. M. (2014). Edible polymers: Challenges and opportunities. *Journal of Polymers*, 2014, 1–13.

Silva, A. C., González-Mira, E., García, M. L., Egea, M. A., Fonseca, J., Silva, R., Santos, D., Souto, E.B. y Ferreira, D. (2011). Preparation, characterization and biocompatibility studies on risperidone-loaded solid lipid nanoparticles (SLN): High pressure homogenization versus ultrasound. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(1), 158–165.

Sotelo-Boyás, M., Correa-Pacheco, Z., Bautista-Baños, S., y Gómez y Gómez, Y. (2017). Release study and inhibitory activity of thyme essential oil-loaded chitosan nanoparticles and

nanocapsules against foodborne bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 409–414.

Souguir, H., Salaün, F., Douillet, P., Vroman, I., y Chatterjee, S. (2013). Nanoencapsulation of curcumin in polyurethane and polyurea shells by an emulsion diffusion method. *Chemical Engineering Journal*, 221, 133–145.

Stang, M., Schuchmann, H., y Schubert, H. (2001). Emulsification in high-pressure homogenizers. *Engineering in Life Sciences*, 1(4), 151.

Strimpakos, A. S., y Sharma, R. A. (2008). Curcumin: Preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxidants y Redox Signaling*, 10(3), 511–546.

Su, D., y Zhong, Q. (2016). Lemon oil nanoemulsions fabricated with sodium caseinate and Tween 20 using phase inversion temperature method. *Journal of Food Engineering*, 171, 214–221.

Sun, C., Xu, C., Mao, L., Wang, D., Yang, J., y Gao, Y. (2017). Preparation, characterization and stability of curcumin-loaded zein-shellac composite colloidal particles. *Food Chemistry*, 228, 656–667.

Surassmo, S., Min, S. G., Bejrapha, P., y Choi, M. J. (2010). Effects of surfactants on the physical properties of capsicum oleoresin-loaded nanocapsules formulated through the emulsion-diffusion method. *Food Research International*, 43(1), 8–17.

Suwannateep, N., Banlunara, W., Wanichwecharungruang, S. P., Chiablaem, K., Lirdprapamongkol, K., y Svasti, J. (2011). Mucoadhesive curcumin nanospheres: Biological activity, adhesion to stomach mucosa and release of curcumin into the circulation. *Journal of Controlled Release*, 151(2), 176–182.

Suwannateep, N., Wanichwecharungruang, S., Fluhr, J., Patzelt, A., Lademann, J., y Meinke, M. C. (2013). Comparison of two encapsulated curcumin particular systems contained in different formulations with regard to in vitro skin penetration. *Skin Research and Technology*, 19(1), 1–9.

Tachaprutinun, A., Udomsup, T., Luadthong, C., y Wanichwecharungruang, S. (2009). Preventing the thermal degradation of astaxanthin through nanoencapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 374(1–2), 119–124.

Tampau, A., González-Martínez, C., y Chiralt, A. (2017). Carvacrol encapsulation in starch or PCL based matrices by electrospinning. *Journal of Food Engineering*, 214, 245–256.

Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Carmona, A., Rodríguez, F. J., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1493–1503.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., y Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 587–595.

Tengse, D.D., Priya, B. y Kumar, P.A.R. (2017). Optimization for encapsulation of green tea (*Camelia sinensis* L.) extract by spray drying technology. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(1), 85-92.

Teodoro, R. A. R., de Barros Fernandes, R. V., Botrel, D. A., Borges, S. V., y De Souza, A. U. (2014). Characterization of microencapsulated rosemary essential oil and its antimicrobial effect on fresh dough. *Food and Bioprocess Technology*, 7(9), 2560–2569.

Toivonen, P. M. A., y Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 1–14.

Tongnuanchan, P., Benjakul, S., y Prodpran, T. (2012). Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chemistry*, 134(3), 1571–1579.

Trujillo-Cayado, L. A., Alfaro, M. C., y Muñoz, J. (2018). Effects of ethoxylated fatty acid alkanolamide concentration and processing on d-limonene emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 536, 198–203.

Tscharnuter, W. (2000). Photon correlation spectroscopy in particle sizing. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 5469–5485.

Umerska, A., Gaucher, C., Oyarzun-Ampuero, F., Fries-Raeth, I., Colin, F., Villamizar-Sarmiento, M. G., Maincent, P. y Sapin-Minet, A. (2018). Polymeric nanoparticles for increasing oral bioavailability of curcumin. *Antioxidants*, 7(4), 46.

United States Food and Drug Administration. (2008). Guidance for industry: Guide to minimize food safety hazards for fresh-cut fruits and vegetables.

Valh, J. V., Vajnhandl, S., I, L. Š., Lobnik, A., Turel, M., y I, B. Von. (2017). Effects of ultrasound irradiation on the preparation of ethyl cellulose nanocapsules containing spirooxazine dye. *Journal of Nanomaterials*, 2017, 1-8.

van Oort, M. (2010). Enzymes in Bread Making. In R. J. Whitehurst y M. van Oort (Eds.), *Enzymes in Food Technology*. Segunda Edición (p.p. 103–143). Blackwell Publishing Ltd.

Velderrain-Rodríguez, G. R., Quirós-Sauceda, A. E., González Aguilar, G. A., Siddiqui, M.W. y Ayala, Z. J. F. (2015a). Technologies in fresh-cut fruit and vegetables. In M. Siddiqui y M. Rahman (Eds.), *Minimally Processed Foods* (p.p. 79–103). Springer.

Velderrain-Rodríguez, G. R., Ovando-Martínez, M., Villegas-Ochoa, M., Ayala-Zavala, J. F., Wall-Medrano, A., Álvarez-Parrilla, E., Madera-Santana, T.J., Astiazarán-García, H., Tortoledo-Ortiz, O. y González-Aguilar, G. A. (2015b). Antioxidant capacity and bioaccessibility of synergic mango (cv. Ataulfo) peel phenolic compounds in edible coatings applied to fresh-cut papaya. *Food and Nutrition Sciences*, 06(03), 365–373.

Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M. y Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377–410.

Vidhyalakshmi, R., Bhakayaraj, R., Subhasree, R. S. (2009). Cleansing of purulent wound with intermittent stream of antiseptics. *Advances in Biological Research*, 3(3–4), 96–103.

Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. de O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., Madrona, G.S. y do Prado, I. N. (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *PLoS One*, 11(8), 1–15.

- Volpe, M. G., Siano, F., Paolucci, M., Sacco, A., Sorrentino, A., Malinconico, M., y Varricchio, E. (2015). Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 615–622.
- Voncina, B., Kreft, O., Kokol, V., y Chen, W. T. (2009). Encapsulation of rosemary oil in ethylcellulose microcapsules. *Textile and Polymer Journal*, 1(1), 13–19.
- Waghmare, R. B., y Annapure, U. S. (2013). Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 147–153.
- Wang, Z. W., Duan, H. W., y Hu, C. Y. (2009). Modelling the respiration rate of guava (*Psidium guajava* L.) fruit using enzyme kinetics, chemical kinetics and artificial neural network. *European Food Research and Technology*, 229(3), 495–503.
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), 11-1.
- Weiss, J., Takhistov, P., y McClements, D. J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), 1–10.
- Wilson, M. D., Stanley, R. A., Eyles, A., y Ross, T. (2019). Innovative processes and technologies for modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 411–422.
- Workneh, T. S., Azene, M., y Tesfay, S. Z. (2012). A review on the integrated agro-technology of papaya fruit. *African Journal of Biotechnology*, 11(85), 15098–15110.
- Xu, D., Zhang, J., Cao, Y., Wang, J., y Xiao, J. (2016). Influence of microcrystalline cellulose on the microrheological property and freeze-thaw stability of soybean protein hydrolysate stabilized curcumin emulsion. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 590–597.
- Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6(2), 112–115.
- Xu, R. (2015). Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology*, 18, 11–21.

- Yang, H., Wu, Q., Ng, L. Y., y Wang, S. (2017). Effects of vacuum impregnation with calcium lactate and pectin methylesterase on quality attributes and chelate-soluble pectin morphology of fresh-cut papayas. *Food and Bioprocess Technology*, 10(5), 901–913.
- Yegin, B. A., Benoît, J. P., y Lamprecht, A. (2006). Paclitaxel-loaded lipid nanoparticles prepared by solvent injection or ultrasound emulsification. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32(9), 1089–1094.
- Yegin, Y., Perez-Lewis, K. L., Zhang, M., Akbulut, M., y Taylor, T. M. (2015). Development and characterization of geraniol-loaded polymeric nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 170, 64–71.
- Yeoh, W. K., Ali, A., y Forney, C. F. (2014). Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. *Postharvest Biology and Technology*, 89, 56–58.
- Yogiraj, V., Goyal, P. K., Chauhan, C. S., Goyal, A., y Vyas, B. (2014). *Carica papaya* Linn: An overview. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(5), 1–8.
- Zabot, G. L., Moraes, M. N., Carvalho, P. I. N., y Meireles, M. A. A. (2015). New proposal for extracting rosemary compounds: Process intensification and economic evaluation. *Industrial Crops and Products*, 77, 758–771.
- Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T. F., Mendoza-Elvira, S., y Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 705.
- Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L., Gutiérrez-Cortez, E., Del Real, A., González-Reza, R. M., Galindo-Pérez, M. J., y Quintanar-Guerrero, D. (2014a). Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: Effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities. *Food Research International*, 62, 974–983.
- Zambrano-Zaragoza, M. d. I. L., Mercado-Silva, E., Del Real, A., Gutiérrez-Cortez, E., Cornejo-Villegas, M. A., y Quintanar-Guerrero, D. (2014b). The effect of nano-coatings with α -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut “Red Delicious” apples. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 188–196.

Zambrano-Zaragoza, M. d. l. L., Mercado-Silva, E., Gutiérrez-Cortez, E., Castaño-Tostado, E., y Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of nanocapsules preparation by the emulsion-diffusion method for food applications. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1362–1368.

Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Ramírez-Zamorano, P., Cornejo-Villegas, M. A., Gutiérrez-Cortez, E., y Quintanar-Guerrero, D. (2013). Use of solid lipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. *Food Research International*, 51(2), 946–953.

Zambrano-Zaragoza, M. d. l. L., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, A., Piñon-Segundo, E., y Zambrano-Zaragoza, J. F. (2017). The release kinetics of β -carotene nanocapsules/xanthan gum coating and quality changes in fresh-cut melon (cantaloupe). *Carbohydrate Polymers*, 157, 1874–1882.

Zanotto-Filho, A., Coradini, K., Braganhol, E., Schröder, R., De Oliveira, C. M., Simoes-Pires, A., Battastini, A.M., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S. y Moreira, J. C. F. (2013). Curcumin-loaded lipid-core nanocapsules as a strategy to improve pharmacological efficacy of curcumin in glioma treatment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 83(2), 156–167.

Zhong, Q., Chen, H., Zhang, Y., Pan, K., y Wang, W. (2015). Delivery systems for food applications: An overview of preparation methods and encapsulation, release, and dispersion properties. In C. M. Sabliov, Y. Hongda Chen, y Y. Rickey (Eds.), *Nanotechnology and Functional Foods: Effective Delivery of Bioactive Ingredients* (p.p. 91–111). John Wiley and Sons.

Zhong, Q., y Jin, M. (2009). Zein nanoparticles produced by liquid-liquid dispersion. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2380–2387.

Zhu, J., Liu, S., Palchik, O., Koltypin, Y., y Gedanken, A. (2000). Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles by pulse sonoelectrochemical methods. *Langmuir*, 16(16), 6396–6399.

ANEXOS

A.I. Análisis estadísticos

A.1. Análisis de Dunnet para la velocidad de consumo de O₂ en la papaya cortada y recubierta con las nanocápsulas

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Blanco (control)	21	16.062	A
NC's A. Limón/etilcelulosa	24	17.129	
NC's Curcumina/PCL	24	16.996	
NC's A. Limón/PCL	24	16.863	
NC's Curcumina/etilcelulosa	24	16.798	
Control	24	16.748	A

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del

nivel de control.

Pruebas simultáneas de Dunnett para la media de nivel - Media de control

	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
Control - Blanco	0.686	0.273	(-0.005, 1.377)	2.51	0.053
NC's A. Limó - Blanco	1.067	0.273	(0.376, 1.759)	3.91	0.001
NC's A. Limó - Blanco	0.801	0.273	(0.109, 1.492)	2.93	0.017
NC's Curcumi - Blanco	0.736	0.273	(0.045, 1.427)	2.70	0.033
NC's Curcumi - Blanco	0.934	0.273	(0.242, 1.625)	3.42	0.004

Nivel de confianza individual = 98.75%

A.2. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para el pH de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: pH vs. Tratamiento, Tiempo (día)

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	5	Control, NC's A. Limón/etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (día)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	1.1609	0.290216	17.77	0.000
Tiempo (día)	7	1.4450	0.206430	12.64	0.000
Error	108	1.7640	0.016333		
Falta de ajuste	28	1.6165	0.057732	31.31	0.000

Error puro	80	0.1475	0.001844
Total	119	4.3699	

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's Curcumina/etilcelulosa	24	5.4408	A
NC's Curcumina/PCL	24	5.3762	A B
NC's A. Limón/etilcelulosa	24	5.3692	A B
NC's A. Limón/PCL	24	5.2740	B C
Control	24	5.1583	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.3. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para la acidez de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: Acidez (mg ácido cítrico/100g) vs. Tratamiento, Tiempo (día)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	5	Control, NC's A. Limón/etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (día)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	0.16680	0.041699	16.67	0.000
Tiempo (día)	7	0.24427	0.034895	13.95	0.000
Error	108	0.27023	0.002502		
Falta de ajuste	28	0.23340	0.008336	18.11	0.000
Error puro	80	0.03683	0.000460		
Total	119	0.68130			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's Curcumina/PCL	24	0.5027	A
NC's A. Limón/PCL	24	0.4948	A B
NC's A. Limón/etilcelulosa	24	0.4940	A B
NC's Curcumina/etilcelulosa	24	0.4472	B C
Control	24	0.40538	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.4. Análisis estadístico de varianza y prueba de Tukey de los sólidos solubles totales de la papaya recubierta con las diferentes nanocápsulas

Análisis tipo ANOVA: SST vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	5	Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Día	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	32.797	8.19935	46.51	0.000
Día	7	9.586	1.36943	7.77	0.000
Error	108	19.039	0.17629		
Falta de ajuste	28	16.197	0.57847	16.29	0.000
Error puro	80	2.842	0.03552		
Total	119	61.422			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's Curcumina/PCL	24	8.6854	A
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	8.233	B
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	8.1167	B C
NC's A. Limón/PCL	24	7.7958	C
Control	24	7.112	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.5. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para la producción de CO₂ de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: RCO₂ (mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC aceite de limón/etilcelulosa, NC aceite de limón/PCL, NC curcumina/etilcelulosa, NC curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	51.18	10.2356	20.17	0.000
Tiempo (días)	7	31.87	4.5532	8.97	0.000
Error	128	64.96	0.5075		
Falta de ajuste	34	46.22	1.3594	6.82	0.000
Error puro	94	18.74	0.1993		
Total	140	144.62			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Blanco	21	2.164	A
Control	24	0.936	B
NC aceite de limón/etilcelulosa	24	0.638	B
NC curcumina/etilcelulosa	24	0.573	B
NC curcumina/PCL	24	0.466	B
NC aceite de limón/PCL	24	0.397	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.6. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para el consumo de O₂ de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: O₂ vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	19.948	3.9896	12.59	0.000
Tiempo (días)	7	72.127	10.3038	32.51	0.000
Error	128	40.563	0.3169		
Falta de ajuste	34	32.493	0.9557	11.13	0.000
Error puro	94	8.070	0.0859		
Total	140	127.758			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's A. Limón/etilcelulosa	24	17.129	A
NC's Curcumina/PCL	24	16.996	A
NC's A. Limón/PCL	24	16.863	A
NC's Curcumina/etilcelulosa	24	16.798	A B
Control	24	16.748	A B
Blanco	21	16.062	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.7. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para los valores de L* de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: L* vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	528.3	105.666	13.84	0.000
Tiempo (días)	7	3303.7	471.953	61.83	0.000
Error	128	977.1	7.633		
Falta de ajuste	34	618.0	18.177	4.76	0.000
Error puro	94	359.0	3.820		
Total	140	4791.5			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	40.492	A
NC's A. Limón/PCL	24	40.44	A B
Control	24	40.33	A B
NC's Curcumina/PCL	24	37.60	A B
Blanco	21	36.95	A B
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	35.78	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.8. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para los valores de a* de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: a* vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	537.1	107.417	29.83	0.000
Tiempo (días)	7	1226.7	175.238	48.66	0.000
Error	128	461.0	3.601		
Falta de ajuste	34	300.5	8.837	5.17	0.000
Error puro	94	160.5	1.708		
Total	140	2198.4			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	24.596	A
Control	24	22.732	A B
NC's Curcumina/PCL	24	21.126	B C
Blanco	21	20.383	B C
NC's A. Limón/PCL	24	19.779	C
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	19.001	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.9. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para los valores de b* de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis ANOVA: b* vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento A. Limón/PCL,	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	1033.0	206.600	29.53	0.000
Tiempo (días)	7	2198.3	314.037	44.88	0.000
Error	128	895.6	6.997		
Falta de ajuste	34	548.4	16.128	4.37	0.000
Error puro	94	347.2	3.694		
Total	140	4105.6			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	27.103	A
Control	24	25.316	A B
NC's A. Limón/PCL	24	23.656	A B C
Blanco	21	22.110	B C D
NC's Curcumina/PCL	24	20.66	C D
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	19.34	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.10. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para la firmeza de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis ANOVA: Firmeza (N) vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Tiempo (días)	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	14.860	2.97202	17.97	0.000
Tiempo (días)	7	17.798	2.54262	15.37	0.000
Error	131	21.668	0.16540		
Falta de ajuste	35	18.366	0.52473	15.26	0.000
Error puro	96	3.302	0.03440		
Total	143	54.326			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	2.243	A
Control	24	2.0274	A B
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	1.8888	A B
NC's Curcumina/PCL	24	1.8364	A B
NC's A. Limón/PCL	24	1.7688	B
Blanco	24	1.196	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.11. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para la actividad de la PME de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis ANOVA: Actividad PME (U/mg) vs. Tratamiento, Día

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, Nanoápsulas A. Limón/PCL, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Día	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	1.2726	0.254521	10.25	0.000
Día	7	4.6805	0.668636	26.92	0.000
Error	128	3.1796	0.024841		
Falta de ajuste	34	2.8826	0.084783	26.83	0.000
Error puro	94	0.2970	0.003160		
Total	140	8.9745			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Blanco	21	0.5792	A
NC's Curcumina/PCL	24	0.4167	A B
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	0.3651	B
Nanoápsulas A. Limón/PCL	24	0.3649	B
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	0.3349	B
Control	24	0.2893	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.12. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para la actividad de la PFO de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: PFO vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Día	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	884.3	176.869	7.06	0.000
Día	7	6632.5	947.498	37.82	0.000
Error	128	3206.5	25.051		
Falta de ajuste	34	2958.4	87.013	32.97	0.000
Error puro	94	248.1	2.639		
Total	140	10808.6			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Blanco	21	10.18	A
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	3.66	A B
NC's Curcumina/PCL	24	3.47	A B
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	2.99	A B
Control	24	2.67	B
NC's A. Limón/PCL	24	2.037	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones múltiples de Dunnett con un control

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Blanco (control)	21	10.18	A
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	3.66	
NC's Curcumina/PCL	24	3.47	
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	2.99	
Control	24	2.67	
NC's A. Limón/PCL	24	2.037	

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

A.13. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para el contenido de fenoles totales de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: Concentración de fenoles totales (mg EAG/100 g) vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Día	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	1.171	0.23415	0.87	0.015
Día	7	14.624	2.08920	7.79	0.000
Error	128	34.313	0.26807		
Falta de ajuste	34	28.737	0.84521	14.25	0.000
Error puro	94	5.576	0.05932		
Total	140	50.107			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación
Blanco	21	4.991	A
Control	24	4.785	A B
NC's Curcumina/PCL	24	4.763	B
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	4.7246	B
NC's A. Limón/PCL	24	4.638	B
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	4.5158	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.14. Análisis de varianza de dos vías y prueba de Tukey para el contenido de carotenos de las papayas frescas cortadas recubiertas con las nanocápsulas de aceite de limón/etilcelulosa, nanocápsulas de aceite de limón/PCL, nanocápsulas de curcumina/etilcelulosa y nanocápsulas de curcumina/PCL

Análisis tipo ANOVA: Carotenoides vs. Tratamiento, Tiempo (días)

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	Fijo	6	Blanco, Control, NC's A. Limón/Etilcelulosa, NC's A. Limón/PCL, NC's Curcumina/Etilcelulosa, NC's Curcumina/PCL
Día	Fijo	8	0, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	0.021983	0.004397	20.24	0.000
Día	7	0.021925	0.003132	14.42	0.000
Error	125	0.027147	0.000217		
Falta de ajuste	33	0.025540	0.000774	44.30	0.000
Error puro	92	0.001607	0.000017		
Total	137	0.066870			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
NC's Curcumina/PCL	24	0.09432	A
NC's Curcumina/Etilcelulosa	24	0.08773	A
NC's A. Limón/Etilcelulosa	24	0.08666	A
Control	21	0.08592	A
NC's A. Limón/PCL	24	0.08023	A
Blanco	21	0.05761	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

A.II. Análisis de deseabilidad

La Tabla 9 presenta las funciones de deseabilidad de las variables de respuesta medidas en el proceso de optimización.

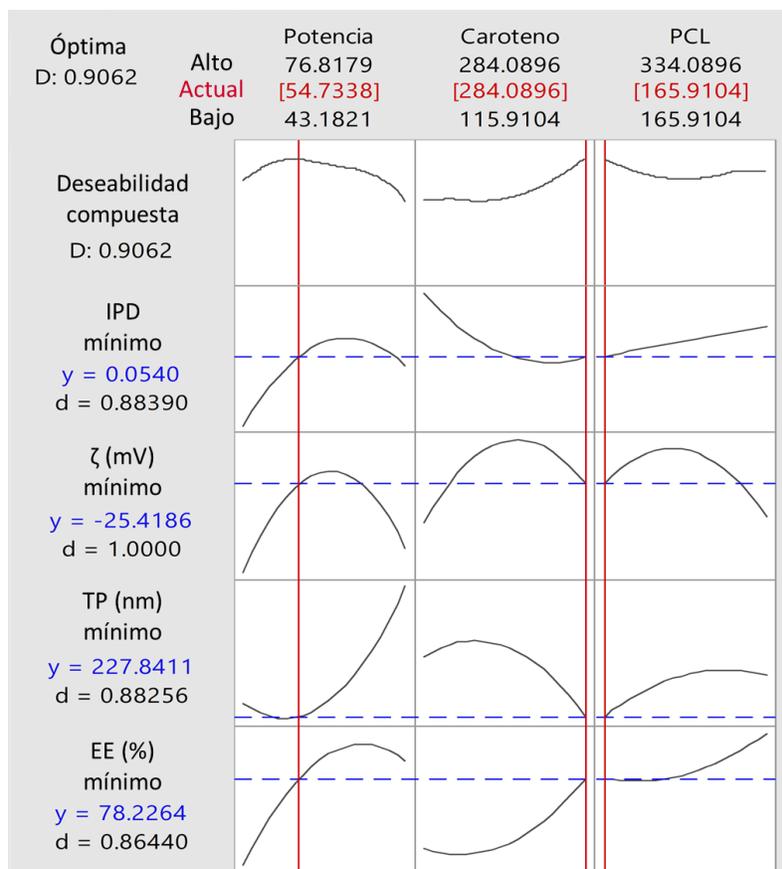


Figura 30: Gráfica de deseabilidad para la formación de nanocápsulas usando como variables independientes la potencia de ultrasonido, la cantidad de PCL y β -caroteno. IPD: índice de polidispersidad; ζ : potencial zeta; TP: tamaño de partícula; EE: eficiencia de encapsulación.

Se determinan las funciones cuadráticas de cada variable independientes en función de las variables de respuesta. Con estos modelos matemáticos es posible determinar las funciones de deseabilidad. Estas funciones evalúan que tan bien una combinación de variables satisface las metas que se definieron para las respuestas. La deseabilidad tiene un intervalo de 0 a 1, donde 1 representa la situación ideal; cero indica que una o más respuestas están fuera de los límites aceptables.

A.III. Disposición de residuos de esta investigación

Los residuos de los disolventes orgánicos usados en este trabajo como el acetato de etilo, el ciclohexano, el hexano, la acetona y las sustancias amortiguadoras de fosfatos o citrato fosfato fueron depositados en contenedores de vidrio de un volumen de 4 L. Para su posterior disposición en la zona que la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM tiene acondicionada para el acopio de los residuos provenientes de los laboratorios de investigación y docencia.

Los residuos de las papayas, como los trozos que no fueron utilizados, así como las cáscaras y las semillas, fueron colocados en bolsas plásticas para después depositarlos en los contenedores de residuos orgánicos.

Los residuos de la papaya que fue usada para las determinaciones de la actividad PME fueron tirados a la tarja del laboratorio, ya que se encontraban en un estado líquido y únicamente fueron tratados con NaCl (0.2 M).



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt



Optimization of the emulsification-diffusion method using ultrasound to prepare nanocapsules of different food-core oils



Moises Job Galindo-Pérez ^a, David Quintanar-Guerrero ^b,
María de los Ángeles Cornejo-Villegas ^a, María de la Luz Zambrano-Zaragoza ^{a,*}

^a Laboratorio de Procesos de Transformación de Alimentos y Tecnologías Emergentes, Departamento de Ingeniería y Tecnología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, C.P.54714, Estado de México, Mexico

^b Laboratorio de Posgrado en Tecnología Farmacéutica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. 1o de mayo s/n, Cuautitlán Izcalli, C.P. 54745, Estado de México, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 June 2017
Received in revised form
5 September 2017
Accepted 7 September 2017
Available online 8 September 2017

Keywords:

Nanocapsules
Ultrasound
 β -carotene
Essential oil
Curcumin

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the optimal processing conditions for preparing nanocapsules by the emulsification-diffusion method using ultrasound in the homogenization step. β -carotene (300 g/L) was used as the active compound core and central composite design (CCD) to establish optimal conditions of ultrasound power (W), encapsulated β -carotene (mg/L), and poly- ϵ (caprolactone) content (PCL; mg/L). Desirability functions were used to explain the behavior of the independent variables, which included particle size (PS), the polydispersity index (PDI), zeta potential (ζ), and encapsulation efficiency (EE). Overall desirability was used to ascertain the optimum processing conditions for nanocapsules preparation. Results showed that the optimal conditions were 54.73 W of ultrasonic power, 1291 mg/L of β -carotene, and 755 mg/L of PCL, since they produced values for PS, PDI, ζ , and EE of 228 nm, 0.054, -25.42 mV, and 78.23%, respectively. Density studies confirmed the formation of capsular systems. To verify the design, lemon oil, rosemary oil and curcumin were assayed as encapsulating oils with PCL and ethyl cellulose as the membrane polymers. This produced a PS of 107–157 nm, a PDI of 0.138–0.207, a ζ of -7.58 to -3.08 mV, an EE of 27.17–92.29%, and densities of 1.004–1.029 g/mL for the different oils.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Today, nanotechnology is recognized as an effective tool in many areas of science. In food-processing, it has become important for preserving alimentary products and fortifying their nutritional properties. Nanoparticles are defined as solid dispersed particles of sub-micron size. There are two types of architecture: nanocapsules and nanospheres. The former consists of a liquid oily core surrounded by a polymeric membrane, while the latter are solid matricial particles. The nanoencapsulation of food additives is used to protect bioactive compounds such as polyphenols, enzymes, nutraceuticals or antioxidants by generating a vectorization to a specific site coupled with the controlled release of the additive (Ezhilarasi, Karthik, Chhanwal, & Anandharamakrishnan, 2013;

Galindo-Pérez, Quintanar-Guerrero, Mercado-Silva, Real-Sandoval, & Zambrano-Zaragoza, 2015).

The emulsification-diffusion method is a preferred technique for nanocapsules preparation because it is robust, reproducible, generates high encapsulation efficiency (>70%), and easily scalable (Mora-Huertas, Fessi, & Elaissari, 2010). It consists in forming a primary emulsification generated using conventional stirrers or such high-efficiency devices as rotor-stator systems, microfluidizers or high-pressure homogenizers. The use of ultrasonic devices is a novel option for nanocapsules preparation that has been used to make oil-in-water emulsifications or nano-emulsifications. Furthermore, it has been used to prepare other kinds of nanoparticles including polymeric nanoparticles and solid lipid nanoparticles in order to formulate drug carriers and contrast agents (Iqbal, Fessi, & Elaissari, 2016). Iqbal, Valour, Fessi, and Elaissari (2014), evaluated different parameters such as the amount of polymer and stabilizer, the outer aqueous phase volume and the time and amplitude of homogenization by ultrasound in

* Corresponding author.

E-mail address: luz.zambrano@unam.mx (M.L. Zambrano-Zaragoza).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.008>

0023-6438/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

the preparation of biodegradable PCL nanoparticles via double emulsion solvent evaporation process. Ultrasonic homogenization has several advantages, including shorter operating times and the production of homogeneous dispersions that can be used in continuous processes in large-scale applications. In addition, it offers substantial financial benefits and short payback (Bermúdez-Aguirre, Mobbs, & Barbosa-Cánovas, 2011; Soria & Villamiel, 2010).

It is also important to note that the materials used in the emulsification-diffusion method have low or null toxicity, since the poloxamer 407 is a non-toxic block copolymer. Poly ϵ -caprolactone is a biodegradable polymer used in the preparation of delivery systems (dos Santos, Flores, de Oliveira Rios, & Chisté, 2016). In the field of food-processing, it has been used to produce α -tocopherol and carotenoid nanocapsules (da Silva et al., 2016; Noronha et al., 2013). Ethyl cellulose, meanwhile, is a non-biodegradable, biocompatible polymer with GRAS status from the FDA. It has been used to produce curcumin nanospheres (Suwannateep et al., 2011) and astaxanthin nanocapsules (Tachaprutinun, Udomsup, Luadthong, & Wanichwecharungruang, 2009).

Response surface methodology (RSM) has been used to optimize the preparation conditions of nanocapsules designed for alimentary applications. In this context, Noronha et al. (2013), optimized the conditions for preparing nanocapsules that contain α -tocopherol using a Box-Behnken design and the nano-precipitation technique. Esmaeili and Ebrahimzadeh (2015), used two experimental designs – a one factor-at-a-time method and an optimization method – to produce avocado oil nanocapsules, while Zambrano-Zaragoza, Mercado-Silva, Gutiérrez-Cortez, Castaño-Tostado, and Quintanar-Guerrero (2011), applied a CCD design to optimize the emulsification-diffusion method to produce nanocapsules containing various edible oils.

The development of nanocapsules is a new, well-tested strategy for transporting food additives such as essential oils. Rosemary oil is an edible lipid used all over the world as a flavoring agent. It is extracted from *Rosmarinus officinalis* and contains several useful compounds, such as carnosol, rosmanol, isorosmanol, rosmadiol, carnosic acid, rosmarinic acid and methyl carnosate. Also, it shows antioxidant, antibacterial and antifungal activity (Bozin, Mimica-Dukic, Samojlik, & Jovin, 2007; Ojeda-Sana, van Baren, Elechosa, Juárez, & Moreno, 2013). Essential lemon oil is extracted from *Citrus lemon* L. It contains a mixture of terpenes and terpenoids whose main compound is α -limonene. It has shown antibacterial, antifungal and antioxidant activity (Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López, & Perez-Álvarez, 2008). Both of these essential oils have GRAS status from the FDA. Curcumin, in turn, is composed of (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione, and is used as a spice, coloring agent and preservative. It has a wide variety of food benefits, including antioxidant, radical-scavenging, antibacterial, antifungal and antiviral effects (Moghadamtousi et al., 2014). Recent studies show that incorporating lemon oil, rosemary oil and curcumin into foods improves quality and increases shelf-life (Burt, 2004; Dhital et al., 2017; Fisher & Phillips, 2008). Therefore, the main aim of this research was to optimize the emulsification-diffusion method using ultrasonic homogenization in the emulsification step to prepare nanocapsules. The essential oils evaluated were rosemary oil, lemon oil and curcumin, all of which may have valuable implications for preserving foods and increasing their quality and shelf life.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Food grade β -carotene (300 g/L of β -carotene in corn oil) was acquired from DSM Nutritional Products (Guadalajara, Mexico). The

poloxamer 407 (Pluronic[®] F-127), poly- ϵ -caprolactone (MW \approx 80,000), β -carotene powder (\geq 97%), lemon oil (from *Citrus limon*), rosemary oil (from *Rosmarinus officinalis* L.) and curcumin (from *Curcuma longa*) were all purchased from Sigma-Aldrich[®] (USA). Analytical grade ethyl acetate was obtained from Fermont (Mexico City, Mexico). All other reagents used were of at least analytical grade.

2.2. Nanocapsules preparation

Nanocapsules were prepared by the well-known emulsification-diffusion method, replacing the mechanical stirring (Quintanar-Guerrero, Allémann, Doelker, & Fessi, 1998; Zambrano-Zaragoza et al., 2011) by ultrasonic devices (Iqbal et al., 2014). Briefly, ethyl acetate and water were saturated to equilibrium, then the stabilizers – Pluronic[®] F-127 and sodium octenyl succinate starch (OSA-starch), both at a concentration of 12 g/L – were dissolved in the aqueous phase. The polymer (PCL) and β -carotene were dissolved in the organic phase at the concentrations established in the experimental design shown in Table 1. Next, the two solutions were emulsified to obtain an oil-in-water dispersion using an ultrasonic homogenizer (UP200HT; Helshier; Teltow, Germany) with a 14 mm diameter titanium sonotrode and the homogenization power established in the CCD. Dispersion/homogenization time was 2 min. An external ice bath was used to maintain the temperature of the sample. After that, 180 mL of water were added to the emulsification to diffuse the solvent and generate polymer aggregation, and the system was sonicated for 2 min. Finally, the excess solvent was removed using a rotavapor (HB10; IKA[®] Works, Inc.; Wilmington, USA) at 40 °C under reduced pressure (66.66 kPa).

2.3. Particle size (PS) and the polydispersity index (PDI)

PS and PDI were determined by the dynamic light-scattering technique using a Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd; Worcestershire, UK) at a detector angle of 90° and a wavelength of 633 nm. All measurements were performed in triplicate (Zambrano-Zaragoza et al., 2011).

2.4. Zeta potential (ζ)

ζ was determined with a Malvern Zetasizer Nano ZS90, based on the electrophoretic motion of particles in dispersion using a standard polystyrene dispersion ($\zeta = -55$ mV) as reference. All measurements were performed in triplicate (Galindo-Pérez et al., 2015).

2.5. Density (ρ)

Density determinations for the nanoparticles formed were used to confirm the link between polymer and oil. This was performed by isopycnic gradient separation using a silica colloidal technique (Percoll[®]; Sigma-Aldrich, USA). According proposed methodology by Zambrano-Zaragoza et al. (2011). The bands generated by the nanoparticles and markers were measured with a Vernier caliper from the meniscus to the middle of each buoyant band. A graph of the density given by each marker as a function of distance was plotted to obtain the polynomial equation. The densities of the nanoparticle dispersions were obtained by interpolation.

2.6. Encapsulation efficiency (EE)

EE was determined by applying an indirect methodology based on quantifying the unencapsulated active compound. Briefly, 2 mL of each colloidal dispersion were centrifuged at 21,420 \times g for 60 min to separate the nanocapsules and stabilizer. The

Table 1
Characterization of the nanocapsules prepared according to CCD.

Power (W)	β-carotene (mg/L)	PCL (mg/L)	PCL/β-carotene ratio	Particle size (nm)	PDI	Standard Deviation	ζ (mV)	EE (%)	Density (g/mL)
50	682	909	1.33	313 ± 15	0.061 ± 0.005	46.50	-23.84 ± 1.59	67.06 ± 3.12	1.028 ± 0.002
70	682	909	1.33	317 ± 14	0.105 ± 0.003	52.38	-23.93 ± 0.52	66.40 ± 4.10	1.023 ± 0.002
50	1136	909	0.80	283 ± 11	0.085 ± 0.005	75.62	-22.57 ± 1.20	69.84 ± 7.52	1.030 ± 0.003
70	1136	909	0.80	335 ± 9	0.156 ± 0.009	47.78	-21.43 ± 0.10	74.17 ± 1.85	1.012 ± 0.010
50	682	1364	2.00	265 ± 10	0.135 ± 0.006	61.78	-23.90 ± 0.24	53.55 ± 3.57	1.029 ± 0.001
70	682	1364	2.00	230 ± 24	0.101 ± 0.006	55.93	-23.23 ± 0.76	52.13 ± 0.89	1.037 ± 0.013
50	1136	1364	1.2	298 ± 14	0.063 ± 0.002	84.24	-24.04 ± 0.52	73.62 ± 1.23	1.020 ± 0.001
70	1136	1364	1.2	289 ± 20	0.076 ± 0.002	67.38	-21.65 ± 0.36	66.13 ± 2.13	1.019 ± 0.001
43	909	1136	1.25	374 ± 9	0.089 ± 0.002	82.35	-25.10 ± 0.10	69.16 ± 1.82	1.017 ± 0.004
77	909	1136	1.25	335 ± 18	0.105 ± 0.002	70.27	-24.44 ± 0.83	49.64 ± 3.70	1.022 ± 0.007
60	527	1136	2.16	245 ± 13	0.099 ± 0.003	90.49	-23.53 ± 1.47	87.30 ± 4.26	1.032 ± 0.002
60	1291	1136	0.88	262 ± 7	0.075 ± 0.002	133.36	-21.70 ± 1.67	85.29 ± 3.48	1.012 ± 0.001
60	909	755	0.83	297 ± 6	0.090 ± 0.001	144.59	-21.50 ± 0.57	92.86 ± 5.16	1.002 ± 0.002
60	909	1518	1.67	260 ± 9	0.049 ± 0.001	112.12	-21.89 ± 0.72	80.20 ± 2.28	1.033 ± 0.006
60	909	1136	1.25	298 ± 26	0.151 ± 0.003	104.41	-18.45 ± 0.53	91.91 ± 1.38	1.021 ± 0.001
60	909	1136	1.25	279 ± 8	0.103 ± 0.003	60.29	-18.17 ± 0.40	75.51 ± 2.03	1.026 ± 0.004
60	909	1136	1.25	387 ± 15	0.040 ± 0.002	52.77	-17.92 ± 0.52	70.26 ± 3.90	1.019 ± 0.002
60	909	1136	1.25	304 ± 11	0.098 ± 0.002	47.01	-15.96 ± 0.34	64.25 ± 1.19	1.023 ± 0.002
60	909	1136	1.25	306 ± 14	0.180 ± 0.001	55.92	-16.07 ± 0.34	64.59 ± 3.46	1.021 ± 0.003
60	909	1136	1.25	294 ± 16	0.068 ± 0.002	56.55	-18.45 ± 0.30	64.73 ± 2.29	1.023 ± 0.002

Data are reported as mean ± standard deviation, n = 3.

supernatant was eliminated, and 1 mL of cyclohexane was added to the pellet obtained to dissolve the unencapsulated β-carotene, but not the polymer. β-carotene determination was performed by spectrophotometry at 455 nm (Genesys 10 S; Thermo Scientific; Massachusetts, USA) using a calibration curve. All measurements were performed in triplicate and the encapsulation efficiency was calculated using the following relationship:

$$EE (\%) = \frac{(mg \text{ of carotene added} - mg \text{ of unencapsulated carotene})}{mg \text{ of carotene added}} \times 100 \tag{1}$$

2.7. Experimental design

The SRM was used to establish the optimal conditions for nanocapsules preparation using ultrasonic homogenization with the systems prepared as described above. The independent variables were power (X₁), and the concentrations of β-carotene (X₂) and PCL (X₃) added to the nanoparticle preparation. The EE (Y₁), PS (Y₂), PDI (Y₃), ζ (Y₄), and density (Y₅) of the dispersions were evaluated as response variables. The experiment was performed following a CCD with a full factorial 2³ approach with three replicates performed in random order for each experiment. A second-order polynomial equation was used to express the response variables as functions of the independent variables, as follows:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \tag{2}$$

where Y_i represents the response variable, β₀ is a constant, and β_i, β_{ii} and β_{ij} are the lineal, quadratic and interactive coefficients, respectively. The coefficients of the response surface equation were determined and an analysis of variance (ANOVA) was applied to determine significant differences between the independent variables using Minitab® version 17 (Minitab® Inc. Pennsylvania, USA).

2.8. Optimizing the process of nanocapsules preparation

An overall desirability function was considered to determine the optimum conditions for preparing nanocapsules. The optimum formulation conditions are represented by a combination of different levels of independent variables according to this equation:

$$D = (d_1 \cdot d_2 \dots d_k)^{1/k} \tag{3}$$

where d_k is an individual desirability function for each k response. Here, D is a function of the encapsulation efficiency (Y₁), particle size (Y₂), polydispersion index (Y₃), zeta potential (Y₄), and nanocapsules density (Y₅).

2.9. Comparison between mechanical homogenization and ultrasound

In order to compare the ultrasonic homogenization and mechanical homogenization, nanocapsules of β-carotene, lemon oil, rosemary oil and curcumin were prepared at optimum oil and PCL conditions; using ultrasonic homogenization at the optimum conditions for two minutes, while those obtained with mechanical homogenization were prepared to the homogenization conditions previously optimized by Zambrano-Zaragoza et al. (2011). The nanoparticles obtained were characterized determining their PS, PDI, ζ and EE.

3. Results and discussion

3.1. Design analysis

Table 1 shows the batches of nanoparticles prepared according

Table 2
ANOVA analysis and regression coefficients of the dependent variables studied as a function of the independent variables.

Term	Particle size		PDI		Zeta potential		Encapsulation efficiency		Density	
	Coef	p-value	Coef	p-value	Coef	p-value	Coef	p-value	Coef	p-value
Constant	291.23 ^s	0.000	0.548 ^s	0.000	-17.515 ^s	0.000	64.39 ^s	0.000	1.023 ^s	0.000
Power	3.47 ^{ns}	0.729	-0.019 ^s	0.000	0.769 ^s	0.007	-6.14 ^s	0.000	-9.98 × 10 ^{-4ns}	0.116
Carotene	17.13 ^{ns}	0.092	0.057 ^s	0.000	1.026 ^s	0.000	9.20 ^s	0.000	-0.006 ^s	0.000
PCL	-151.92 ^s	0.000	-0.072 ^s	0.000	0.051 ^{ns}	0.851	1.44 ^{ns}	0.236	0.004 ^s	0.000
Power*Power	49.90 ^s	0.004	0.041 ^s	0.000	-7.027 ^s	0.000	-11.93 ^s	0.000	-0.003 ^s	0.008
Carotene*Carotene	-43.80 ^s	0.010	0.003 ^{ns}	0.693	-5.544 ^s	0.000	6.73 ^s	0.001	0.004 ^s	0.002
PCL*PCL	-139.90 ^s	0.000	0.024 ^s	0.002	-3.999 ^s	0.000	3.88 ^{ns}	0.054	0.005 ^s	0.000
Power*Carotene	-83.50 ^s	0.000	-0.026 ^s	0.011	0.242 ^{ns}	0.688	6.13 ^s	0.024	-0.008 ^s	0.000
Power*PCL	-27.00 ^{ns}	0.224	0.018 ^{ns}	0.070	-0.088 ^{ns}	0.883	-11.15 ^s	0.000	0.010 ^s	0.000
Carotene*PCL	20.50 ^{ns}	0.355	-0.032 ^s	0.002	-1.208 ^s	0.049	-0.13 ^{ns}	0.962	-0.007 ^s	0.000
R ²	87.31		90.98		89.73		77.01		85.86	

^s significant term ($p < 0.05$).

^{ns} not significant term ($p > 0.05$).

to independent variables at different levels of variation given by the CCD, together with the quantitative results of the dependent variables measured; namely, PS, PDI, ζ , EE and ρ .

3.2. Statistical analysis and model-fitting

An ANOVA analysis was performed to determine the significance of the independent variables and their interaction with each response variable. Table 2 summarizes the results of the ANOVA for the response variables and their significance at 95% confidence level, along with the correlation coefficient which indicates that the independent variables had a significant effect on the dependent variables when the p-value was less than 0.05 (Myers, Montgomery, & Anderson-Cook, 2016). The lineal term carotene was significant for PDI, ζ , EE and ρ , while the lineal term power was significant for PDI, ζ and EE. Moreover, the lineal factor PCL was significant only for PS, PDI, and ρ . The quadratic terms for PCL and carotene were the most important factors, due to they were significant in the majority of response variables, indicating that the behaviors have good fitting to a second-order function. In addition, the R² coefficients of determination for PS, PDI, ζ , EE and ρ were fitted acceptably into the mathematical model as a function of the behavior of the data obtained (Lundstedt et al., 1998).

3.3. Optimal conditions for obtaining nanocapsules

The determination of the optimum conditions for preparing nanocapsules was performed using desirability analysis (Tengse, Priya, & Kumar, 2017). This approach considered the following parameters to optimize processing by introducing the largest possible amount of β -carotene into the nanocapsules: the minimum PS required to create nanometric systems; a minimum PDI where the distribution of PS was narrow and tended towards average; an absolute minimum value of ζ to obtain stable sub-micron systems; and maximum EE. The desirability functions for the independent variables and the overall desirability under the optimal conditions are shown in Table 3. The optimum conditions

Table 3
Desirability functions of the independent variables under the optimal conditions.

Independent variable	Desirability function
Encapsulation efficiency	0.864
Particle size	0.883
Polydispersity index	0.884
Zeta potential	1.000
Overall desirability	0.906

obtained were as follows: 54.73 W of power in the ultrasonic device, 1291 mg/L of β -carotene, and 755 mg/L of PCL. These conditions made it possible to obtain values for PS, PDI, ζ and EE of 228 nm, 0.054, -25.42 mV and 78.23%, respectively, which indicate excellent overall desirability ($D = 0.906$). We can conclude, therefore, that the emulsification-diffusion method using ultrasound is an excellent tool for preparing colloidal systems of sub-micron size that achieve good incorporation of active compounds.

3.4. Particle size

Table 1 shows the PS, in general, sizes are within the sub-micron range. There are reports that the mean PS obtained through the emulsification-diffusion process ranges from 200 to 500 nm, depending on several factors, including the type and concentration of the polymer, stabilizer and oil that are encapsulated (Quintanar-Guerrero et al., 1998; Zambrano-Zaragoza et al., 2011). Fig. 1 shows the response surface graph of PS as a function of power and the PCL/ β -carotene ratio used in formulating the nanocapsules. Clearly, PS decreased as the PCL/ β -carotene ratio increased. This behavior can be explained by an increase in viscosity due to the high β -carotene content in the organic phase, which impedes diffusion. Similar results were observed by Esmaili and Ebrahimzadeh (2015), when they prepared nanocapsules with *A. vera* using polyamide as the membrane polymer. They affirmed that as the polymer/oil ratio increased, PS diminished. Likewise, Moïnard-Chécot, Chevalier, Briçon, Beney, & Fessi (2008), showed that PS is affected by the concentration of oil added to the organic phase during the preparation of nanocapsules that have Mygliol[®] 812 as the oily core and PCL as the wall polymer. The smallest PS was 212 nm for 67.07 W of power and a PCL/ β -carotene ratio of 2.16 with a desirability function of $d = 0.976$. At lower homogenization potencies, nanoparticles with a hydrodynamic diameter above 300 nm were obtained with the lowest desirability function, at just 0.3. An increase in PS was found at the power conditions at the axial points with a desirability function below 0.7. This can be attributed to the lower level of cavitation, which decreased the emulsifying capacity. Statistical analyses using ANOVA (Table 2) showed that the amounts of PCL and quadratic terms were the key factors that affected PS, though the factor of power did not influence this parameter. In any case, at a homogenization time of 2 min, sub-micron size colloidal systems were obtained.

3.5. Polydispersity index

The PDI is a measure of the distribution of PS in a colloidal system. Values between 0.1 and 0.3 indicate a narrow size

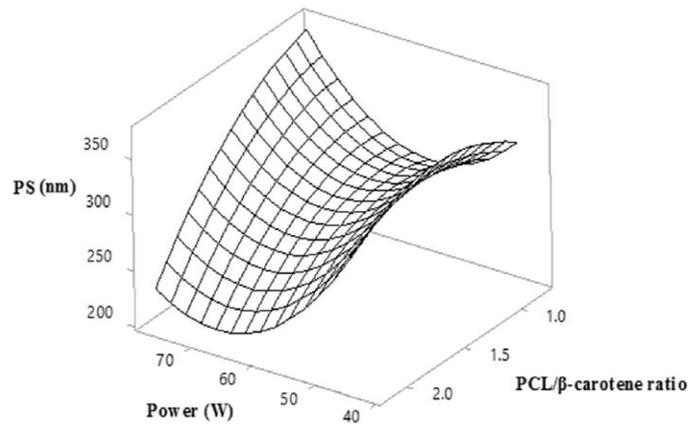


Fig. 1. Surface graph of the particle size of the nanocapsules as a function of ultrasonic power and the PCL/ β -carotene ratio.

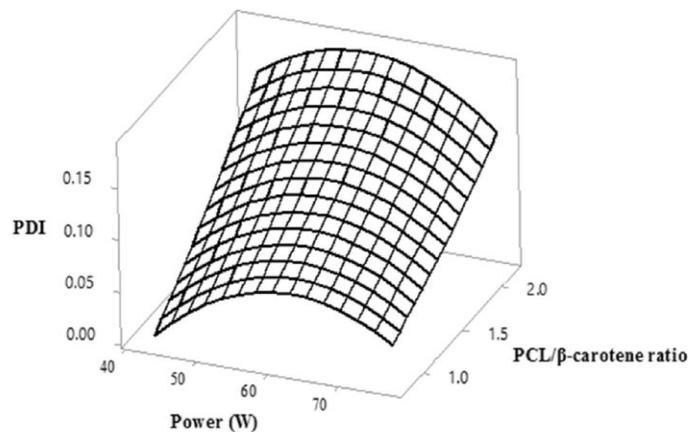


Fig. 2. Surface plot of the PDI obtained for β -carotene nanocapsules under the different conditions of ultrasonic power and PCL/ β -carotene ratios.

distribution, while values above 0.5 reflect a broad variation in size (Wu, Zhang, & Watanabe, 2011). The nanoparticles containing β -carotene in our study showed distributions in the range of 0.061–0.156 (Table 1). When Zambrano-Zaragoza et al. (2011), prepared nanocapsules with different oils for food applications they found a PDI of 0.03–0.15 after 10 min of homogenization using a rotor-stator system. Fig. 2 shows the surface graph of PDI obtained as a function of ultrasonic power and the PCL/ β -carotene ratio, while the results of the ANOVA presented in Table 2 show only the quadratic term of β -carotene and the interaction power*PCL were not significant. This indicates that an increase in the amount of the active compound in the formulation significantly increased the PDI. This behavior arises from the fact that β -carotene has a plasticizing effect in PCL (De Paz et al., 2013) that produces greater flexibility in the polymeric barrier during diffusion, thus generating a system with a higher PDI. At high PCL/ β -carotene ratios, a larger amount of PCL was used. As a result, a higher PCL concentration in the supersaturation region produced greater polydispersity, as reflected in the lower desirability index of 0.161. The lowest PDI –0.019– was achieved under the conditions of 76.81 W and a PCL/ β -carotene ratio of 0.8 with a desirability function of 1.0; however, under optimal PDI conditions, a PDI of 0.054 was generated with a good value for the desirability function ($d = 0.884$) and a PS of 227.84 nm. Table 1 also shows the values of standard deviations for the size

distributions, this parameter ranged from 46.5 to 144.59 and was observed that the value increased when a greater amount of β -carotene was used. In addition, an increase in ultrasonic power slightly reduced the standard deviation; however, EEs lower than 70% were obtained. For β -carotene nanocapsules prepared at optimum conditions, standard deviations around of 51.55 were obtained, indicating low dispersity of the samples.

3.6. Zeta potential

The ζ is a quantitative value of the potential generated in diffuse double layer of nanoparticles. ζ values furthest from zero indicate greater stability of the particles in dispersion due to superficial electrostatic repulsion (Retamal Marín, Babick, & Hillemann, 2017), but this is dependent on the chemical nature and concentration of the polymer and stabilizers (Mora-Huertas et al., 2010). Fig. 3 shows the ζ of the batches produced with the CCD in relation to (1) ultrasonic power and (2) the PCL/ β -carotene ratio. The negative values of ζ obtained in this study are a consequence of the PCL-stabilizing relationship, where the PCL contributes the negative charge through the terminal carboxyl groups in the polymer chains (Mora-Huertas, Fessi, & Elaissari, 2011). The behavior of those batches, or treatments, reached their maximum level around a central point of the design, with a maximum ζ value of –20 mV. It is

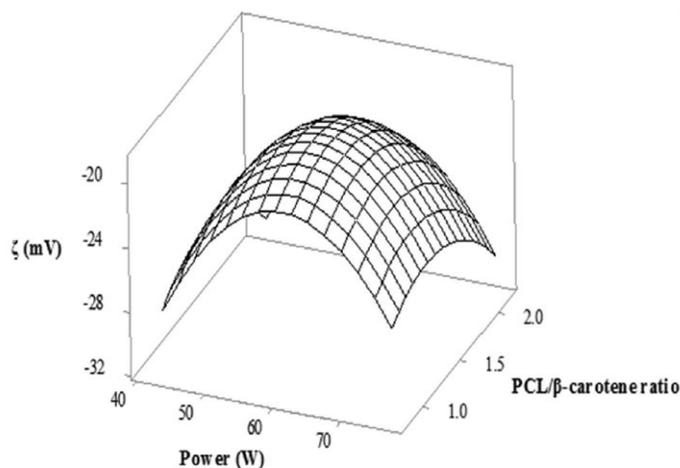


Fig. 3. Surface plot of the ζ obtained for the nanocapsules prepared under different conditions of ultrasonic power and PCL/ β -carotene ratios.

important to emphasize that it was under these conditions that the nanoparticle systems presented the highest encapsulation values (>70%). Minimum ζ values were obtained at a potency of 43.18 W and a PCL/ β -carotene ratio of 2.15, conditions that generated a value for the desirability function of 1.0. In contrast, the maximum ζ value (−18.92 mV) was obtained under the conditions of 60.84 W and a PCL/ β -carotene ratio of 1.29. Here, the desirability function was calculated at 0.658. At higher or lower power levels, the central point of the ζ of the nanoparticles decreased to values below −29 mV of the powers at the axial points, with a desirability of 1.0 in both cases. This behavior can be correlated with low EE, since a smaller amount of encapsulated β -carotene produces lower interaction affinity between the active compound and the polymer (De Paz et al., 2013), thus increasing the exposure of terminal carboxyl groups in the PCL molecule and decreasing the surface potential of the nanoparticles. Under optimal conditions, a ζ value of −25.41 mV with a desirability function of 1.0 was obtained, indicating that those nanoparticle systems were electrically-stable, since absolute ζ values distinct from zero indicate the degree of electrostatic repulsion between adjacent nanoparticles (Galindo-Pérez et al., 2015). The ANOVA showed that the independent term corresponding to the amount of PCL and all interactions between the variables had no significant influence on ζ , while power

and the amount of β -carotene proved to be the most significant factors that affect this parameter.

3.7. Encapsulation efficiencies

Fig. 4 shows the behavior of EE as a function of power and the PCL/ β -carotene ratio for nanocapsules production. The maximum EE was 85%, achieved under the following conditions: 58.25 W and a PCL/ β -carotene ratio of 0.80, with a desirability of $d = 1.0$. While these parameters indicate the best conditions for maximizing EE, they are not the optimal processing conditions because they do not take into account the other response variables. EE has also been seen to decrease as the PCL/ β -carotene ratio increases under all power conditions. For example, an EE of 84.95% is obtained with a PCL/ β -carotene ratio of 0.80 and a homogenization power of 60 W, which produces a desirability function of 0.75. However, the EE decreases to 73.8% when the PCL/ β -carotene ratio is raised to 2.15 under the same power conditions. Here, the desirability function obtained is only 0.50. Park, Balakrishnan, and Yang (2013), observed a similar behavior in nanocapsules produced by the emulsification-diffusion method using polylactide as the polymeric barrier and cyclosporine as the oily core. Under those conditions, the EE decreased from 91.7% to just 72.4% when the polymer/oil ratio was

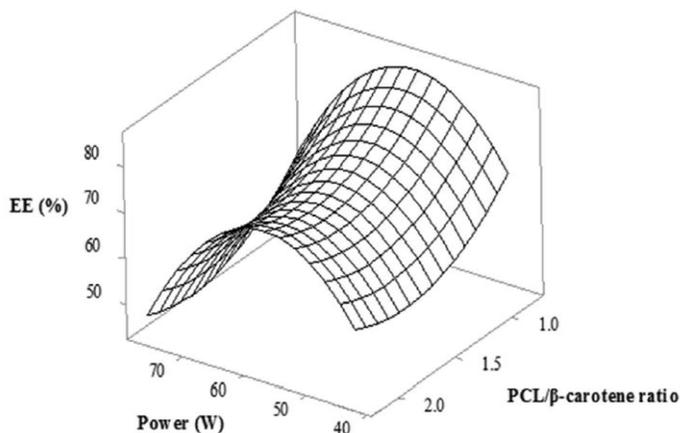


Fig. 4. Surface plot of the encapsulation efficiency of the prepared nanocapsules as a function of ultrasonic power and the PCL/ β -carotene ratio.

increased from 0.2 to 0.8. Similarly, Md et al. (2014) reported a slight decrease in the EE –from 88.5 to 80.48%– when the poly-lactide co-glycolide/oil ratio was raised from 1:1 to 1:10 during formation of nanocapsules with donepezil. Moreover, in relation to the ultrasound power applied to achieve homogenization, the study established that there was a curve at the central point that correlated with the highest EE, since the axial points –where low EE occurred– correspond to potencies of around 43 W. This suggests that the β-carotene was not incorporated into the polymer with a 68% of EE. Hence, the desirability at the axial points was less than 0.411. In contrast, at the maximum power applied (76.82 W) in the emulsification process, cavitation power can decrease due to various factors, including an increase in system temperature, or the formation of a large bubble that causes a damping effect on sound waves (Raso, Mañas, Pagán, & Sala, 1999). In addition to decreasing cavitation power, these factors reduce the amount of carotene that is incorporated into the emulsification globules, thus decreasing the EE to below 60% and producing desirability function values below 0.236. Under the optimum conditions, in contrast, a good desirability function of 0.864 was obtained, together with an EE of 78.23%, compared with the experimental EE obtained for nanocapsules of β-carotene prepared with the emulsification-diffusion methodology using 1291 mg/L of β-carotene, 755 mg/L of PCL and a rotor-stator system, an EE of 70.24% was obtained. The results of the ANOVA in Table 2 show that the factors of power and the amount of β-carotene exert the greatest influence on the EE. In this study, nanocapsules with an EE above 70% were produced using the emulsification-diffusion method coupled with ultrasonic homogenization.

3.8. Density (ρ)

Table 1 also shows the results for the density of the nanocapsule systems, where we determined values that were intermediate between those of a nano-emulsion with β-carotene and polymeric nanospheres without active compound. The densities found ranged from 1.002 to 1.037 g/mL. These results indicate the formation of capsular structures with good coupling between the β-carotene and the barrier polymer. Quintanar-Guerrero et al. (1998), found density values of 1.018–1.084 g/cm³ for nanocapsules with mygliol and poly-lactic acid at different concentrations, while the nanocapsules that Zambrano-Zaragoza et al. (2011) prepared with different food oils produced densities between 1.017 and 1.022 g/cm³. ANOVA analysis showed that homogenization power did not influence nanocapsules density, and that the amounts of β-carotene and PCL are the most important factors affecting this parameter.

3.9. Encapsulation of active oil compounds under optimal conditions

To verify the optimal conditions for obtaining polymeric nanoparticles using the emulsification-diffusion method with ultrasound, nanocapsules containing different oily active compounds

were developed. In this phase of the experiment, curcumin, rosemary oil, lemon oil and two water immiscible polymers –PCL and ethyl cellulose– were used to obtain sub-micron size dispersions that may be useful in food preservation or fortification. Table 4 shows the PS, PDI, ζ, EE and ρ of the nanocapsule systems prepared. The nanoparticles with ethyl cellulose that contained curcumin, rosemary oil and lemon oil had lower PS than the ones prepared with PCL, as they were below 115 nm. In all cases, the PDI were below 0.21, indicating a narrow size distribution. The ζ obtained were above –10 mV, while encapsulation efficiencies surpassed 70%, except for the curcumin nanocapsules, where this index fell below 30% (Jagannathan, Abraham, & Poddar, 2012). The densities of the nanoparticles made with PCL that encapsulated curcumin, rosemary oil and lemon oil were 1.018, 1.027 and 1.021 g/mL respectively, all within the range of nanocapsular systems, as has been observed for nanocapsules made with other edible oils (Zambrano-Zaragoza et al., 2011).

3.10. Comparison between ultrasonic and mechanical homogenization

Fig. 5 shows the PS distributions for nanocapsules of β-carotene, lemon oil, rosemary oil and curcumin, using PCL as a barrier polymer obtained with ultrasonic and mechanical homogenization, while the characterization of nanocapsules manufactured with ultrasound and mechanical homogenization is shown in Table 5. The PS for the nanocapsules prepared with ultrasound ranged from 159 to 196.4 nm, whereas those obtained with mechanical homogenization had PS between 361.5 and 442 nm, observing that with two minutes of ultrasonic homogenization smaller PS were prepared, having a monomodal behavior. Likewise, the standard deviations for the PS distributions of the nanocapsules prepared with ultrasound were lower than 60, whereas for the ones prepared with mechanical homogenization had values between 70 and 170, indicating a narrower distributions for nanocapsules formed with ultrasound. The ζ were less than –20 mV for nanocapsules of β-carotene and curcumin and greater than –12 mV for nanocapsules of lemon oil and rosemary oil. The EE for lemon oil, rosemary oil and curcumin were comparable to the EE obtained with ultrasound and PCL as barrier polymer shown in Table 4.

4. Conclusions

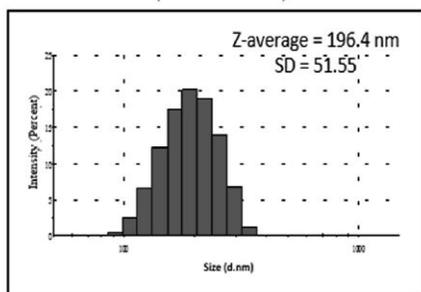
The emulsification-diffusion method using ultrasound as the dispersion system was optimized founding that under the optimal conditions (54.73 W of ultrasonic power, 1291 mg/L of β-carotene and 755 mg/L of PCL), sub-micron size nanocapsules with narrow polydispersity, high absolute value of ζ and an EE greater than 70% were obtained. Meanwhile, the density analysis conducted with colloidal silica showed that encapsulation of β-carotene or the oil-soluble additive formed by the polymer wall did indeed occur and integrated one sole band. Also, it was observed that an increase in ultrasound power produces a decrease in the PDI and standard

Table 4
Design comparison using different encapsulated oils and PCL and ethyl cellulose as polymers.

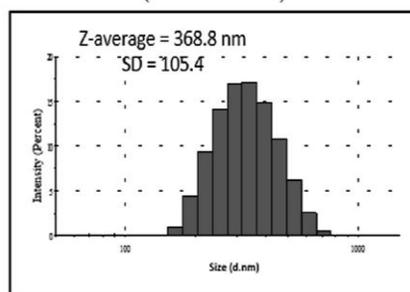
Polymer	Oil core	Ps (nm)	PDI	ζ (mV)	EE	Density (g/mL)
PCL	Curcumin	157.16 ± 2.95 ^a	0.151 ± 0.01 ^a	–3.08 ± 0.28 ^a	27.17 ± 2.40 ^a	1.018 ± 0.002 ^a
PCL	Rosemary oil	150.28 ± 8.60 ^a	0.138 ± 0.02 ^a	–7.06 ± 0.35 ^b	81.53 ± 1.52 ^b	1.027 ± 0.003 ^b
PCL	Lemon oil	141.83 ± 4.93 ^a	0.169 ± 0.02 ^a	–4.82 ± 0.61 ^c	92.29 ± 1.21 ^c	1.021 ± 0.002 ^c
Ethyl cellulose	Curcumin	110.46 ± 5.82 ^b	0.207 ± 0.01 ^b	–5.7 ± 0.34 ^d	30.03 ± 6.73 ^d	1.029 ± 0.005 ^d
Ethyl cellulose	Rosemary oil	114.8 ± 3.72 ^b	0.188 ± 0.01 ^b	–7.58 ± 0.53 ^e	70.69 ± 4.97 ^e	1.030 ± 0.002 ^d
Ethyl cellulose	Lemon oil	107.01 ± 4.22 ^b	0.170 ± 0.01 ^b	–7.21 ± 0.64 ^f	82.51 ± 4.10 ^f	1.004 ± 0.001 ^e

The nanocapsules were prepared under optimal conditions. Each value is the mean ± standard deviation of the mean of three replicates. Different letters indicate differences (p<0.05) between oil core.

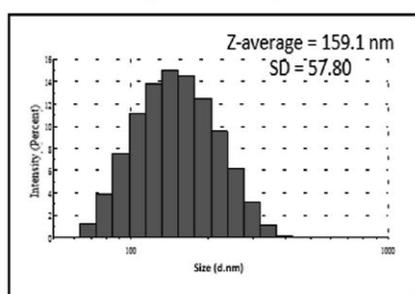
Nanocapsules of β -carotene/PCL (ultrasound)



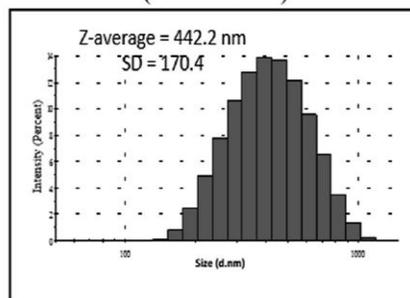
Nanocapsules of β -carotene/PCL (rotor-stator)



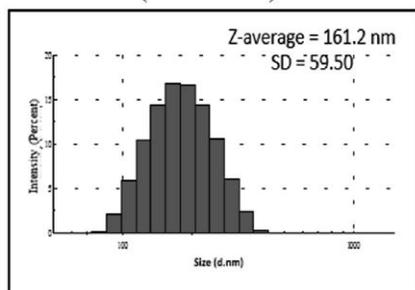
Nanocapsules of lemon oil/PCL (ultrasound)



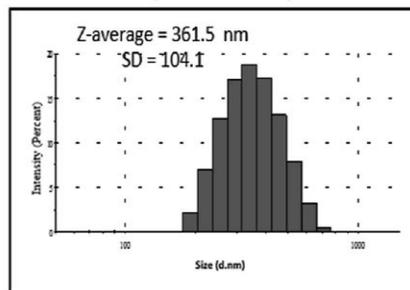
Nanocapsules of lemon oil/PCL (rotor-stator)



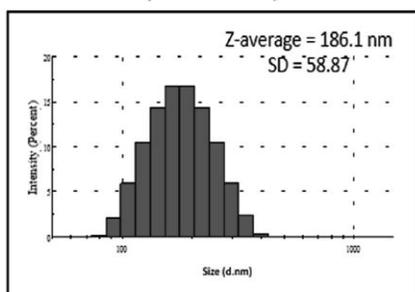
Nanocapsules of rosemary oil/PCL (ultrasound)



Nanocapsules of rosemary oil/PCL (rotor-stator)



Nanocapsules of curcumin/PCL (ultrasound)



Nanocapsules of curcumin/PCL (rotor-stator)

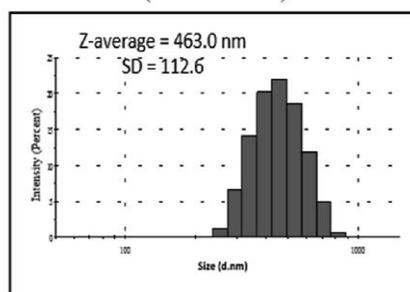


Fig. 5. Size distributions for nanocapsules prepared with emulsification-diffusion method using ultrasound or a rotor-stator system.

Table 5

Characterization of nanocapsules with different oil cores prepared by emulsification-diffusion method using a rotor-stator system.

Polymer	Oil core	Ps (nm)	PDI	ζ (mV)	EE
PCL	β-carotene	365.66 ± 19.01 ^a	0.260 ± 0.05 ^a	-26.86 ± 2.64 ^a	70.24 ± 2.03 ^a
PCL	Lemon oil	478.7 ± 43.26 ^b	0.191 ± 0.04 ^b	-11.46 ± 0.61 ^b	79.09 ± 2.93 ^b
PCL	Rosemary oil	408.37 ± 40.62 ^c	0.155 ± 0.06 ^b	-8.84 ± 0.34 ^b	80.59 ± 2.11 ^c
PCL	Curcumin	434.4 ± 33.46 ^c	0.230 ± 0.06 ^c	-22.83 ± 0.65 ^c	27.79 ± 5.73 ^d

Each value is the mean ± standard deviation of the mean of three replicates. Different letters indicate differences (p<0.05) between oil core.

deviation of nanocapsules and significantly decreases in the ζ and EE of β-carotene. Therefore, the emulsification-diffusion method coupled with ultrasonic homogenization has the ability to create nanocapsular systems that contain rosemary oil, lemon oil and curcumin and may have applications in processes of food conservation and supplementation. The advantages of this development include reducing homogenization time to 2 min –well below the time that rotor-stator devices require– easy scalability, and applications in on-line processing for large-scale production.

Acknowledgments

Galindo-Pérez thanks to CONACYT-Mexico for the scholarship received (CVU/Becario: 510518/288884). The authors also acknowledge the financial support for this work provided by PAPIIT: IT201617 and IT201717 from DGAPA-UNAM, CONACYT CB-221629, INFRA 251940 and the Internal Research Projects PIAP1 0001 and 1647.

References

- Bermúdez-Aguirre, D., Mobbs, T., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). Ultrasound technologies for food and bioprocessing. In F. Hao, B. C. Gustavo, & W. Jochen (Eds.), *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 65–105). New York: Springer.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7879–7885.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- De Paz, E., Rodríguez, S., Kluge, J., Martín, Á., Mazzotti, M., & Cocero, M. J. (2013). Solubility of β-carotene in poly-(ε-caprolactone) particles produced in colloidal state by Supercritical Fluid Extraction of Emulsions (SFE). *Journal of Supercritical Fluids*, 84, 105–112.
- Dhital, R., Joshi, P., Becerra-Mora, N., Umagiliyige, A., Chai, T., Kohli, P., et al. (2017). Integrity of edible nano-coatings and its effects on quality of strawberries subjected to simulated in-transit vibrations. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 257–264.
- Esmaili, A., & Ebrahimzadeh, M. (2015). Polymer-based of extract-loaded nanocapsules *Aloe vera* L. delivery. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 45(1), 40–47.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhnanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628–647.
- Fisher, K., & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: Is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, 19(3), 156–164.
- Galindo-Pérez, M. J., Quintanar-Guerrero, D., Mercado-Silva, E., Real-Sandoval, S. A., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). The effects of tocopherol nanocapsules/xanthan gum coatings on the preservation of fresh-cut apples: Evaluation of phenol metabolism. *Food and Bioprocess Technology*, 8(8), 1791–1799.
- Iqbal, M., Fessi, H., & Elaissari, A. (2016). Elaboration of submicron particles for biomedical imaging and drug delivery: Specific review. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 5(1), 16–31.
- Iqbal, M., Valour, J., Fessi, H., & Elaissari, A. (2014). Preparation of biodegradable PCL particles via double emulsion evaporation method using ultrasound technique. *Colloid and Polymer Science*, 293(3), 861–837.
- Jagannathan, R., Abraham, P. M., & Poddar, P. (2012). Temperature-dependent spectroscopic evidences study of its solubility and stability. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(50), 14533–14540.
- Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J., et al. (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 42(1–2), 3–40.
- Md, S., Ali, M., Baboota, S., Sahni, J. K., Bhatnagar, A., & Ali, J. (2014). Preparation, characterization, in vivo biodistribution and pharmacokinetic studies of donepezil-loaded PLGA nanoparticles for brain targeting. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(2), 278–287.
- Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*, 2014(186864), 1–12.
- Moinard-Chécot, D., Chevalier, Y., Briançon, S., Beney, L., & Fessi, H. (2008). Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion-diffusion process. *Journal of Colloid and Interface Science*, 317(2), 458–468.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 385(1), 113–142.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2011). Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods: Critical comparison. *Advances in Colloid and Interface Science*, 163(2), 90–122.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, M. C. (2016). *Response surface Methodology: Process and product optimization using designed experiments* (4th ed.). New Jersey: John Wiley & Sons.
- Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., Matheus, M. V., et al. (2013). Optimization of α-tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial Crops and Products*, 50, 896–903.
- Ojeda-Sana, A. M., van Baren, C. M., Elechosa, M. A., Juárez, M. A., & Moreno, S. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control*, 31(1), 189–195.
- Park, M. J., Balakrishnan, P., & Yang, S. G. (2013). Polymeric nanocapsules with SEDDS oil-core for the controlled and enhanced oral absorption of cyclosporine. *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1–2), 757–764.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Doelker, E., & Fessi, H. (1998). Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research*, 15(7), 1056–1062.
- Raso, J., Mañas, P., Pagán, R., & Sala, F. J. (1999). Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 5(4), 157–162.
- Retamal Marín, R. R., Babick, F., & Hillemann, L. (2017). Zeta potential measurements for non-spherical colloidal particles—practical issues of characterisation of interfacial properties of nanoparticles. *Colloids and Surfaces a: Physicochemical and Engineering Aspects*. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.010>. in press.
- dos Santos, P. P., Flores, S. H., de Oliveira Rios, A., & Chisté, R. C. (2016). Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. *Trends in Food Science & Technology*, 53, 23–33.
- da Silva, M. M., Nora, L., Cantillano, R. F. F., Paese, K., Guterres, S. S., et al. (2016). The production, characterization, and the stability of carotenoids loaded in lipid-core nanocapsules. *Food and Bioprocess Technology*, 9(7), 1148–1158.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(7), 323–331.
- Suwannateep, N., Banlunara, W., Wanichwecharungruang, S. P., Chiablaem, K., Lirdprapamongkol, K., & Svasti, J. (2011). Mucoadhesive curcumin nanospheres: Biological activity, adhesion to stomach mucosa and release of curcumin into the circulation. *Journal of Controlled Release*, 151(2), 176–182.
- Tachaprutinun, A., Udomsup, T., Luadthong, C., & Wanichwecharungruang, S. (2009). Preventing the thermal degradation of astaxanthin through nanoencapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 374(1–2), 119–124.
- Tengse, D. D., Priya, B., & Kumar, P. A. R. (2017). Optimization for encapsulation of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract by spray drying technology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1), 85–92.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Journal of Food Safety*, 28(4), 567–576.
- Wu, L., Zhang, J., & Watanabe, W. (2011). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 456–469.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Gutiérrez-Cortez, E., Castañón-Tostado, E., & Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of nanocapsules preparation by the emulsion-diffusion method for food applications. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1362–1368.