



---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**“Aplicación de nanoemulsiones conteniendo compuestos bioactivos de  
xoconostle y aceite de naranja en películas comestibles elaboradas a base  
de gelatina”**

TESIS

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencia de los Alimentos**

Presenta

**I.A. Arely León López**

Director

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Co-Director

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Asesores

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Dra. Abigail Reyes Munguía



Tulancingo de Bravo, Hidalgo, 2016



**Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo**

Instituto de Ciencias Agropecuarias

**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP**

Actas de la reunión de comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

**Apertura:**

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis titulada "Aplicación de nanoemulsiones conteniendo compuestos bioactivos de xoconostle y aceite de naranja en películas comestibles elaboradas a base de gelatina" que desarrolla la estudiante, I.A. Arely León López.

**Asistentes**

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

**A. Revisión de Trabajo de tesis**

**Observaciones:**

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la I.A. Arely León López, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

**B. Acuerdos**

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que el estudiante imprima su trabajo final de tesis y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE  
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"  
Tulancingo de Bravo Hidalgo a 24 de agosto del 2016.

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

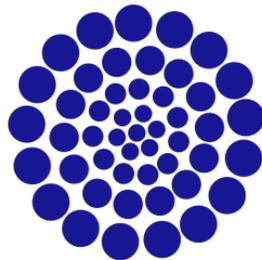
Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Dr. Rubén Jiménez Alvarado



## **AGRADECIMIENTO**

Al apoyo recibido por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada CVU 621400 para la realización de los estudios de Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.



**CONACYT**

*Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología*

## **AGRADECIMIENTOS**

A cada una de las personas que han estado junto a mí durante este proceso, en especial a ustedes tribu que siempre han tenido fe en mí y me han impulsado a alcanzar cada una de las metas que me he propuesto y a esos seres maravillosos Emilio, Ale, María y Oscar que hicieron de este proceso una combinación de estrés y satisfacciones.

A mi director de tesis Dr. Rafael Germán Campos Montiel por permitirme ser parte de este proyecto, por todo su apoyo y tiempo el cual hicieron de mí una mejor profesionista.

Al Dr. Rubén Jiménez Alvarado y al Dr. Gabriel Aguirre Álvarez por toda la paciencia y todos sus consejos en cada una de las revisiones las cuales ayudaron a terminar de manera satisfactoria este trabajo.

A Karla y Geraldine por su amistad y apoyo, hicieron de esta etapa una gran experiencia de vida.

## **DEDICATORIA**

*A mi mamá, quien ha estado conmigo en cada paso que he dado, guiándome y dándome la fuerza necesaria para poder continuar y no darme por vencida, TE AMO.*

*A mis hermanas Irais y Liliana quienes han sido para mí una motivación constante y un ejemplo a seguir, LAS QUIERO.*

*A ti Nallely por ser más que mi hermana, has sido la mejor compañera de vida, mi mejor amiga, confidente, mi media sandía, contigo he compartido fracasos y triunfos, eres uno de los motores que me impulsan a seguir adelante TE QUIERO*

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	Películas comestibles.....	4
2.2	Empaques activos.....	6
2.3	Biopolímeros.....	8
2.4	Colágeno.....	9
2.4.1	Gelatina.....	10
2.5	Plastificante.....	13
2.6	Compuestos bioactivos.....	15
2.6.1	Polifenoles.....	18
2.7	Xoconostle.....	19
2.7.1	Betalaínas.....	21
2.8	Aceite esencial de naranja.....	23
2.9	Emulsiones.....	25
2.9.1	Clasificación de emulsiones.....	25
2.9.2	Clasificación de las emulsiones en base a la fase dispersa.....	25
2.10	Nanoemulsiones.....	27
2.10.1	Estabilidad de nanoemulsiones.....	27
2.10.2	Ventajas y limitaciones del uso de nanoemulsiones en alimentos.....	29
2.10.3	Formación de nanoemulsiones.....	29
3	ANTECEDENTES.....	31
4	JUSTIFICACIÓN.....	33

5	OBJETIVOS.....	34
5.1	OBJETIVO GENERAL.....	34
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
6	HIPÓTESIS .....	35
7	MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
7.1	Materiales.....	36
7.2	Establecimiento del experimento.....	36
7.3	Métodos .....	37
7.3.1	Obtención del filtrado de xoconostle por método mecánico-enzimático .....	37
7.3.2	Elaboración de la nanoemulsión.....	38
7.3.3	Elaboración de la película comestible .....	38
7.3.4	Extracción de compuestos Bioactivos de nanoemulsión y filtrado de xoconostle.....	39
7.3.5	Extracción de compuestos Bioactivos de la película de gelatina .....	40
7.3.6	Potencial Zeta .....	40
7.3.7	Tamaño de las gotas de las nanoemulsiones .....	41
7.3.8	Cuantificación de Betalaínas totales.....	41
7.3.9	Determinación de Fenoles totales.....	42
7.3.10	Determinación de Flavonoides .....	43
7.3.11	Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico, ABTS. ....	44
7.3.12	Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 1,1 -difencil-2-picrilhidrazil, DPPH.....	45
7.3.13	Determinación de color en películas .....	47
7.3.14	Propiedades mecánicas .....	47
7.4	Análisis de resultados .....	48

8	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	49
8.1	Estabilidad cinética de la nanoemulsión .....	49
8.2	Potencial Z .....	51
8.3	Compuestos antioxidantes presentes en filtrado de xoconostle, aceite de naranja y nanoemulsión tipo agua en aceite (W/O) .....	52
8.4	Cuantificación de Betalaínas.....	53
8.5	Determinación de Fenoles totales en películas .....	55
8.6	Determinación de Flavonoides en películas .....	56
8.7	Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico (ABTS).....	57
8.8	Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 1,1 -difeníl-2-picrilhidrazil (DPPH).....	58
8.9	Determinación de color.....	59
8.10	Propiedades mecánicas.....	61
8.10.1	Resistencia a la tracción .....	61
8.10.2	Porcentaje de Elongación .....	62
8.10.3	Módulo de Young.....	63
9	CONCLUSIONES.....	65
10	REFERENCIAS .....	66
11	ANEXOS .....	76

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1** Estructura de “superhélice” del colágeno que constituye un tercio de la proteína corporal total de los mamíferos (Seymour y Carraher, 1995). ..... 9

**Figura 2** Estructura general de la gelatina (Chávez y Martínez, 2010). ..... 11

**Figura 3** Acción de un plastificante (Bustamante-Montes et al., 2001). ..... 14

**Figura 4** Fórmula general del glicerol, debido a la presencia de grupos hidroxilo lo convierten en un plastificante hidrofílico (Cuq et al, 1997). ..... 15

**Figura 5** Estructura de compuestos fenólicos: Fenoles (a) y Flavonoides (b) los cuales poseen una estructura química adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres (Nijveldt et al., 2000). ..... 19

**Figura 6** Composición general del fruto xoconostle *Opuntia joconostle spp* (Reyes-Agüero y Valiente-Bannuet, 2006). ..... 20

**Figura 7** Las semillas del xoconostle se encuentran empaquetadas dentro de una estructura mucilaginoso conformada principalmente por arabinosa y xilosa (Reyes-Agüero y Valiente-Bannuet, 2006). ..... 21

**Figura 8** Estructura química de las betalaínas las cuales están conformadas por una fracción de Betacianinas (a) y Betaxantinas (b); las cuales son derivadas del ácido betalámico (Stintzing et al., 2005). ..... 22

**Figura 9** Estructura de un tensoactivo que presenta una fracción hidrofílica y una fracción hidrofóbica (Badui, 2006). ..... 26

**Figura 10** Esquema general del potencial Z en una partícula (Malvern, 2013). ..... 28

**Figura 11** Estrategia experimental..... 37

**Figura 12** Celda utilizada para la determinación de potencial Z de la nanoemulsión (Malvern, 2013). ..... 40

**Figura 13** Curva de calibración para Fenoles totales..... 42

**Figura 14** Curva de calibración para Flavonoides totales. .... 43

**Figura 15** Curva de calibración para el radical ABTS. .... 45

**Figura 16** Curva de calibración para el radical DPPH ..... 46

<b>Figura 17</b> Perfil de distribución de diámetro z promedio de las gotas de la nanoemulsión tipo agua en aceite conformada por filtrado de xoconostle y aceite esencial de naranja. ....	49
<b>Figura 18</b> Estabilidad cinética de nanoemulsión tipo agua en aceite (W/O).....	50
<b>Figura 19</b> Concentración de Betalaínas presentes en películas de gelatina. a,b,c,d,e,f Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey (P< 0.05). ....	54
<b>Figura 20</b> Concentración de Fenoles totales presentes en películas de gelatina. a,b,c,d,e,f Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey (P< 0.05). .....	55
<b>Figura 21</b> Concentración de Flavonoides totales presentes en películas de gelatina. a,b,c,d,e,f Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey (P< 0.05). ....	56
<b>Figura 22</b> Porcentaje de inhibición para el radical ABTS de las películas de gelatina con nanoemulsión W/O.....	57
<b>Figura 23</b> Porcentaje de inhibición para el radical DPPH de películas de gelatina con nanoemulsión tipo W/O.....	58
<b>Figura 24</b> Películas adicionadas con nanoemulsión, a).- tratamiento control 1:0 (sin nanoemulsión); b).- tratamiento 1:0.10 (0.076 mL de nanoemulsión); c).- tratamiento 1:0.25 .....	60
<b>Figura 25</b> Resultados de Resistencia a la tracción en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.....	62
<b>Figura 26</b> Resultados de Porcentaje de Elongación en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.....	63
<b>Figura 27</b> Resultados del Módulo de Young en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.....	64

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Uso y funciones de la gelatina en la industria alimentaria (Schrieber y Gareis, 2007). .....	12
<b>Tabla 2</b> Clasificación de los antioxidantes de acuerdo a su naturaleza; y su acción antioxidante (Venereo-Gutiérrez, 2002). .....	17
<b>Tabla 3</b> Formulación de una película comestible incorporando en ella compuestos bioactivos en forma de nanoemulsión tipo agua en aceite. ....	39
<b>Tabla 4</b> Actividad antioxidante de filtrado de xoconostle, aceite de naranja y nanoemulsión tipo W/O. ....	53
<b>Tabla 5</b> Determinación de color en películas de gelatina con nanoemulsión elaborada a base de extracto de xoconostle y aceite de naranja. ....	60

## RESUMEN

Las películas comestibles elaboradas a base de biopolímeros son de fácil degradación comparados los con empaques alimenticios sintéticos y sirven también como vehículos de compuestos bioactivos, obteniendo así empaques activos; los compuestos bioactivos como los que se encuentran en frutos y aceites esenciales presentan una gran desventaja, son susceptibles de perder sus propiedades funcionales debido a factores ambientales tales como luz, oxígeno y altas temperaturas, por lo que se ven beneficiados por un proceso de encapsulación como las nanoemulsiones. En el presente trabajo de investigación se elaboró una nanoemulsión de tipo agua en aceite (W/O) a partir de filtrado de xoconostle y aceite esencial de naranja, la cual se incorporó a películas comestibles de gelatina en diferentes proporciones 1:0 (control), 1:0.10, 1:0.25, 1:0.50, 1:0.75 y 1:1 (Gelatina: Nanoemulsión). Se evaluó la presencia de compuestos bioactivos (fenoles totales, flavonoides y betalaínas), capacidad antioxidante por inhibición de radicales ABTS y DPPH, tanto en filtrado de xoconostle, aceite de naranja, nanoemulsión y películas con nanoemulsión. También se evaluó la estabilidad de la nanoemulsión y se llevaron a cabo pruebas mecánicas y determinación de color en las películas. En el filtrado de xoconostle se obtuvieron valores de  $144.10 \pm 0.96$  mg EAG/100g para fenoles,  $90.01 \pm 0.76$  mg QE/100g para flavonoides y  $7.70$  mg /100g para betalaínas; en el aceite de naranja se obtuvieron  $129.23 \pm 0.71$  mg EAG/100g para fenoles,  $94.47 \pm 0.50$  mg QE/100g para flavonoides y en la nanoemulsión se obtuvieron  $174.22 \pm 0.21$  mg EAG/100g para fenoles,  $105.01 \pm 0.42$  mg QE/100g para flavonoides y  $3.70$  mg/100g para betalaínas. En cuanto a la actividad antioxidante medida como inhibición del radical ABTS los valores fueron de  $125.22 \pm 0.13$  mg EAA/100g para el filtrado de xoconostle,  $97.72 \pm 0.75$  mg EAA/100g para el aceite de naranja y  $147.65 \pm 1.13$  mg EAA/100g para la nanoemulsión. Con respecto a la inhibición del radical DPPH se obtuvieron  $91.82 \pm 2.96$  mg EAA/100g en el filtrado de xoconostle,  $119.34 \pm 2.14$  mg EAA/100g en el aceite de naranja y  $133.48 \pm 2.78$  mg EAA/100g en la nanoemulsión.

En cuanto a la estabilidad de la nanoemulsión los parámetros evaluados fueron el diámetro zeta promedio de las gotas, el cual resultó ser de  $125.76 \pm 3.09$  nm, el potencial Z, del cual se obtuvo un valor de  $69.9 \pm 4.59$  mV y la estabilidad cinética, presentando al tiempo 0 un diámetro zeta promedio de  $118.80 \pm 5.50$  nm, hasta alcanzar un diámetro zeta promedio de  $300.16 \pm 9.93$  nm después de 80 horas de análisis.

La presencia de compuestos bioactivos en las películas dependió de la cantidad de nanoemulsión adicionada a la matriz; para fenoles totales el tratamiento 1:1 presentó  $41.31 \pm 3.71$  mg EAG/g mientras que el tratamiento con la menor proporción de nanoemulsión (1:0.10) presentó  $10.38 \pm 0.92$  mg EAG/g, mostrando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre cada uno de los tratamientos, al igual que en flavonoides donde el valor máximo fue de  $28.03 \pm 3.25$  mg QE/g para el tratamiento 1:1 con la mayor proporción de nanoemulsión. En cuanto a la presencia de betalaínas el comportamiento fue similar a fenoles y flavonoides donde el tratamiento con la menor proporción de nanoemulsión (1:0.10) presentó el menor valor para Betalaínas, siendo de 0.014 mg/g. Mientras que la actividad antioxidante medida como inhibición del radicales ABTS y DPPH, los porcentajes mayores de inhibición los presentó el tratamiento 1:1 con 72.13% y 82.23% respectivamente.

Las películas de gelatina a las cuales se les incorporaron los compuestos nanoemulsionados presentaron una tonalidad amarilla (coordenada  $b^*$ ), esta tonalidad también se vio afectada por la proporción de nanoemulsión, mostrando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre cada uno de los tratamientos.

Las propiedades mecánicas como la resistencia a la tracción, porcentaje de elongación y módulo elástico o de Young también se ven afectadas por la proporción de nanoemulsión incorporada a la matriz; la resistencia a la tracción disminuye si se aumenta la concentración de nanoemulsión; el porcentaje de elongación aumentó cuando se aumentó la proporción de nanoemulsión y al aumentar la concentración de compuestos nanoemulsionados disminuyó la rigidez de la película; por lo tanto la incorporación de compuestos bioactivos nanoemulsionados a películas de gelatina dará como resultado películas con mayor capacidad antioxidante menor rigidez y mayor flexibilidad.

**ABSTRACT**

Edible films made from biopolymers are complete biodegradable compared to synthetic food packing and also they carry bioactive compounds, obtaining active packing; bioactive compounds such as those found in fruits and essential oils have an important disadvantage, they are easily degradable thus an encapsulation process like the one with nanoemulsions is beneficial for it. In this research a water in oil (W/O) nanoemulsion was made from xoconostle filtering and orange essential oil, which was later incorporated into edible films of gelatin in different ratios 1:0 (control), 1:0.10, 1:0.25, 1:0.50, 1:0.75 and 1:1 (Gelatin: Nanoemulsion). The presence of bioactive compounds (total phenolics, flavonoids and betalains), and antioxidant capacity by ABTS and DPPH free radical scavenging activity was evaluated in xoconostle filtering, orange oil, nanoemulsion and films added with nanoemulsion. The stability of nanoemulsions was also evaluated; mechanical test and color in films were measured. Results about filtered of xoconostle were  $144.10 \pm 0.96$  mgEAG/100g for phenolics,  $90.01 \pm 0.76$  mgQE/100g for flavonoids and  $7.70$  mg/100g for betalains; results about orange essential oil were  $129.23 \pm 0.71$  mgEAG/100g for phenols,  $94.47 \pm 0.50$  mgQE/100g for flavonoids and results about nanoemulsions were  $174.22 \pm 0.21$  mgEAG/100g for phenolics,  $105.01 \pm 0.42$  mgQE/100g for flavonoids and  $3.70$  mg/100g for betalains. Respect to the results of antioxidant activity measured as inhibition of the ABTS free radical, the values were  $125.22 \pm 0.13$  mgEAA/100g for xoconostle filtering,  $97.72 \pm 0.75$  mg EAA/100g for orange essential oil and  $147.65 \pm 1.13$  mgEAA/100g for nanoemulsion. Results regards to DPPH free radical scavenging activity were  $91.82 \pm 2.96$  mgEAA/100g for xoconostle filtering,  $119.34 \pm 2.14$  mg EAA/100g for orange essential oil and  $133.48 \pm 2.78$  mgEAA/100g for nanoemulsion.

On the other hand, the stability of nanoemulsions was evaluated base on the zeta average droplet diameter, which resulted in  $125.76 \pm 3.09$  nm, the zeta potential being of  $69.9 \pm 4.59$  mV and the kinetic stability showing a zeta average droplet diameter of  $118.80 \pm 5.50$  nm size at time 0 until reach a zeta average droplet diameter of  $300.16 \pm 9.93$  nm after 80 hours of analysis.

The presence of bioactive compounds in the films depended on the amount of nanoemulsion added to the polymer matrix; for total phenolics the 1:1 treatment displayed  $41.31 \pm 3.71$  mgEAG/g while the treatment with the lowest ratio of nanoemulsion (1:0.10) presented  $10.38 \pm 0.92$  mg EAG/g showing a significantly statistical difference ( $P < 0.05$ ) in all treatments like in flavonoids, where the maximum value was  $28.03 \pm 3.25$  mg QE/g for the 1:1 treatment (with the highest amount of nanoemulsion). Results in betalains showed a similar behavior to those in phenols and flavonoids, where the treatment with the smallest proportion of nanoemulsion (1:0.10) showed the lowest values of betalains 0.014 mg/g. While the antioxidant activity, measured by inhibition of ABTS and DPPH free radicals, showed the highest percentages of inhibition for the 1:1 treatment being of 72.13% and 82.23% respectively.

The gelatin films, at which the nanoemulsion was added, showed a yellow color ( $b^*$  coordinate), this color was also affected by the proportion of nanoemulsion in the film, showing significantly statistical differences ( $P < 0.05$ ) in all treatments.

The mechanical properties such as tensile strength, percentage of elongation and elastic modulus or Young's are also affected by the proportion of nanoemulsion added to the polymer matrix; the tensile strength decreased when the concentration of nanoemulsion was increased; the elongation percentage increased as the proportion of nanoemulsion was increasing; therefore the incorporation of nanoemulsions to gelatin films will result into less rigid and more flexible films with antioxidant capacity.

## 1 INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una alta demanda por empaques inteligentes que no sólo sirvan como recipientes del alimento sino que estos mismos le aporten una funcionalidad y además sean amigables con el medio ambiente. Por tal motivo, la elaboración de películas comestibles y empaques activos son una opción segura para cumplir con estas exigencias.

Las películas comestibles son capas delgadas de materiales que pueden ser ingeridos y totalmente biodegradables que se utilizan como empaques alimenticios, juegan un papel importante en la conservación del alimento porque protegen al mismo de posibles daños mecánicos, oxidativos y microbiológicos. Para que las películas comestibles actúen como protección a daños del alimento es necesario agregar a la matriz estructural algún aditivo como extractos de frutos y aceites esenciales. Dichos aditivos sirven para mejorar las propiedades de barrera de las películas.

La matriz estructural de las películas comestibles está conformada principalmente por biopolímeros, los cuales pueden ser de origen marino (quitina/quitosano), agrícola (lípidos y grasas e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos), microbiano (ácido poliláctico) y origen animal (colágeno/ gelatina). Además, las películas comestibles pueden actuar como vehículos de aditivos que brinden una función antioxidante y/o antimicrobiana, nombrándoles empaques activos (Falguera et al., 2011; Villada et al., 2007; Tharanathan, 2003).

Es importante conocer las propiedades de las películas comestibles adicionadas con algún aditivo para predecir el tipo de alimento sobre el cual se puede aplicar. Las propiedades de las películas ayudan a seleccionar las características del alimento como humedad, peso, vulnerabilidad a reacciones de oxidación, compatibilidad sensorial, la temperatura a la que se debe almacenar, entre otros; esto con la finalidad de lograr el principal objetivo de una película comestible que es mantener la calidad y prolongar la vida de anaquel del producto alimenticio (Sánchez-Aldana et al., 2015).

Además de la matriz estructural de biopolímero es necesario incorporar a la misma algún plastificante, el cual es una sustancia que ayuda a modificar las propiedades físicas y mecánicas de las películas comestibles (Stevens 1993).

Otros aditivos empleados para mejorar las propiedades funcionales de las películas comestibles pueden incluir agentes antioxidantes, aceites esenciales y antimicrobianos para formar empaques activos o inteligentes, que brindan al alimento atributos funcionales (Talja et al., 2007). Algunos de los compuestos bioactivos que pueden incorporarse a la matriz de la película que darán propiedades funcionales son los que se encuentran de manera natural en plantas y frutos, como los presentes en el género *Opuntia*, el cual se desarrolla en zonas áridas y semiáridas de México; abarca alrededor de 1500 especies de cactus y muchos de ellos producen frutas ácidas como el xoconostle, el cual es una fuente de fibra, vitamina C, calcio, hierro, compuestos fenólicos y betalaínas las cuales le confieren su color característico rojo-rosa. El xoconostle ha sido utilizado desde tiempos prehispánicos como ingrediente en la elaboración de alimentos o también puede ser consumido en fresco, pero no ha sido aprovechado ampliamente de manera industrial (García et al., 2002; Reyes et al., 2006; Torres-Maravilla et al., 2014).

Otra fuente de compuestos antioxidantes son los aceites esenciales, líquidos aromáticos que se extraen de diferentes partes de las plantas como las hojas, cortezas, flores, semillas y cáscaras. De acuerdo a la fuente de la que son extraídos los aceites esenciales presentan diferentes características las cuales los hacen susceptibles de ser utilizados como aditivos alimentarios o como compuestos activos en materiales de empaque, mejorando las propiedades de barrera al vapor de agua debido a su naturaleza hidrofóbica. Los aceites esenciales cítricos como el de naranja son extraídos de las cáscaras, las cuales son consideradas producto de deshecho en empresas de jugos; estos aceites presentan una elevada actividad antioxidante debido a la presencia  $\alpha$ -tocoferol y flavonas (Tongnuanchan y Benjakul 2013; Vargas-Arispuro et al., 1998).

La principal desventaja que presentan los compuestos bioactivos como los presentes en el xoconostle y el aceite esencial de naranja es su fácil degradación, por lo que se ven beneficiados por un método de encapsulación como las nanoemulsiones, las cuales son sistemas termodinámicamente inestables, presentan un tamaño de gota de 20-100 nm, y son transparentes o translúcidas; ya que las nanoemulsiones no se producen de manera espontánea, se emplean en la formación de estas métodos de alta energía como el ultrasonido, el cual permite la reducción del tamaño de la gota en volúmenes pequeños (McClements 2010; Solans et al., 2005).

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Películas comestibles

Las películas comestibles pueden definirse como capas delgadas de biomateriales que son utilizadas como empaques de alimentos actuando como barrera contra daños de oxidación, microbiológicos y físicos (Guilbert et al., 1995; Krochta y De Mulder, 1997).

Los empaques alimenticios desempeñan un papel fundamental sobre la conservación, distribución y algunas de sus funciones son contener el alimento, y protegerlo de la acción física, mecánica, química y microbiológica. Las películas comestibles surgen como una nueva tecnología en empaques la cual ayudará a disminuir la contaminación generada por los empaques alimenticios elaborados con materiales sintéticos, ya que tan solo entre 2003 y 2011 la generación de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) producidos en México creció un 25%, como resultado principalmente del crecimiento urbano, el desarrollo industrial, las modificaciones tecnológicas y los cambios en los patrones de consumo. De las 112.5 mil toneladas de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) generados diariamente durante el 2011, el 10.9% corresponde a los deshechos plásticos, dentro de estos se encuentran presentes los empaques alimenticios, por lo que este nuevo concepto de empaques conservará de manera integral el alimentos de tal forma que el empaque, el producto, y el medio ambiente interactúan para mantener la calidad del producto alimenticio, así como para incrementar el tiempo de vida y ser totalmente amigables con el ambiente porque son de origen natural (Ávila 2012; SEDESOL 2011; Suppakul et al., 2003; Viña et al., 2007)

Las películas comestibles contribuyen a mantener la calidad del producto, mejoran las propiedades sensoriales, aumentan su seguridad e incrementan la vida útil de productos actuando como un conjunto para mejorar la calidad del alimento y mejorar la eficiencia económica de los materiales de empacamiento.

Se producen a partir de biopolímeros, plastificantes y algunos otros aditivos tales como agentes antioxidantes, compuestos fenólicos, aceites esenciales y antimicrobianos (Beverly et al., 2008). Algunas de las funciones que desempeñan las películas comestibles son:

- a).- Reducir la pérdida de humedad.
- b).- Reducir el transporte de gases (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>).
- c).- Reducir el transporte de solutos.
- d).- Mejorar las propiedades mecánicas.
- e).- Proveer integridad estructural a los alimentos.
- f).- Retener los compuestos volátiles.
- g).- Pueden contener aditivos (Falguera et al., 2011).

Para que una película comestible sea considerada un buen material de embalaje debe cumplir con las siguientes características:

- 1.- Permitir la respiración lenta pero controlada del alimento.
- 2.- Crear una atmósfera modificada regulando el proceso de maduración, extendiendo la vida útil del alimento.
- 3.- Disminuir la migración de lípidos.
- 4.- Mejorar la manipulación mecánica.
- 5.- Servir como vehículo en la incorporación de aditivos (saborizantes, colorantes, antioxidantes, agentes antimicrobianos).
- 6.- Evitar el deterioro microbiano durante el almacenamiento prolongado (Kader 1989).

El uso de las películas comestibles se puede dar en alimentos que no están empaquetados individualmente por razones prácticas como peras, frijoles, nueces y fresas. También pueden aplicarse en el interior de los alimentos, entre las diferentes capas de los componentes, pueden adaptarse para evitar así el deterioro por humedad como en los pasteles; o bien aplicarse en la superficie del alimento para controlar la velocidad de difusión de sustancias de la superficie del alimento hasta el interior del mismo.

Su aplicación como material de empaque de alimentos multicapa puede ser en combinación con algún material sintético, en este caso las películas comestibles formarán parte de las capas internas del empaque que se encuentran en contacto directo con el alimento (Kester y Fennema 1986).

En la actualidad, las investigaciones acerca de empaques se enfocan en la formación de matrices poliméricas incorporando en ellas ingredientes bioactivos mediante el empleo de encapsulación. Las películas comestibles pueden actuar como vehículos para agentes antioxidantes o antimicrobianos, hablando así de empaques activos.

## **2.2 Empaques activos**

Los empaques activos son definidos por la Regulación Europea (No. 450/2009) como sistemas que incorporan componentes que se liberan o se absorben dentro o fuera del alimento empacado o el medio ambiente que lo rodea, para ampliar el tiempo de conservación o mejorar el estado de los alimentos empacados, por lo que el empaque activo hace más que simplemente proporcionar una barrera a factores externos nocivos que perjudiquen la calidad del alimento (Gómez-Estaca et al., 2015; López-Rubio et al., 2006).

Los principales objetivos de los empaques activos pueden agruparse en:

- 1.- Aumentar la vida útil del alimento manteniendo condiciones óptimas, protegiendo el alimento de agentes responsables de la alteración biológica, enzimática, química y física.

2.- Facilitar el proceso y el consumo del alimento diseñando empaques a medida de acuerdo a las necesidades de los productos alimenticios; disminuyendo la adición de aditivos (Álvarez 2000).

Adicionar compuestos antioxidantes al empaque para obtener un empaque activo tiene una gran ventaja sobre la adición de aditivos de manera directa al alimento, ya que al ser parte del empaque estos antioxidantes son liberados de manera gradual y controlada, lo que ayuda al alimento a mantener su inocuidad durante el almacenamiento; para que el empaque otorgue una capacidad antioxidante al alimento no necesariamente tiene que entrar en contacto directo con el mismo sino que esta capacidad se da por eliminación de radicales en el espacio superior del empaque (Mastromatteo et al., 2010).

El compuesto antioxidante que se adiciona debe ser totalmente compatible con el material del empaque (biopolímero) con el fin de lograr una distribución homogénea; la elección del compuesto dependerá también del tipo de alimento al cual se aplicará el empaque. Para alimentos con un alto contenido de lípidos es adecuado un compuestos apolar (Decker, 1998).

En la actualidad la nanotecnología es utilizada como una opción viable para la encapsulación de compuestos bioactivos los cuales al ser incorporados a los empaques, actuarán como portadores de los mismos, mejorando así las propiedades de barrera; por lo que es necesario evaluar las propiedades de los empaques activos tales como estabilidad microbiológica, solubilidad, color, propiedades mecánicas y sensoriales así como la permeabilidad al vapor de agua; al conocer estas propiedades se podrá optimizar su elaboración y su aplicación (Falguera et al., 2011; Korhonen, 2002; Rojas-Grau et al., 2009).

### 2.3 Biopolímeros

Los biopolímeros son generados por sistemas biológicos o pueden ser sintetizados a partir de materiales renovables, por lo que su característica principal es que su degradación llega a ser de un par de semanas o pocos meses (Shimao, 2001). Pueden clasificarse de acuerdo a la fuente de la que son extraídos: origen marino (quitina/quitosano), origen agrícola (lípidos e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos), origen microbiano (goma xantana) y origen animal (colágeno/gelatina) (Tharanathan, 2003). Adicionalmente las proteínas (biopolímeros de origen agrícola) que se han utilizado para la elaboración de películas pueden clasificarse de acuerdo a su origen en proteínas de origen vegetal y de origen animal.

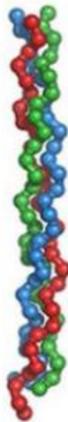
Las películas elaboradas a base de proteína de origen vegetal como las que se han desarrollado a base de zeína (fracción proteica del maíz) son películas duras y menos resistentes al vapor de agua, impermeables a la grasa y son prácticamente insolubles en agua debido a la gran cantidad de aminoácidos no polares que posee; mientras que las películas obtenidas a base de proteína de suero de leche son películas flexibles, con buenas propiedades de barrera al oxígeno, lípidos y aromas. Las películas a base de colágeno se caracterizan por ser claras, flexibles e impermeables al oxígeno, pero no presentan buena permeabilidad al vapor de agua por su naturaleza hidrofílica (Pérez-gago y Krochta, 2001; Ryu et al., 2002; Tharanathan, 2003).

Desde un punto de vista práctico, los biopolímeros tienen dos ventajas principales sobre los polímeros sintéticos utilizados en empaques: son biodegradables y están disponibles a partir de fuentes renovables (Johanson et al., 2012). Dependiendo del tipo de biopolímero y su procedencia, forman estructuras continuas ya sean cristalinas o amorfas, por lo que son utilizados para la elaboración de empaques actuando como barrera frente a sustancias que se desean entren en contacto con el alimento que contienen, estos empaques obtenidos a partir de compuestos naturales y dependiendo del tipo de biopolímero el empaque presentará características distintivas (Guilbert y Gontard, 2005).

## 2.4 Colágeno

Es una proteína dura y fuerte que forma parte principal del tejido conectivo como huesos, piel, tendones cartílago y los ligamentos de los animales; constituye alrededor de un tercio de la proteína corporal total en mamíferos y su fuerza se deriva de su estructura de “superhélice” (Figura 1) la cual está constituida por polipéptidos helicoidales hacia la derecha entrelazados para formar una cadena helicoidal triple hacia la izquierda. Cada cadena tiene un longitud de 300 nm y un diámetro de 1.5 nm aproximadamente.

La triple hélice está estabilizada por numerosos puentes de hidrógeno e interacciones intermoleculares de Van der Waals así como también por algunos enlaces covalentes (Sisken et al., 1993; Seymour y Carraher, 1995).



**Figura 1** Estructura de “superhélice” del colágeno que constituye un tercio de la proteína corporal total de los mamíferos (Seymour y Carraher, 1995).

Hay diferentes tipos de colágeno. Cada tipo tiene su propia secuencia de aminoácidos, pero todas contienen una cantidad significativa de estructura triple helicoidal; pero debido a sus propiedades y disponibilidad (hueso, cartílago, tendón) el colágeno tipo I es el utilizado como biomaterial (Sisken et al., 1993; Seymour y Carraher, 1995).

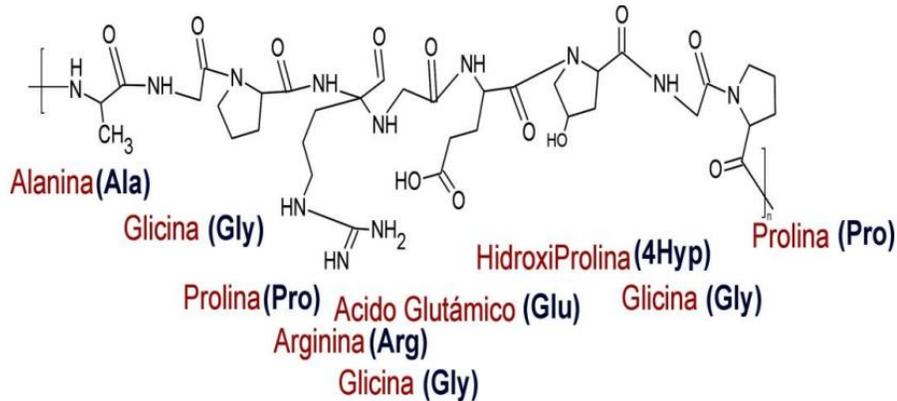
El colágeno tipo I está compuesto por 2 cadenas de 1050 aminoácidos aproximadamente por cadena; contiene alrededor de  $\frac{1}{3}$  de Glicina, no contiene triptófano y es muy bajo en histidina y tirosina. Es el único tipo de colágeno que puede ser utilizado para la elaboración de gelatina la cual puede ser obtenida de diferentes recursos como bovino, porcino, piel de pescado y patas de pollo. Sin embargo la composición de aminoácidos varía únicamente un poco como por ejemplo las gelatinas obtenidas de la piel o huesos de cerdo no contienen cistina, pero al mismo tiempo las gelatinas de piel de pescado y sus huesos contienen menos glicina que las hechas con recursos mamíferos (Seymour y Carraher, 1995).

El colágeno se utiliza para hacer las películas de proteínas comestibles más exitosas comercialmente. Las películas elaboradas a partir de colágeno ofrecen varias ventajas: son biocompatibles y no tóxicas (Hood et al., 1998).

#### **2.4.1 Gelatina**

La gelatina es una proteína extraída del colágeno de los animales, derivado de la piel de cerdo huesos y pieles de bovino; tiene diferentes propiedades, es el único hidrocoloide que es una proteína y que se funde de forma reversible por debajo de la temperatura corporal (Anal y Shing 2007); la gelatina contiene un gran número de aminoácidos tales como la alanina, glicina, prolina, 4-hidroxiprolina, entre otros.

La estructura típica de la gelatina se muestra en la figura 2 es *-Ala-Gly-Pro-Arg-GlyGlu-4Hyp-Gly-Pro-*. Puede ser fácilmente entrecruzada, además de ser totalmente biodegradable. El entrecruzamiento puede llevarse a cabo por medio de varias técnicas químicas, incluyendo glutaraldehído, entre otros químicos. El peso molecular de la gelatina varía de 15.000 a 250.000 g/mol; es soluble en agua, ácido acético y en la mayoría de los disolventes orgánicos (Chávez y Martínez, 2010).



**Figura 2** Estructura general de la gelatina (Chávez y Martínez, 2010).

El comportamiento físicoquímico de la gelatina se determina principalmente por la secuencia de aminoácidos que presenta, la estructura resultante espacial, la distribución de masa molecular, así como a diferentes condiciones como pH, fuerza iónica y reacción con otros componentes.

Las propiedades funcionales de la gelatina se pueden dividir en dos grupos. El primero tiene propiedades que se asocian con su propiedad gelificante, por ejemplo, resistencia de gel, el tiempo de gelificación, la temperatura de fusión y la viscosidad. El segundo grupo se refiere al comportamiento de la superficie de la gelatina, por ejemplo, la formación y estabilización de espumas y emulsiones.

Las propiedades más importantes de la gelatina son:

Propiedades asociados con su propiedad gelificante:

- La formación de gel
- De textura
- El engrosamiento vinculado al agua

Efectos de superficie:

- Formación de la emulsión y estabilización

- Función de coloide protector
- La formación de espuma y la estabilización
- Formación de película
- La adhesión / cohesión

Para poder medir las propiedades de gelificación de la gelatina se utiliza la escala en grados Bloom. Para las gelatinas comerciales los valores en grados Bloom se encuentran dentro del intervalo de 50 a 300.

La gelatina con un alto valor de grados Bloom tienen característicamente un punto de fusión y un punto de gelificación mayor; así como los tiempos de gelificación más cortos en el producto final, su color y olor son más neutrales y un poder de gelificación más fuerte lo que significa que se requieren cantidades más pequeñas de gelatina para lograr la firmeza deseada en los productos finales (Schrieber y Gareis, 2007).

Gracias a sus propiedades y características de gelificación (Tabla 1) la gelatina es uno de los primeros biomateriales usados para la formación de películas a base de biopolímeros y continúa siendo usada debido a su gran abundancia y a su bajo costo de producción, a su alta disponibilidad y principalmente a sus excelentes propiedades para formar películas; estas películas son claras, flexibles, fuertes y presentan una alta permeabilidad al oxígeno (Baldwin et al., 2011).

**Tabla 1** Uso y funciones de la gelatina en la industria alimentaria (Schrieber y Gareis, 2007).

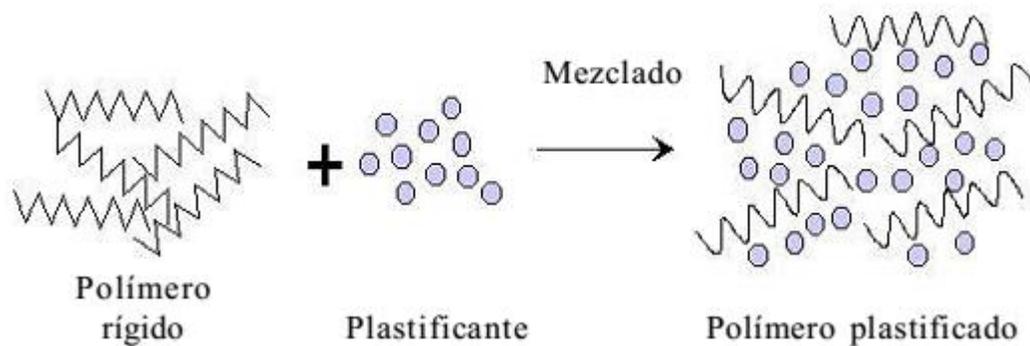
<b>Aplicación</b>	<b>Tipo de Gelatina</b>	<b>Concentración</b>	<b>Función principal</b>	<b>Función adicional</b>
	200-260			
Postres	Bloom	1.5-3.0%	Formación de gel	Textura, Brillo
	200-280			Textura, elasticidad,
Gomitas	Bloom	6.0-10%	Formación de gel	brillo

Malvaviscos	160-200 Bloom	1.0-3.0%	Formación de espuma	Estabilizador de espuma, formación de gel
Turrone	180-220 Bloom	1.5-3.0%	Formación de espuma	Estabilizador de espuma, formación de gel
Pastillas	160-220 Bloom	1.0-2.0%	Agente ligante	Textura, mejora de las propiedades de fusión en la boca
Caramelos	140-200 Bloom	0.5-2.5%	Emulsificante, formación de espumas	Masticabilidad
Yogurt	220-260 Bloom	0.2-1.0%	Estabilizante	Textura cremosidad
Postres de leche	180-240 Bloom	0.3-3.0%	Formación de espuma	Textura, estabilizante
Gelatina de leche	180-240 Bloom	1.0-2.0%	Formación de gel	Textura, cremosidad
Carne salchichas	220-260 Bloom	0.5-2.0%	Estabilizante de emulsión	Retención de agua

## 2.5 Plastificante

Son sustancias no volátiles de bajo peso molecular que se adicionan a un material polimérico para modificar propiedades físicas y mecánicas (Stevens, 1993). Un plastificante tiene como efecto principal abatir la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>). La temperatura de transición vítrea se define como la temperatura a la cual las propiedades mecánicas cambian debido a los movimientos internos de las cadenas poliméricas. Para que un plastificante pueda ser utilizado debe cumplir dos requisitos, tener una temperatura de

transición vítrea baja y debe ser completamente miscible en el biopolímero. La Tg de un biopolímero plastificado es una función del contenido de plastificante. La Tg es importante al almacenar una película a una cierta temperatura, ya que si la temperatura de almacenamiento es menor a la Tg de la película se obtendría una película rígida y si es mayor, una película flexible (Bustamante-Montes et al., 2001).



**Figura 3** Acción de un plastificante (Bustamante-Montes et al., 2001).

La adición de plastificantes permite la obtención de películas menos frágiles y más flexibles y dóciles (Figura 3), dado que estos compuestos debilitan las interacciones moleculares del biopolímero incrementando así su flexibilidad y favoreciendo la formación de una red estructural más homogénea lo que permite una mejor distribución de las sustancias hidrofóbicas (Guilbert et al., 1995; Yang y Paulson, 2000).

El uso de los agentes plastificantes no siempre es necesario o deseado ya que una de las propiedades que se ve afectada por la incorporación de estos agentes en las soluciones formadoras de películas es la permeabilidad a los gases. Se ha observado un incremento en la permeabilidad al vapor de agua, CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> de las películas a base de polisacáridos y proteínas, a medida que la concentración de plastificante aumenta (Yang y Paulson, 2000).

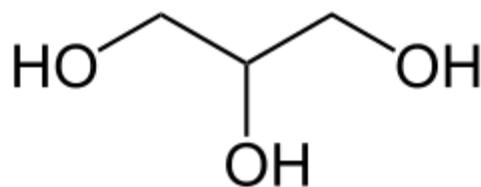
Con excepción del agua que es considerado como un plastificante natural en la mayoría de las películas elaboradas a base de hidrocoloides los más utilizados son los polioles como el

propilenglicol, glicerol y sorbitol. Todos los agentes plastificantes deben ser compatibles con el polímero (Maté y Krochta, 1996).

El sorbitol y el glicerol son los agentes plastificantes más comúnmente utilizados en las películas elaboradas a partir de gelatina, puesto que son compuestos hidrofílicos (Figura 4) de bajo peso molecular.

El glicerol es un líquido viscoso, incoloro, inodoro y de sabor dulce, su fórmula química es  $C_3H_8O_3$ , su peso molecular es de 92.1 g/mol y también se le conoce con el nombre de glicerina, alcohol glicílico o también 1,2,3-Propanotriol. Dentro de su estructura contiene grupos hidroxilo (OH) (Figura 3) lo que lo hace una sustancia hidrofílica. Es un producto valioso por el gran número de aplicaciones, porque fisiológicamente es inocuo y puede utilizarse para la elaboración de diferentes productos.

Al utilizarlo como plastificante en películas elaboradas a partir de gelatina debido a su bajo peso molecular y su naturaleza hidrofílica el glicerol se fija fácilmente a la red de proteínas y forma puentes de hidrógeno con los grupos reactivos, produciendo así interacciones plastificante-proteína; dando lugar a películas sensibles al agua, menos rígidas y más extensibles (Cuq et al, 1997).



**Figura 4** Fórmula general del glicerol, debido a la presencia de grupos hidroxilo lo convierten en un plastificante hidrofílico (Cuq et al, 1997).

## 2.6 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos son sustancias químicas que se encuentran en plantas y alimentos como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales (Instituto Nacional del

cáncer de Estados Unidos). La función principal de los compuestos bioactivos es inhibir o impedir las reacciones de oxidación evitando así el daño oxidativo (Venereo-Gutiérrez, 2002).

El daño o estrés oxidativo se define como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno (Ames et al., 1993).

El oxígeno puede ser reducido por menos de cuatro electrones durante el metabolismo para producir metabolitos reactivos de oxígeno parcialmente reducidos. Muchas de estas especies reactivas son los radicales libres, los cuales contienen un número impar de electrones.

Los radicales libres son pequeñas moléculas difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo. Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

- Radical hidroxilo (HO)<sup>•</sup>
- Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- Anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)
- Oxígeno singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)
- Oxígeno nítrico (NO)
- Peróxido (ROO)
- Semiquinona (Q)
- Ozono

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular (Venereo-Gutiérrez, 2002).

Para impedir o retrasar esta oxidación existen moléculas que se unen al oxígeno al reaccionar más rápido con los radicales libres del oxígeno; estas sustancias son conocidas como “antioxidantes”.

**Tabla 2** Clasificación de los antioxidantes de acuerdo a su naturaleza; y su acción antioxidante (Venereo-Gutiérrez, 2002).

Origen	Acción
1. Exógenos	
Vitamina E	Neutraliza el oxígeno singlete Captura radicales libres hidroxilo Captura O <sub>2</sub> Neutraliza peróxidos
Vitamina C	Neutraliza el oxígeno singlete Captura radicales libres hidroxilo Captura O <sub>2</sub> Regenera la forma oxidativa de la vitamina E
Betacarotenos, Polifenoles y Licopenos	Neutraliza el oxígeno singlete

---

## 2. Endógenos

### Enzimáticos

Superóxido dismutasa (SOD)      Protección contra el anión superóxido, dismutan el oxígeno para formar Peróxido de hidrógeno.

Catalasa (CAT)      Actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

### 3. No enzimáticos

Glutación peroxidasa (GPx)      Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células

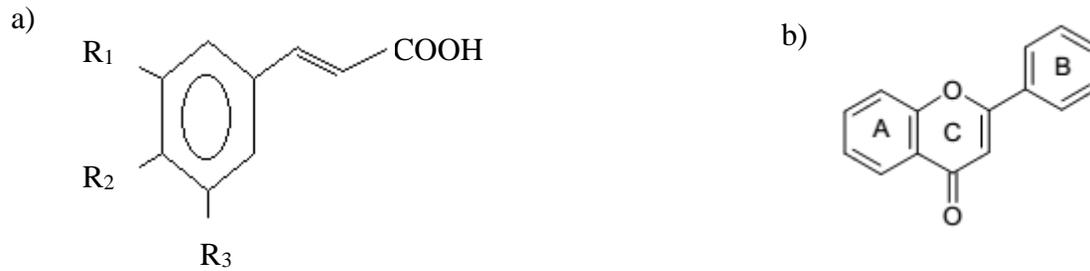
Coenzima Q      Transportadores de metales

---

### 2.6.1 Polifenoles

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante que incluye a los fenoles ácidos y flavonoides. La actividad antioxidante de los polifenoles se ha relacionado con su capacidad para prevenir falla cardíaca, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captore de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes (Figura 5a). Además, debido a su reactividad, se encuentran en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero.



**Figura 5** Estructura de compuestos fenólicos: Fenoles (a) y Flavonoides (b) los cuales poseen una estructura química adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres (Nijveldt et al., 2000).

Los flavonoides, son un grupo extenso de compuestos derivados del benzo- $\gamma$ -pirano. Poseen varios grupos hidroxilos enlazados a estructuras anulares, C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, (Figura 5b). Dependiendo del grado de oxidación y de sustitución del anillo pirano central pueden subdividirse en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianinas. Las flavonas, como la quercetina, se encuentran en la cebolla y lechuga, otra flavanona denominada fisetina está presente en cítricos (Mattila y Kumpulainen, 2002; Nijveldt et al., 2000).

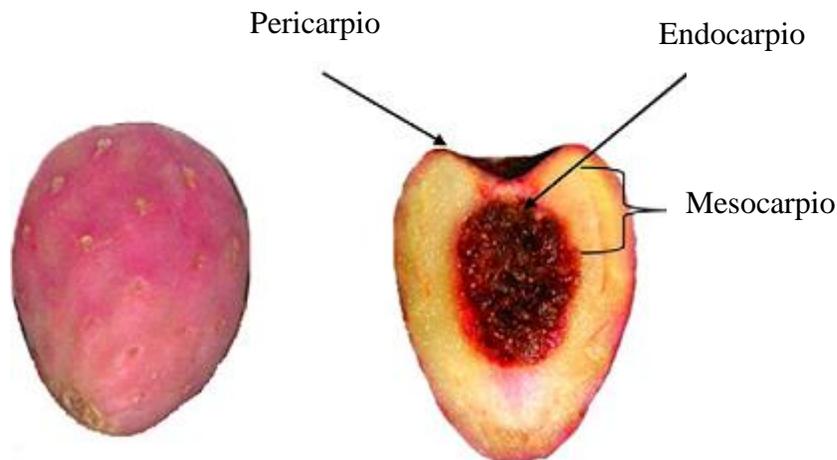
Las frutas, constituyen una de las principales fuentes de compuestos fenólicos en la dieta. En ellas es frecuente encontrar derivados de los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, antocianinas, flavonoides, entre otros (Macheix y Fleuriet, 1990).

## 2.7 Xoconostle

La familia de las cactáceas está integrada por alrededor de 2000 especies distribuidas por lugares de clima desértico o muy seco, principalmente en América Central y del Sur. En México se conocen alrededor de 100 especies de cactáceas. Entre la enorme riqueza de

México en plantas cactáceas destaca el nopal tunero, la pitaya y el xoconostle, las cuales han sido domesticadas hasta convertirse en cultivos especializados.

El término xoconostle se deriva de los vocablos náhuatl *nochtli*=tuna y *xoco*=agria tuna ácida o agria (pH de 3.7 a 4.5) y su fruto se consume fresco o procesado, es una fruta consumida desde tiempos prehispánicos especialmente en la región semiárida del centro de México. En el Estado de Hidalgo la producción de xoconostle se encuentra en los municipios de Pachuca, Zempoala, Villa de Tezontepec, Cuautepec y la región del Valle del Mezquital incluido el municipio de Tezontepec de Aldama; este fruto es utilizado como condimento en salsas y algunos platillos de la cocina típica mexicana; así como en la elaboración de dulces, jaleas y bebidas. El fruto puede permanecer en la planta durante meses sin sufrir deterioro y puede permanecer en ambientes secos y frescos sin perder su sabor color o humedad durante varias semanas (Maldonado et al., 2009).



**Figura 6** Composición general del fruto xoconostle *Opuntia joconostle* spp (Reyes-Agüero y Valiente-Bannuet, 2006).

El xoconostle se caracteriza por piel o pericarpio el cual tiene un grosor de 1.0 - 3.0 mm de grueso lo que equivale al 14.5 % del fruto con un color rojo-rosa, con un mesocarpio succulento con un grosor de 1.0-1.3 cm lo que equivale al 70% del fruto y un profundo endocarpio color rojo que contiene pequeñas semillas color marrón (Figura 6). Estas semillas están empaquetadas dentro de una estructura mucilaginosa la cual es un polisacárido

complejo formado principalmente por arabinosa y xilosa como se muestra en la figura 7 (Maldonado et al., 2009; Reyes-Agüero y Valiente-Bannuet, 2006).



**Figura 7** Las semillas del xocónostle se encuentran empaquetadas dentro de una estructura mucilaginosa conformada principalmente por arabinosa y xilosa (Reyes-Agüero y Valiente-Bannuet, 2006).

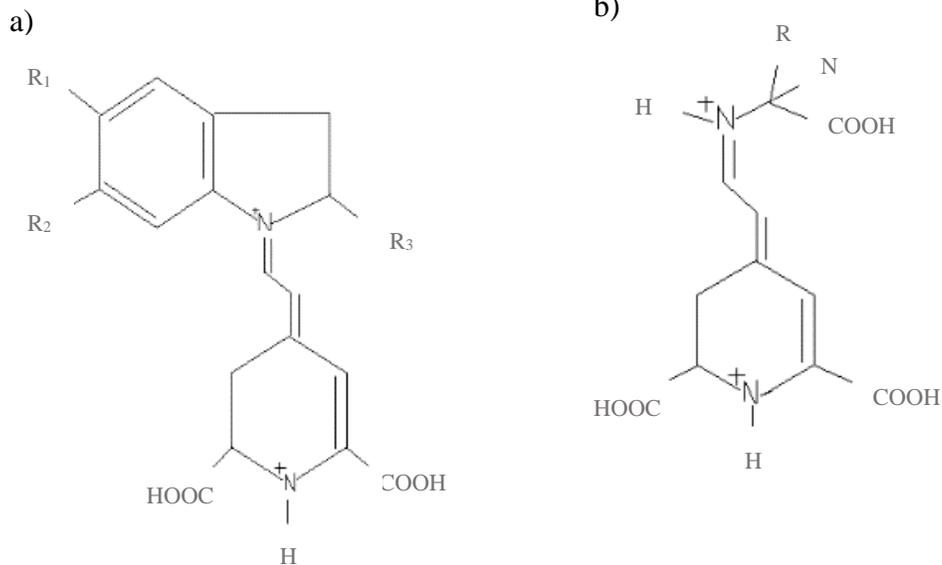
El xocónostle contiene gran variedad de minerales entre los que destacan el calcio, hierro, aluminio, magnesio, potasio, sílice, sodio, manganeso, sulfatos y fosfatos; además de ser una rica fuente de compuestos antioxidantes como ácidos fenólicos y betalaínas (Osorio-Esquivel et al., 2011; Scheinvar y Manzanero, 2009).

En México, al xocónostle se le atribuyen propiedades medicinales por la cantidad de compuestos bioactivos que contiene como las betalaínas; como la prevención y tratamiento en enfermedades de tipo gastrointestinales, obesidad, control de diabetes, enfermedades coronarias, diabetes, reducción en los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en sangre (Scheinvar y Manzanero, 2009).

### **2.7.1 Betalaínas**

Son pigmentos de origen natural solubles en agua derivados del ácido betalámico; dependiendo de la naturaleza de la adición de los residuos de ácido betalámico,

las betalainas se puede dividir en dos grupos: las betacianinas (Figura 7a) y las betaxantinas (Figura 7b).



**Figura 8** Estructura química de las betalainas las cuales están conformadas por una fracción de Betacianinas (a) y Betaxantinas (b); las cuales son derivadas del ácido betalámico (Stintzing et al., 2005).

De las betacianinas que dan una coloración rojo-púrpura su principal representante es la betanina presente en un 70-95%; mientras que en las betaxantinas que dan coloración amarilla se encuentra en mayor proporción la vulgaxantina I en un 95%. La estabilidad de estos pigmentos naturales depende de factores como la temperatura, luz, pH presencia de oxígeno y actividad de agua (Stintzing et al., 2005).

## 2.8 Aceite esencial de naranja

La naranja dulce pertenece a la familia de las Rutáceas, familia que contiene unas 1700 especies de plantas; dentro de esta familia las plantas más conocidas son los cítricos; dentro de este género *Citrus* encontramos a la naranja común *Citrus sinensis*, la naranja china *Citrus japonica*, la naranja amarga *Citrus aurantium*, la mandarina *Citrus reticulata*, el limón *Citrus limon*, el pomelo *Citrus paradisi*, la lima *Citrus aurantifolia* y la toronja *Citrus medica* (Weiss 1997). Los cítricos crecen en lugares con clima cálido y templado; en México los principales estados productores de naranja son Sonora, Nuevo León y Tamaulipas (Cruz et al., 1997). Los cítricos se caracterizan por sus frutos grandes que contienen cantidades abundantes de ácido cítrico  $[C_3H_4OH(COOH)_3]$ , el cual les proporciona el característico sabor ácido.

De la cadena productiva de cítricos se obtienen productos como jugos, concentrados, néctares, purés, pulpas, jaleas y mermeladas. Los subproductos en la industria de jugos, constituidos por cáscaras, semillas, membranas y vesículas de jugo, representan aproximadamente el 50% del peso de la fruta entera original; estos subproductos pueden utilizarse en alimentación animal, pero los precios no son lo suficientemente rentables así que el desarrollo de productos alternativos de mayor valor agregado como los aceites esenciales es una muy buena alternativa (Marín et al., 2007).

Los aceites esenciales se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos o a los brotes en flor. Algunas de sus funciones son repelentes de insectos nocivos, atraer a insectos para la polinización o simplemente son un producto metabólico intermedio (Arze et al., 2005).

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites tanto vegetales como minerales. Por lo general, no son oleosos al tacto. Sus compuestos derivan biológicamente del ácido mevalónico y se les cataloga como terpenos, siendo los más abundantes los monoterpenos ( $C_{10}$ ) y los

sesquiterpenos ( $C_{15}$ ) que son ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utilizan también en jabones, desinfectantes y productos similares.

Para la extracción de los aceites esenciales los métodos más utilizados son:

- Prensado mecánico: el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado; es utilizado en los casos de cítricos.
- Hidrodestilación: la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentada, la esencia arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada debido a su alto rendimiento y alta pureza del aceite obtenido (Gutiérrez y Villegas, 2013; Martínez, 1996).

La cáscara de naranja contiene 5.436 kg de aceite de los cuales aproximadamente el 90% es de d-limoneno. El aceite esencial de naranja tiene una marcada estabilidad antioxidante que se atribuye a la presencia de  $\alpha$ -tocoferol y d-limoneno; pero esta actividad antioxidante no sólo puede atribuirse exclusivamente a  $\alpha$ -tocoferol sino a una actividad sinérgica de todos los compuestos antioxidantes como las flavonas que tiene este aceite (Vargas Arispuro et al., 1998; Waters et al., 1976).

La biodisponibilidad oral de compuestos bioactivos como los que se encuentran presentes en los aceites esenciales puede verse aumentada cuando se encapsulan dentro de los sistemas de liberación que contienen partículas pequeñas, aunque este fenómeno probablemente dependerá de la composición y estructura del sistema (McClements et al., 2007).

## 2.9 Emulsiones

Una emulsión es un sistema disperso constituido por la homogeneización o dispersión de dos o más fluidos no miscibles, en el que una de estas fases se encuentra distribuida en otra de forma discontinua, una de las fases suele ser agua o una disolución acuosa y la otra una sustancia orgánica. En general, una emulsión consiste en al menos dos líquidos inmiscibles (generalmente aceite y agua), donde uno de los líquidos se dispersa en forma de pequeñas gotas esféricas en la otra (McClements, 2010; Solans et al., 2001).

### 2.9.1 Clasificación de emulsiones

La clasificación de las emulsiones en función del tamaño de partículas dispersa en la fase continua:

- a).- Macroemulsiones: tamaño de gota 1-100  $\mu\text{m}$ .
- b).- Miniemulsiones o nanoemulsiones: tamaño de gota 20-500 nm.
- c).- Microemulsiones: tamaño de gota inferior a 100 nm.

La principal diferencia entre las macroemulsiones y las microemulsiones es que las macroemulsiones o emulsiones propiamente dicho no son sistemas termodinámicamente estables; mientras que las microemulsiones si lo son (Solans et al., 2005).

### 2.9.2 Clasificación de las emulsiones en base a la fase dispersa

Las emulsiones pueden clasificarse dependiendo de cuál sea el líquido que compone a la fase dispersa:

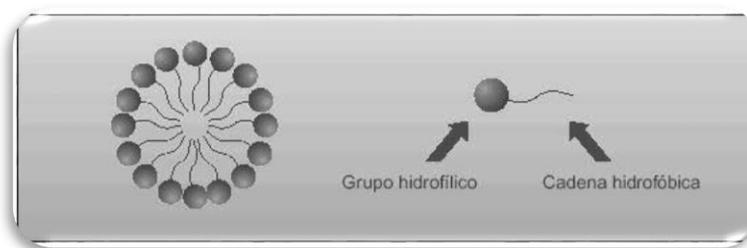
- Aceite-en-agua (o/w) gotas de aceite dispersas en agua.

- Agua-en-aceite (w/o) gotas de agua dispersas en aceite.
- Aceite-en-agua-en aceite (o/w/o) emulsión doble.
- Agua-en-aceite-en-agua (w/o/w) emulsión doble

La aplicación de las emulsiones múltiples a alimentos ofrece interesantes posibilidades ya que aparece como una estrategia potencialmente útil en procesos de reducción de energía, enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los productos o liberación controlada y protección de ingredientes lábiles durante el procesado. Con tales posibilidades, la aplicación de emulsiones múltiples se presenta como una herramienta interesante en el diseño y desarrollo de alimentos funcionales ya que pueden emplearse como un producto intermedio (como ingrediente alimentario) dentro de las estrategias empleadas en la optimización de la presencia de compuestos bioactivos (Dickinson, 2011).

Para la formación de emulsiones es necesaria la presencia de tensoactivos o también llamados emulsificantes, surfactantes, emulsivos o emulgentes; estas sustancias estabilizan las mezclas de líquidos inmiscibles, evitando la sinéresis o separación de fase ya que actúan en la interfase de la emulsión. Estos tensoactivos reducen la tensión superficial y hacen que las dos fases se establezcan al lograr un contacto estrecho.

Los emulsionantes son agentes anfifílicos constituidos por dos fracciones diferentes: una parte hidrófila que se solubiliza en agua, y otra hidrófoba o lipófila, que lo hace mejor en los lípidos (Figura 9).



**Figura 9** Estructura de un tensoactivo que presenta una fracción hidrofílica y una fracción hidrofóbica (Badui, 2006).

La eficacia de los tensoactivos está ligada a su solubilidad en cada fase y para ejercer una mejor acción debe ser más soluble en la fase continua; por ejemplo, una emulsión aceite en agua requiere un emulsionante más hidrosoluble. Sin embargo, esta regla se modifica por efecto de la temperatura; entonces, si un emulsionante se solubiliza fácilmente en agua fría, es probable que al aumentar la temperatura lo haga mejor en los lípidos (Badui, 2006).

## **2.10 Nanoemulsiones**

Las nanoemulsiones son sistemas transparentes o traslucidos con un tamaño de partícula que va de 20 a 200 nm, son termodinámicamente inestables, para evitar que coalescan o floculen es necesaria la presencia de tensoactivos los cuales actúan sobre el radio de adsorción de la gota; pueden perder su transparencia con el tiempo como resultado del incremento del tamaño de gota. La formación de las nanoemulsiones al ser sistemas no equilibrados no pueden formarse de forma espontánea; por lo tanto es necesario la aplicación de energía mecánica para su formación. Algunos de los métodos de alta energía utilizados para la formación de nanoemulsiones son: agitación de alta cizalla, altas presiones de homogeneización y ultrasonido (Tadros et al., 2004; Walstra, 1993).

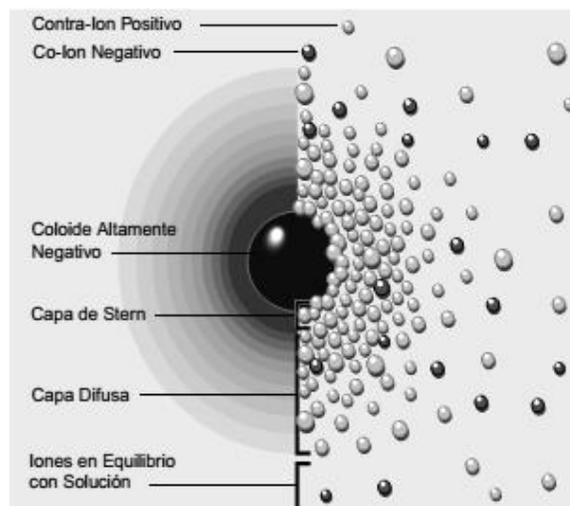
### ***2.10.1 Estabilidad de nanoemulsiones***

Las nanoemulsiones de tipo agua en aceite (W/O) no son considerados sistemas termodinámicamente estables ya que tienden a romperse como resultado de la gravedad, separación y floculación; debido a que el tamaño de partícula de las nanoemulsiones es muy pequeño estas le confieren estabilidad contra la sedimentación alargando su vida de anaquel; tienden a ser turbias u opacas debido a que el tamaño que presentan las gotas es similar a la longitud de onda de la luz, lo que significa que las partículas suspendidas en un líquido no son estacionarias sino que se encuentran en constante movimiento debido al movimiento

browniano que es el movimiento de las partículas que se encuentran inmersas en un fluido (McClements, 2010; Tadros et al., 2004).

Otro parámetro a considerar para la evaluación de la estabilidad de las nanoemulsiones es el potencial Z. El desarrollo de una carga neta en la superficie de la partícula afecta a la distribución de iones en la región interfacial que la rodea, lo que resulta en un aumento de la concentración de iones de carga opuesta a la de la partícula cerca de la superficie (Figura 10). La capa de líquido que rodea la partícula existe como dos partes; una región interior, llamado la capa de Stern, donde los iones están fuertemente ligados y una región exterior o difusa, donde están menos firmemente unidos los iones; por lo tanto existe una doble capa eléctrica alrededor cada partícula. Si todas las partículas en suspensión tienen un gran potencial zeta negativo o positivo, entonces tienden a repelerse entre sí y no flocculan; sin embargo, si las partículas tienen valores de potencial zeta bajos, entonces no hay fuerza para impedir la partículas que se unan (Malvern, 2013).

De acuerdo al valor del Potencial Z variará la estabilidad de las nanoemulsiones, siendo menos estables y presentando aglomeraciones las nanoemulsiones que muestren valores de -5 a -10 mV; moderada estabilidad de -41 a -50 mV; muy buena estabilidad de -51 a -60 mV; de excelente estabilidad de -61 a -80 mV y de una máxima estabilidad de -81 a -125 mV (Schramm, 2006).



**Figura 10** Esquema general del potencial Z en una partícula (Malvern, 2013).

Las nanoemulsiones tienen un comportamiento como cualquier coloide y sus partículas que se encuentran en suspensión están cargadas en mayor o menor medida lo cual provoca que exista entre ellas repulsión, entre mayor sea esta repulsión la nanoemulsión sea más estable (McClements et al., 2009).

### ***2.10.2 Ventajas y limitaciones del uso de nanoemulsiones en alimentos***

- **Ventajas.**

- 1.- Son fáciles de preparar en comparación con sistemas de emulsiones más estructurados.
- 2.- Útiles cuando se requiere claridad óptica en un producto.
- 3.- Por lo general tienen buena estabilidad a la separación gravitacional, floculación y coalescencia.
- 4.- Son útiles cuando se requiere la liberación y/o absorción rápida de componentes funcionales debido a su pequeño tamaño y gran área superficial.

- **Desventajas.**

- 1.- Hay sólo un número limitado de emulsionantes disponibles de grado alimenticio.
- 2.- Se requiere una concentración relativamente grande de emulsionante para cubrir todas las superficies de las gotitas formadas durante la homogeneización, elevando los costos (Qian y McClements., 2011).

### ***2.10.3 Formación de nanoemulsiones***

La formación de las nanoemulsiones no puede darse de forma espontánea; por lo tanto es necesario la aplicación de energía mecánica para su formación.

Algunos de los métodos de alta energía utilizados para la formación de nanoemulsiones son: agitación de alta cizalla, altas presiones de homogeneización y ultrasonido.

El método de ultrasonido es una técnica no destructiva, rápida y fiable, una superficie sólida que vibra, agita la emulsión premezclada en frecuencias ultrasónicas, típicamente 20 kHz o mayor, y alta potencia, causando un gran cizallamiento y cavitación que rompe las gotas.

Puesto que el área de sonido emitido es no homogénea, en la mayoría de los sistemas, es necesario recircular la emulsión a través de la región de alta energía de manera que todas las gotas deben experimentar la alta velocidad de cizallamiento. Para obtener una gota de tamaño razonablemente uniforme, es necesario que el sistema sea recirculado muchas veces a través de la región de alta cizalla; la nanoemulsificación por sonicación presenta problemas en términos de reproducibilidad debido a la dificultad de controlar los núcleos de cavitación (Mason et al., 2006).

### 3 ANTECEDENTES

La necesidad de disminuir la producción de empaques a base de materiales sintéticos en los últimos años ha impulsado la investigación para crear empaques totalmente biodegradables y para lograrlo se están elaborando empaques a base de biopolímeros, como colágeno que es de origen animal y se obtiene de huesos, cartílago y pieles. Por ser de origen natural los biopolímeros presentan deficiencias para ser aplicados como empaques alimenticios, por lo que es necesario incorporar a ellos sustancias que mejoren sus propiedades físicas y mecánicas como plastificantes y compuestos bioactivos, obteniendo empaques activos que no solo contienen el alimento y son biodegradables sino que aportan un beneficio extra.

Los empaques activos ofrecen muchas posibilidades en la conservación de alimentos, por lo que es importante conocer la interacción que tienen los compuestos bioactivos con el biopolímero, para optimizar la formulación de los empaques. La incorporación de compuestos bioactivos como los que se encuentran presentes en los aceites esenciales o extractos de frutos en cantidades óptimas ayudará a garantizar que se está elaborando un empaque activo (Debeaufourt et al., 1998, Rodríguez et al., 2001, Shimaó et al., 2001, Tharanathan, 2003).

La tendencia actual para utilizar la gelatina (proteína extraída del colágeno) como material de empaques en alimentos se centra en el desarrollo de películas con mejores propiedades mecánicas, permeabilidad, transparencia y capacidad antioxidante; estas propiedades se verán influenciadas por la incorporación de sustancias que favorezcan y potencialicen las propiedades de la película como los son los extractos naturales obtenidos de plantas y frutos como fuentes de compuestos antioxidantes (Ahmad et al., 2012; Gomez-Guillen, et al., 2011).

Tongnuanchan et al., (2012) incorporaron a matrices de gelatina de piel de pescado aceites esenciales cítricos de lima y limón, usando como plastificante glicerol y como tensoactivo tween 20; la incorporación de los aceites cítricos afectó las propiedades mecánicas,

su permeabilidad al vapor de agua, color y transparencia, así como su capacidad antioxidante, este cambio dependió del tipo de aceite esencial cítrico y la concentración del mismo adicionada a la matriz polimérica.

Genskowsky et al., (2015) incorporaron extracto de *Aristotelia chilensis* o maqui, al 1% v/w a películas elaboradas a base de quitosano utilizando como plastificante glicerol, obteniendo películas con resaltada actividad antioxidante y antimicrobiana, la cual se atribuye a los ácidos fenólicos, flavonoides o las antocianinas procedentes del extracto del fruto.

Una manera de potencializar los compuestos bioactivos como los presentes en el xoconostle y el aceite de naranja es encapsulándolos, por tal motivo la nanoencapsulación podría ser una alternativa para evitar las pérdidas de compuestos volátiles en la etapa de secado de películas.

## 4 JUSTIFICACIÓN

La elaboración de películas comestibles a base de biopolímeros ha tomado una gran importancia durante las últimas décadas debido a la alta contaminación producida por los residuos contaminantes como los empaques elaborados a partir de compuestos sintéticos dado que su descomposición llega a tardar varios años, por otro lado la elaboración de empaques a partir de compuestos naturales totalmente biodegradables es una alternativa para poder sustituir de manera paulatina los empaques sintéticos. Una de las grandes ventajas que se tiene en los envases de origen natural es que se puede incorporar a ellos compuestos bioactivos que dan al empaque una funcionalidad adicional y son amigables con el ambiente.

Los aditivos como los compuestos antioxidantes que se incorporan a la matriz polimérica al ser de origen natural pueden ser asimilados en el organismo, permitiendo que no solo el producto sea beneficiado al usar la matriz polimérica como protección sino que da al alimento una nueva versión del mismo.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto de la incorporación de nanoemulsiones tipo agua en aceite (W/O) conteniendo compuestos bioactivos de xoconostle y aceite de naranja en las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de películas comestibles a base de gelatina.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar la formulación de la película de gelatina adicionada con compuestos nanoemulsionados de filtrado de xoconostle y aceite de naranja.
- Determinar compuestos bioactivos (Betalaínas, Fenoles y Flavonoides) en filtrado de xoconostle, nanoemulsión y películas de gelatina con nanoemulsión.
- Evaluar la capacidad antioxidante por porcentaje de inhibición de radicales ABTS y DPPH de las películas de gelatina adicionadas con la nanoemulsión de tipo agua en aceite.
- Determinar el color en las películas de gelatina adicionadas con nanoemulsión.
- Evaluar las propiedades mecánicas de la película comestible a la cual se le aplicó la nanoemulsión.

## **6 HIPÓTESIS**

La adición de compuestos bioactivos de filtrado de xoconostle y aceite de naranja nanoemulsionados otorgarán a la película de elaborada a base de gelatina capacidad antioxidante así como propiedades mecánicas distintivas de acuerdo a la concentración de nanoemulsión incorporada a la matriz.

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Materiales

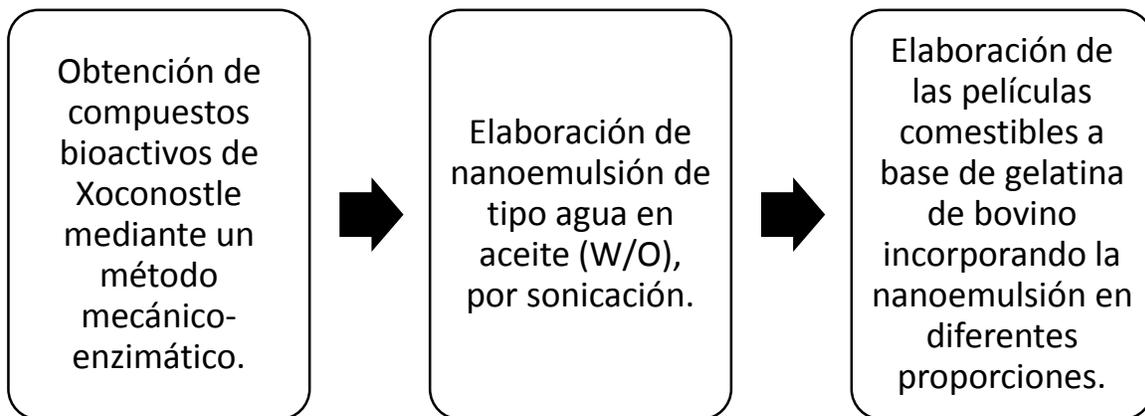
- **Material vegetal**

El xoconostle (*Opuntia oligacantha* C.F. Först) que se utilizó en este proyecto de investigación fue de la variedad Ulapa obtenido del municipio de Tezontepec de Aldama, Estado de Hidalgo 20°11'33"N 99°16'23"O.

La gelatina que se utilizó para la formación de las películas comestibles es de bovino W225 donada por el taller de Tecnología del Cuero de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. El aceite esencial de naranja utilizado para la formación de las nanoemulsiones marca CEDROSA Central de Drogas S.A. de C.V. lote número IT1460214. Los tensoactivos utilizados fueron lecitina de soya líquida marca REASOL Reactivos Analíticos-Colorantes-Indicadores lote 9800 utilizada como tensoactivo en la nanoemulsión y lecitina de soya en polvo que se utilizó como tensoactivo en la adición de la nanoemulsión a la gelatina fundida es de la Distribuidora Greep S.A. de C.V.

### 7.2 Establecimiento del experimento

Para obtener la película adicionada con compuestos bioactivos primero se obtuvo el filtrado de xoconostle por medio de un proceso mecánico enzimático, para posteriormente utilizarlo como fase dispersa en la nanoemulsión que tuvo como fase dispersante el aceite esencial de naranja (W/O); la nanoemulsión se elaboró por un método de ultrasonido y esta se incorporó a la película elaborada a base de gelatina para así finalmente obtener la película comestibles con compuestos bioactivos (Figura 11).



**Figura 11** Estrategia experimental

### 7.3 Métodos

#### 7.3.1 *Obtención del filtrado de xoconostle por método mecánico-enzimático*

Se tomaron 4 piezas de xoconostle en estado de madurez fisiológico, los frutos fueron procesados en una licuadora industrial (Waring HGBSS, Torrington, Connecticut, EUA), durante 3 minutos y se filtró; al filtrado obtenido se le adicionó el compuesto enzimático (Rohapect B 1L) en una relación de 100  $\mu$ L por cada 200 g de filtrado obtenido, se dejó en maceración en vaso de precipitado protegido de la luz, durante 3 horas a 20 °C. Pasado este tiempo, la muestra se colocó en un baño de hielo con la finalidad de detener la actividad enzimática. Posteriormente la muestra fue filtrada utilizando papel Whatman No. 2, ajustando el peso a 100 g. El permeado fue almacenado en refrigeración a 4°C hasta su utilización por un tiempo no mayor a 6 días para evitar procesos de fermentación (Pérez-Alonso et al., 2015).

### ***7.3.2 Elaboración de la nanoemulsión***

La nanoemulsión fue del tipo agua en aceite W/O; para su elaboración los porcentajes que se utilizaron fueron 70% de aceite de naranja (CEDROSA Central de Drogas S.A. de C.V. lote número IT1460214); 20 % del filtrado de xoconostle y tensoactivo lecitina de soya en estado líquido como tensoactivo (REASOL Reactivos Analíticos-Colorantes-Indicadores lote 9800) y se sometieron a ultrasonido (Ultrasonido Sonics Vibra-cell) con sonda de 6 mm de diámetro durante 20 intervalos de 59 segundos de sonicación con periodos de descanso de 10 segundos usando 80% de amplitud con una frecuencia de 20 kHz, una vez obtenida la nanoemulsión se conservó en refrigeración protegida de la luz hasta su análisis y utilización (Salvador, 2015).

### ***7.3.3 Elaboración de la película comestible***

Una vez que se obtuvo la nanoemulsión (extracto de xoconostle/aceite de naranja/lecitina de soya líquida), la elaboración de la película comestible se basó en lo establecido por Aguirre-Álvarez et al., (2011) con algunas modificaciones; se inició con pesado en una balanza analítica (Lab-Tech modelo ADAM) de 0.76 g de gelatina W225 la cual se hidrató en 10.9 ml de agua fría y se sometió 10 min a un baño con temperatura controlada de 60°C (Scorpion Scientific); por otro lado 0.76 g de lecitina en polvo se hidrataron en un volumen de 9 ml de agua y se sometieron a calentamiento por 3 minutos a 70 °C esto para permitir una hidratación total y evitando grumos que podrían afectar la estructura de la película; ya hidratada la lecitina se agregaron a esta 3.9 g de Glicerol (MEYER Lote 130510106) y esta mezcla lecitina/glicerol se adicionó a la gelatina hidratada y fundida y se sometió a agitación en un equipo Ultraturax (IKA T25) a 3200 rpm durante 3 minutos; posteriormente se fue adicionando la nanoemulsión en proporciones diferentes en relación gelatina: nanoemulsión como se muestra en la tabla 3, gota a gota manteniéndola en agitación (Ultraturax IKA T25) a 3200 rpm por 10 minutos hasta que se incorporó en su totalidad la nanoemulsión,

se retiró del Ultraturrax y se vació en un placa Petri limpia (100 mm x 15 mm) colocándola en la estufa Felisa a una temperatura de 25 °C durante 24 horas; una vez seca la película se retiró de la placa con ayuda de guantes de látex para evitar la transferencia de residuos que puedan afectar las características de la película final y se mantuvieron en bolsas individuales a temperatura ambiente hasta su análisis.

**Tabla 3** Formulación de una película comestible incorporando en ella compuestos bioactivos en forma de nanoemulsión tipo agua en aceite.

Nanoemulsión:Gelatina	Agua (mL)	Gelatina (g)	Glicerol (g)	Lecitina en polvo (g)	Nanoemulsión (mL)
Control (1:0)	20	0.80	4.00	0.0	0.0
1:1	19.2	0.76	3.92	0.76	0.76
1:0.75	19.4	0.76	3.94	0.76	0.42
1:0.50	19.6	0.76	3.96	0.76	0.38
1:0.35	19.8	0.76	3.98	0.76	0.19
1:0.10	19.9	0.76	3.99	0.76	0.076

#### 7.3.4 Extracción de compuestos Bioactivos de nanoemulsión y filtrado de xoconostle

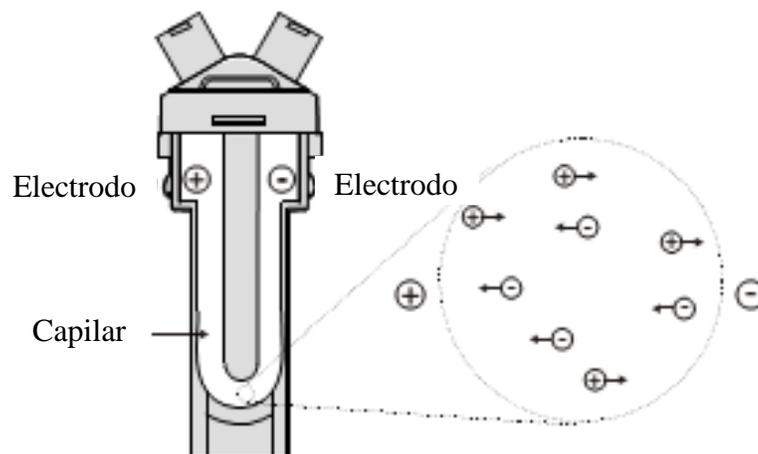
Se colocó 1 mL de la muestra (filtrado de xoconostle, nanoemulsión) en vaso de precipitado y se adicionaron 20 mL de una solución de etanol: agua (50:50), y se agitó por 10 min en una parrilla con agitación magnética (Marca CORNING modelo PC-420 USA) y posteriormente se centrifugó a 10000 rpm por 20 min a 4°C; se retiró el sobrenadante manteniéndolo en vaso de precipitado cubierto a la luz. Al sedimento obtenido del paso anterior se adicionaron 20 mL de una solución acetona: agua (70:30) y se sometió a las mismas condiciones que el paso anterior. Se mezclaron los dos sobrenadantes y se agitaron por 5 min y se centrifugaron bajo las mismas condiciones descritas anteriormente obteniendo así los compuestos bioactivos, conservando la muestra en refrigeración y en oscuridad hasta su análisis (Morales 2012).

### 7.3.5 Extracción de compuestos Bioactivos de la película de gelatina

Se llevó a cabo por la metodología de Sáenz et al., (2009) con algunas modificaciones, se colocó 1g de la película en tubo de ensayo con 10 ml de una solución de etanol:agua (50:50), se sometió a baño ultrasónico por 30 min y posteriormente se centrifugó a 11000 rpm a 4°C durante 20 min, el sobrenadante se guardó en tubo de ensayo con tapón protegido de la luz y en refrigeración hasta su análisis por no más de 3 días.

### 7.3.6 Potencial Zeta

La nanoemulsión fue colocada en una celda acoplada a electrodos de oro como muestra la figura 12 (Dip cell) y se introdujo a un equipo Zetasizer con una longitud de onda de 633-650 nm (Modelo Nano-ZS2000 Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, Reino Unido) para determinar el potencial zeta de la nanoemulsión.



**Figura 12** Celda utilizada para la determinación de potencial Z de la nanoemulsión (Malvern, 2013).

### 7.3.7 *Tamaño de las gotas de las nanoemulsiones*

La muestra fue colocada en una celda de vidrio y se le determinó la distribución del tamaño de las gotas mediante la técnica de dispersión dinámica de luz láser usando un equipo Zetasizer (Modelo Nano-ZS2000 Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, Reino Unido).

### 7.3.8 *Cuantificación de Betalaínas totales*

Se siguió la metodología de Castellanos-Santiago y Yahia, (2008) describe que las betaxantinas se absorben a una longitud de onda de 483nm y las betacianinas a 535nm. El cálculo de la relación determina la concentración de las Betalaínas totales. Se tomó el extracto de la película para realizar la prueba espectrofotométrica; se tomó 1 mL de muestra y se mezcló con 20 mL de alcohol metílico al 20 % las lecturas de las muestras se tomaron las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro (Marca JENWAY, Modelo 6705) a una longitud de onda de 483nm y 538nm, se utilizará como blanco alcohol metílico al 80%.

Los resultados se expresaron en términos de concentración de betalaínas totales, betacianinas y betaxantinas.

$$BC(\text{mg/g}) = [A(\text{DF})(\text{MW})V_d/\epsilon l W_d]$$

Donde:

A = 535 nmλ (para betacianinas)

A = 483 nmλ (para betaxantinas)

DF= Factor de dilución

V<sub>d</sub>=Volumen de muestra seca en solución

W<sub>d</sub>= peso de la muestra seca

MW= peso molecular 550 g/mol (para betacianinas)

MW= peso molecular 308 g/mol (para betaxantinas).

ε= 60 000 L/(mol cm) (par betacianinas).

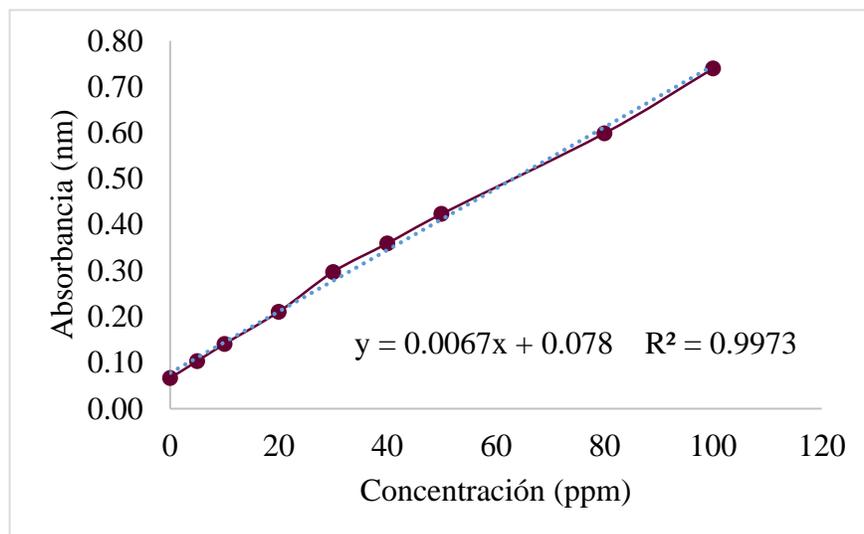
ε=48 000 L/(mol cm) (par betaxantinas).

l= longitud de la celda (1 cm).

Betalaínas = betacianinas + betaxantinas

### 7.3.9 Determinación de Fenoles totales

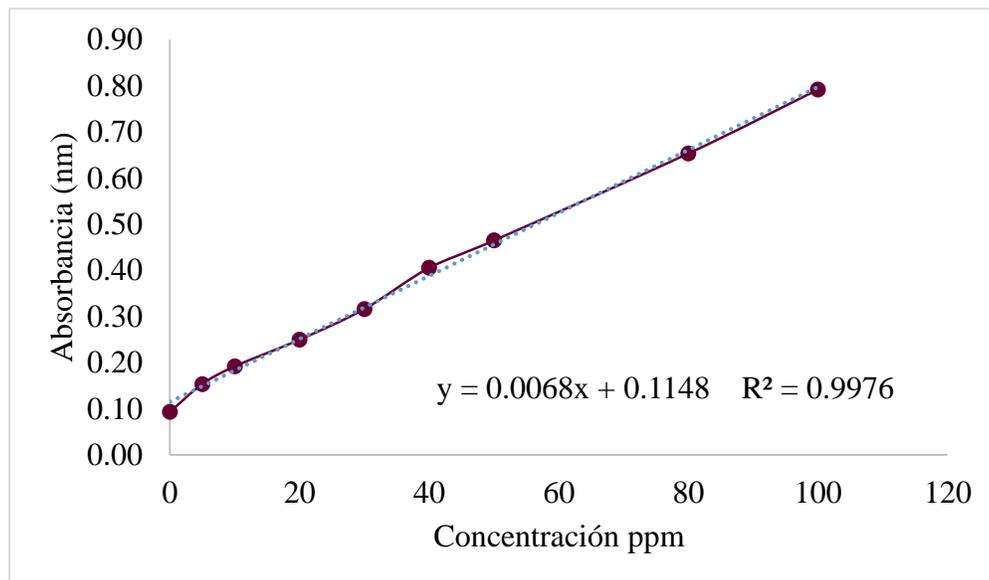
Se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Se tomaron 0.5mL de la muestra (película con nanoemulsión) en tubos de ensaye cubiertos con papel aluminio, se mezclaron con 2.5mL de reactivo diluido de Folin-Ciocalteu (1:10) (Sigma-Aldrich México, Edo. De México, México) se dejaron reposar durante 5min. Posteriormente se agregaron 2mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% hasta lograr una mezcla homogénea. Se dejaron reposar durante 2 horas y después se tomaron las absorbancias de la mezcla en un espectrofotómetro (Marca JENWAY, Modelo 6705), utilizando celdas de cuarzo, a una longitud de onda de 760nm. Los resultados obtenidos, fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG/1g de muestra); por lo que fue necesario elaborar una curva de calibración como se muestra en la figura 13; preparando para tal objetivo una solución madre de ácido gálico a una concentración de 1000 mg/L; a partir de esta solución madre se obtuvieron las diluciones necesarias utilizadas en la curva de calibración.



**Figura 13** Curva de calibración para Fenoles totales.

### 7.3.10 Determinación de Flavonoides

Se realizó mediante el método de Dowd, adaptado por Arvouet-Grand et al., (1994). Se utilizó una solución de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) (Fermont, Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México) al 2% en metanol. Posteriormente se colocaron 2mL de la muestra (película comestible con nanoemulsión), se agregaron 2mL de solución metanólica de  $\text{AlCl}_3$ , se dejaron reposar por 20min en la oscuridad, posteriormente fueron registradas las absorbancias obtenidas con celda de cuarzo a una longitud de onda de 415nm en un espectrofotómetro (Marca JENWAY, Modelo 6705). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de Quercitina (mg/EQ)/1g de muestra por lo que fue necesario elaborar una curva de calibración como se muestra en la figura 14; preparando para tal objetivo una solución madre de Quercitina a una concentración de 1000 mg/L; a partir de esta solución madre se obtuvieron las diluciones necesarias utilizadas en la curva de calibración.

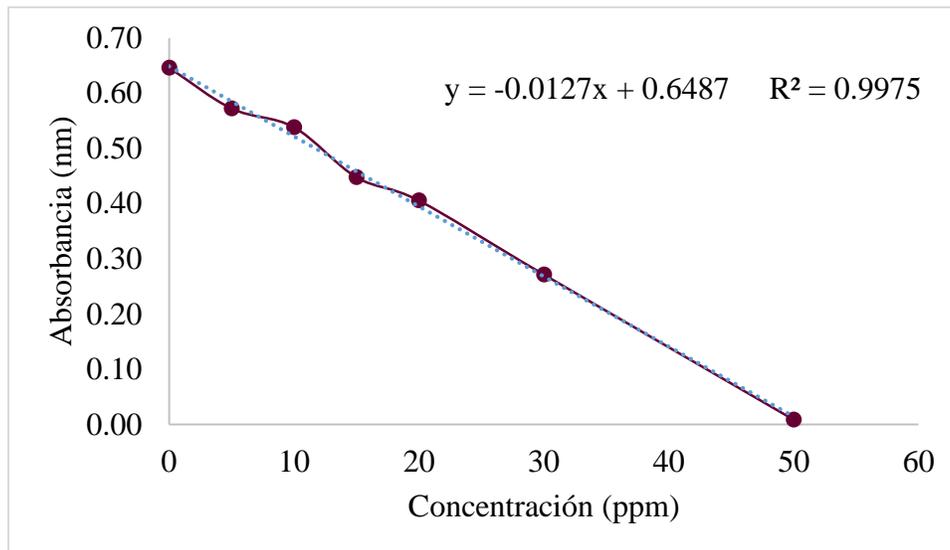


**Figura 14** Curva de calibración para Flavonoides totales.

---

### ***7.3.11 Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico, ABTS.***

Para la determinación de actividad antioxidante por el radical ABTS se basó en la decoloración del radical ABTS. El radical ABTS (Sigma-Aldrich México, Toluca, México)  $7\mu\text{M}$ , se hizo reaccionar con persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (Sigma-Aldrich México, Toluca, México)  $2.45\mu\text{M}$ , mezclando ambos reactivos, en una proporción de 1:1, la mezcla se dejó en agitación en una platina (Marca CORNING modelo PC-420 USA) con ayuda de un agitador magnético y cubierta con papel aluminio por aproximadamente 16 horas, antes de comenzar las determinaciones. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol al 20%, hasta alcanzar una absorbancia entre  $0.7\pm 0.01$  a una longitud de onda de 734nm. Se tomaron 2 mL del radical ABTS estabilizado y se mezclaron con 0.2 mL de muestra (filtrado de xoconostle, extracto de nanoemulsión y de película con nanoemulsión) y se dejó reposar 6 min para su posterior medición en celda de cuarzo en espectrofotómetro (Marca JENWAY, Modelo 6705) (Re et al., 1999). Los resultados de filtrado de xoconostle, aceite esencial de naranja y de nanoemulsión fueron expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico (mg/EAA)/g por lo que fue necesario elaborar una curva de calibración (figura 15), preparando una solución madre de ácido ascórbico a una concentración de 1000 mg/L; a partir de esta solución madre se obtuvieron las diluciones necesarias utilizadas en la curva de calibración.



**Figura 15** Curva de calibración para el radical ABTS.

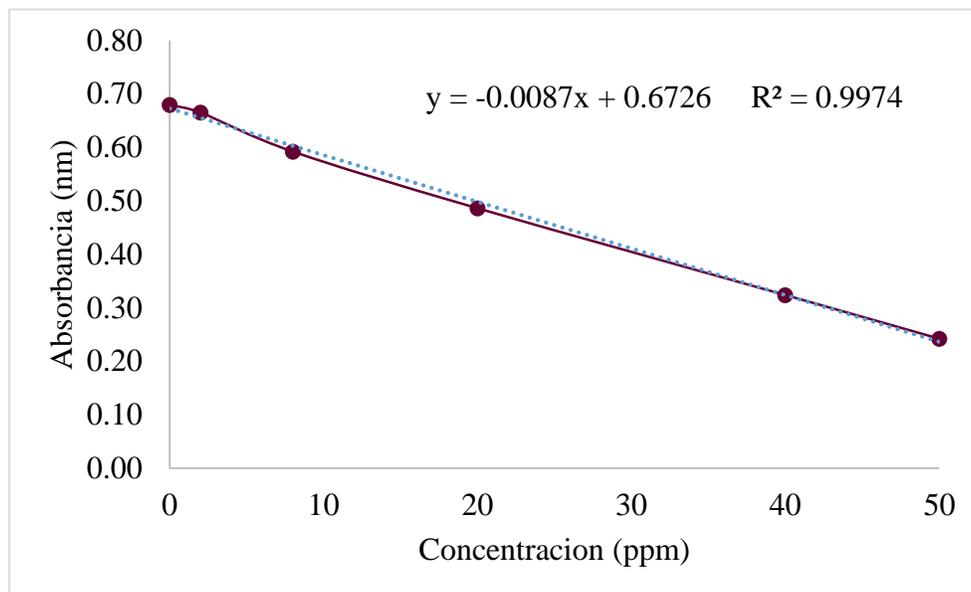
Para la determinación del porcentaje de inhibición del radical ABTS en las películas adicionadas con nanoemulsión la fórmula utilizada fue:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia inicial} - \text{Absorbancia final}}{\text{Absorbancia inicial}} \times 100$$

### ***7.3.12 Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 1,1 -difenil-2-picrilhidrazil, DPPH.***

Para la determinación de la actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH se agregaron 2.5mL de una solución metanólica de DPPH  $6.1 \times 10^{-5}$  M, se hicieron reaccionar con 0.5mL de muestra (filtrado de xoconostle, extracto de nanoemulsión y película con nanoemulsión), la mezcla se dejó reposar en la obscuridad durante 30 min, posteriormente se registraron las lecturas en una celda de cuarzo en espectrofotómetro (Marca JENWAY,

Modelo 6705) a una longitud de onda de 515nm (Brand-Williams et al., 1995). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico (mg EAA/g) para filtrado de xoconostle, aceite esencial de naranja y nanoemulsión, por lo que fue necesario elaborar una curva de calibración (figura 16), preparando una solución madre de ácido ascórbico a una concentración de 1000 mg/L; a partir de esta solución madre se obtuvieron las diluciones necesarias utilizadas en la curva de calibración.



**Figura 16** Curva de calibración para el radical DPPH

Para la determinación del porcentaje de inhibición del radical DPPH en las películas adicionadas con nanoemulsión la fórmula utilizada fue:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia inicial} - \text{Absorbancia final}}{\text{Absorbancia inicial}} \times 100$$

### 7.3.13 Determinación de color en películas

Esta determinación se realizó mediante un colorímetro por reflexión “Hunter Lab”, el cual se basó en el empleo de funciones trigonométricas. Una rueda de color dividida en 360 °; con rojo púrpura situado en el extremo derecho en el ángulo 0; el amarillo en 90 °; el verde – azul en 180 ° y el azul en 270 °, el Hunter Lab, indicó el cambio de coloración en 3 direcciones; L\*, a\* y b\*, las cuales marcan los cambios de brillantez. L\* mide la oscuridad a luminosidad, a\* representa el rojo si es positivo y el verde si es negativo; b\* corresponde al amarillo si es positivo y al azul en caso de ser negativo (AOAC, 2000), así como la diferencian neta de color en comparación con la película control (1:0) por la ecuación Francis y Clydesdale:

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

Donde:

$\Delta L^*$ = Diferencia de brillo

$\Delta a^*$ = Diferencia de enrojecimiento

$\Delta b^*$ = Diferencia de amarilleo

### 7.3.14 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas como el porcentaje de elongación, resistencia a la tracción y módulo de Young de las películas fueron evaluadas de acuerdo al método estándar ASTM D882-95a (ASTM, 1995a, 1995b) con un texturómetro con celda de carga de 50 kg (Brookfield CT3 texture analyzer, Reino Unido); la película fue cortada en rectángulos de 10 cm de largo por 1cm de ancho, estos fueron mantenidos durante 14 días en desecadores con una solución saturada de NaBr (57% de humedad relativa). La separación entre los medidores fue de 5cm fijando los extremos de los rectángulos de la película, a una velocidad de deformación de 0.10 mm/s. Se realizaron 8 repeticiones por cada tratamiento.

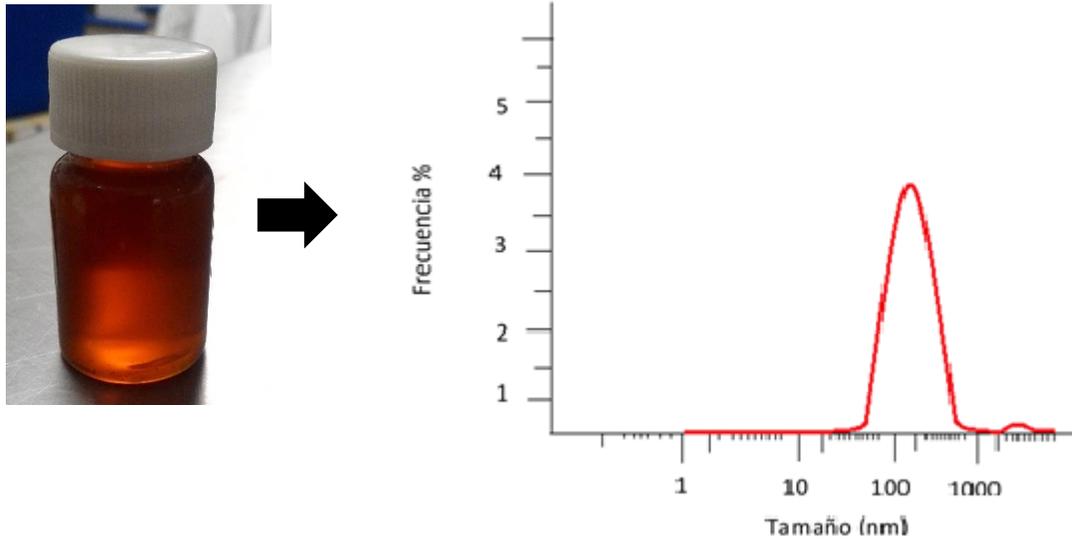
#### **7.4 Análisis de resultados**

Para el análisis estadístico los experimentos se llevaron a cabo por triplicado y los datos obtenidos se analizaron por medio de un análisis de varianza ANOVA por prueba Tukey usando un programa estadístico SPSS considerando un nivel de significancia  $P < 0.05$ .

## 8 RESULTADOS Y DISCUSIONES

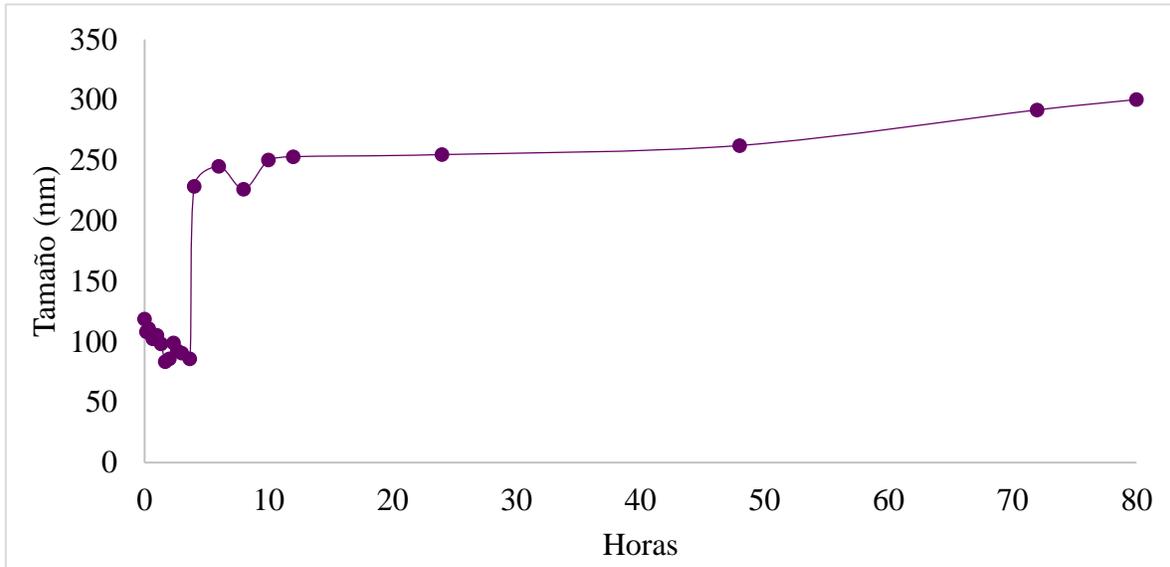
### 8.1 Estabilidad cinética de la nanoemulsión

La nanoemulsión elaborada a partir de aceite de naranja y filtrado de xoconostle (W/O) tuvo un tamaño promedio de  $125.76 \pm 3.09$  nm, que se encuentra dentro del intervalo 20-500 nm, con un aspecto traslúcido, reportado por McClements, (2004) como se muestra en la figura 17.



**Figura 17** Perfil de distribución de diámetro z promedio de las gotas de la nanoemulsión tipo agua en aceite conformada por filtrado de xoconostle y aceite esencial de naranja.

La nanoemulsión presentó un diámetro z promedio de gota dentro del intervalo de 20 a 500 nm durante el análisis de estabilidad; al tiempo 0 fue de  $118.80 \pm 5.50$  nm (Figura 18); mostrándose un aumento en el diámetro z promedio de gota hasta alcanzar  $300.16 \pm 9.93$  nm después de 80 horas, notándose que se mantuvo constante el diámetro z promedio de gota a partir de las 48 horas de haber sido elaborada.



**Figura 18** Estabilidad cinética de nanoemulsión tipo agua en aceite (W/O).

Existen varios factores por los que la estabilidad de las nanoemulsiones se ve afectada como la separación gravitacional, floculación, coalescencia y maduración de Ostwald.

La separación gravitacional es una de las formas más comunes de inestabilidad en las emulsiones y puede dar paso a la formación de crema o cremado la cual es más frecuente en las emulsiones de tipo aceite en agua, mientras que la sedimentación es más frecuente en las emulsiones agua en aceite (McClements et al., 2007). La velocidad a la que se da la separación gravitacional en una nanoemulsión depende de las interacciones presentes entre las gotas, así como por factores como pH, concentración de tensoactivo y condiciones ambientales como la temperatura (McClements 2012; Peng et al., 2010). Otro de los factores que puede afectar directamente la estabilidad de las nanoemulsiones es la presencia de luz UV o visible, ya que presentan más susceptibilidad en comparación con las emulsiones ya que las nanoemulsiones presentan un tamaño de gota menor permitiendo que la luz penetre más fácilmente (McClements y Rao, 2011).

Otro de los factores a considerar en la estabilidad de las nanoemulsiones es la maduración de Ostwald el cual es un proceso mediante el cual las gotas grandes presentes en el sistema crecerán a expensas de las gotas pequeñas, no requiere que las gotas se encuentren cerca, ya que el proceso se produce por el transporte de la materia en el medio de dispersión (McClements, 2012; Wooster et al., 2008).

Uno de los principales problemas de las nanoemulsiones es como reducir o inhibir la maduración de Ostwald, una solución a esta problemática de estabilidad será el aumento en la concentración de tensoactivo lo que dará como resultado una disminución de la tensión interfacial produciendo gotas más pequeñas. A concentraciones entre 5 y 10% de tensoactivo, este envuelve las gotas formando una barrera que inhibirá la transferencia de masa y así reduce o inhibe el proceso de maduración de Ostwald (Peng et al., 2010; Taylor 1998).

Estudios como los realizados por Liu et al, (2006) mediante el ajuste de tensoactivos como Tween 80 y Span 80 encontraron que la maduración de Ostwald en nanoemulsiones de tipo aceite en agua se ve reducida al aumentar la concentración de tensoactivo,

## **8.2 Potencial Z**

El valor de potencial Z obtenido para la emulsión de tipo agua en aceite (O/W) fue de  $-69.9 \pm 9.93$  mV con lo que se puede considerar un sistema con excelente estabilidad, la medición del potencial Z en las nanoemulsiones está directamente relacionado al tamaño de gota que presenta la nanoemulsión, indicando si el sistema es estable.

Salvia-Trujillo et al., (2013) elaboraron nanoemulsiones de tipo agua en aceite (W/O) siendo alginato de sodio la fase acuosa y siendo la fase oleosa aceite esencial de limón y como tensoactivo tween 80 utilizando sonicación para obtener la nanoemulsión; obteniendo un potencial Z de  $-55.8 \pm 6.4$  siendo una nanoemulsión estable.

### 8.3 Compuestos antioxidantes presentes en filtrado de xoconostle, aceite de naranja y nanoemulsión tipo agua en aceite (W/O)

El filtrado de xoconostle presentó un contenido de fenoles de  $144.10 \pm 0.96$  mg EAG/100g (Tabla 4). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Osorio Esquivel et al., (2011) de  $148 \pm 0.01$  mg EAG/100 g. Hernández-Fuentes et al., (2015) encontraron resultados similares con las variedades Borrego y Manzano pero menores a Cambray y Matizado, debido a que la concentración de los fenoles depende de la variedad del xoconostle. El aceite de naranja presentó también fenoles  $129.23 \pm 0.71$  mg EAG/100g; Khan et al., (2012) obtuvieron resultados para aceite extraído únicamente de la cáscara de naranja de  $858 \pm 1.20$  mg EAG/100g, la diferencia puede deberse al tipo de extracción de compuestos en el aceite. La nanoemulsión presentó un total de  $174.22 \pm 0.21$  mg EAG/100g lo cual indica la incorporación de los fenoles presentes tanto en el aceite de naranja y filtrado de xoconostle permanecen después de la elaboración de la nanoemulsión.

La presencia de flavonoides en el filtrado de xoconostle fue de  $90.01 \pm 0.76$  mg QE/100g, Hernández-Fuentes et al., (2015) obtuvieron un total de flavonoides de 275 mg QE/100g para la variedad chivo, observando que dependiendo de la variedad de fruto será el contenido de flavonoides. El aceite de naranja presentó un total de flavonoides de  $94.47 \pm 0.50$  mg QE/100g, Abeysinghe et al., (2007) obtuvieron valores de flavonoides totales de 274 mg RE/100g para aceite obtenido a partir de membrana de naranja, en tanto que Huchin et al., (2012) obtuvieron valores de 337.4 mg QE/100g en la cáscara de naranja, por lo que dependiendo de la parte del fruto de donde se obtenga el aceite será el contenido de flavonoides. En la nanoemulsión de tipo agua en aceite (W/O) el total de flavonoides fue de  $105.01 \pm 0.42$  mg QE/100g.

En cuanto a la actividad antioxidante medida como inhibición del radical DPPH, el filtrado de xoconostle presentó  $91.82 \pm 2.96$  mg EAA/100g. Jiménez-Alvarado et al., (2015) para jugo de tuna variedad Cacalote obtuvieron valores de  $457.86 \pm 19.09$ ; mientras que en el aceite de naranja se obtuvieron  $119.34 \pm 2.14$  mg EAA/100g. Khan et al., (2012) para aceite obtenido de la cáscara de naranja obtuvieron valores de  $179 \pm 0.09$  mg EAG/100g;

y para la nanoemulsión el valor fue de  $133.48 \pm 2.78$  mg EAA/100g, similar al obtenido por Salvador, (2015) quien obtuvo  $120.22 \pm 0.02$  mg EAA/100g para el mismo tipo de nanoemulsión.

La capacidad antioxidante medida como inhibición del radical ABTS del filtrado de xoconostle se obtuvieron  $125.22 \pm 0.13$  mg EAA/100g. Jiménez-Alvarado et al., (2015) mostraron valores de  $3186.43 \pm 87.80$  13 mg EAA/100g para jugo de tuna obtenido del pericarpio de tuna variedad “Tapón aguanoso”, valores elevados comparados con los obtenidos. En el aceite de naranja se obtuvieron  $97.72 \pm 0.75$  mg EAA/100g, en aceite de limón Di Vaio et al., (2010) obtuvo valores de 130 mg Trolox/100g obtenido de la cáscara del fruto. Para la nanoemulsión el valor obtenido fue de  $147.65 \pm 1.13$  mg EAA/100g denotando que esta técnica de encapsulación conserva actividad antioxidante.

**Tabla 4** Actividad antioxidante de filtrado de xoconostle, aceite de naranja y nanoemulsión tipo W/O.

	Filtrado de xoconostle	Aceite de naranja	Nanoemulsión
Fenoles (mg EAG/100g)	$144.10 \pm 0.96$	$129.23 \pm 0.71$	$174.22 \pm 0.21$
Flavonoides (mg QE/100g)	$90.01 \pm 0.76$	$94.47 \pm 0.50$	$105.01 \pm 0.42$
ABTS (mg EAA/100g)	$125.22 \pm 0.13$	$97.72 \pm 0.75$	$147.65 \pm 1.13$
DPPH (mg EAA/100g)	$91.82 \pm 2.96$	$119.34 \pm 2.14$	$133.48 \pm 2.78$

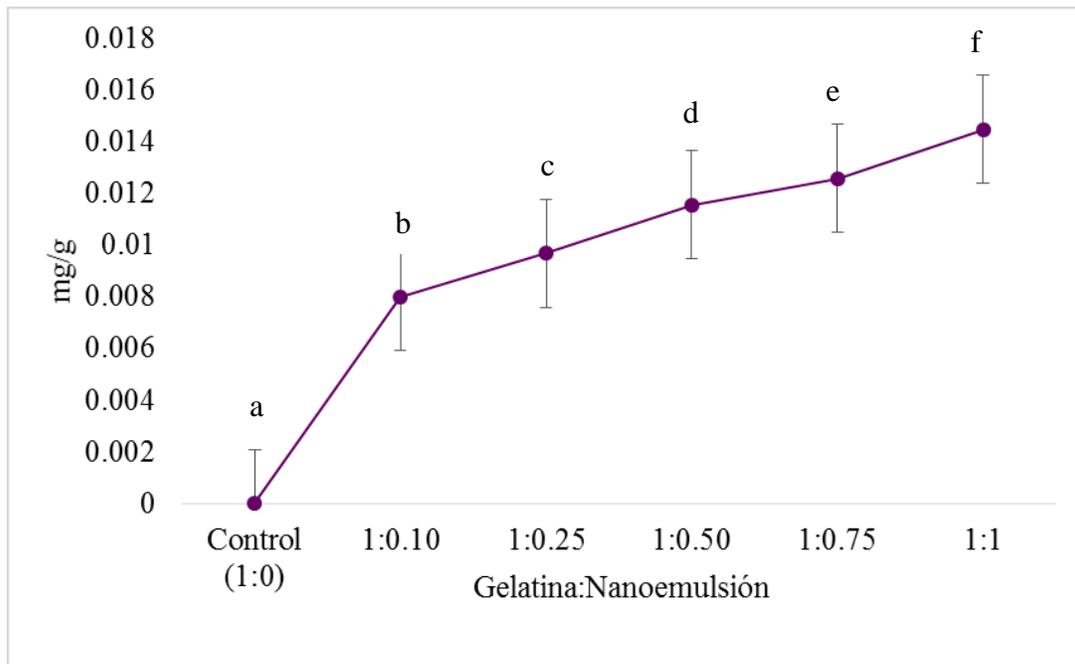
#### 8.4 Cuantificación de Betalainas

La concentración de betalainas en el filtrado de xoconostle fue de 7.70 mg /100g. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hernández-Fuentes et al., (2015) quienes reportaron valores de  $5.06 \pm 0.55$  mg/100g y  $4.93 \pm 0.49$  mg/100g para las variedades Manso y Matizado respectivamente, mientras que para las variedades Borrego  $1.46 \pm 0.51$  mg/100g

y la variedad Cuerón  $1.90 \pm 0.30$  mg/100g, valores por debajo de los obtenidos para la variedad Ulapa utilizada en este trabajo.

La concentración de betalaínas en la nanoemulsión fue de 3.70 mg/100g, demostrando que si se logra encapsular el extracto en la nanoemulsión protegiendo estos compuestos bioactivos.

La cuantificación de betalaínas para en las películas en el tratamiento 1:1 un total de betalaínas de 0.014 mg/g el cual contiene la mayor cantidad de nanoemulsión (0.76 mL), hasta 0.007 mg/g para el tratamiento con la menor concentración de nanoemulsión adicionada 0.076 mL (tratamiento 1:0.10), mostrando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre cada uno de los tratamientos, por lo que la presencia de betalaínas dependerá de la concentración de nanoemulsión agregada a la solución filmogénica (Figura 19).

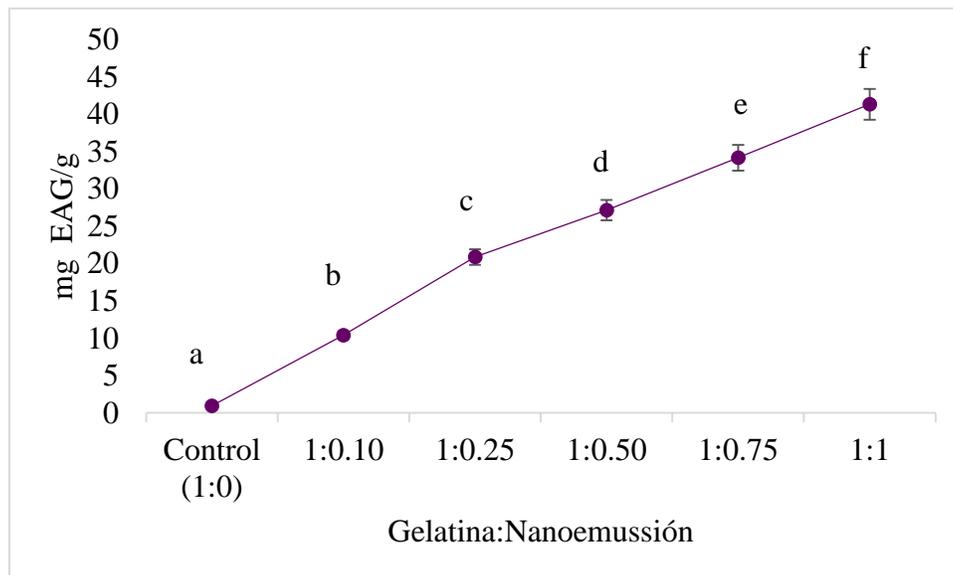


**Figura 19** Concentración de Betalaínas presentes en películas de gelatina. <sup>a,b,c,d,e,f</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

### 8.5 Determinación de Fenoles totales en películas

La concentración más alta de nanoemulsión (1:1) presentó una mayor presencia de fenoles  $41.31 \pm 3.71$  mg EAG/g mientras que el tratamiento 1:0.10 con menor concentración de nanoemulsión adicionada presentó  $10.38 \pm 0.92$  mg EAG/g, mostrando todos los tratamientos una diferencia significativa entre ellos ( $P < 0.05$ ) (Figura 17); valores similares fueron encontrados por Wu et al (2013) obtuvieron valores de fenoles totales de 39.05 mg EAG/g en películas de gelatina de pescado con extracto de té verde; Moradi et al., (2016) elaboraron películas a base de zeina incorporando a ellas aceite esencial de *Zataria multiflora* Boiss obteniendo un valor de 12.5 EAG/g.

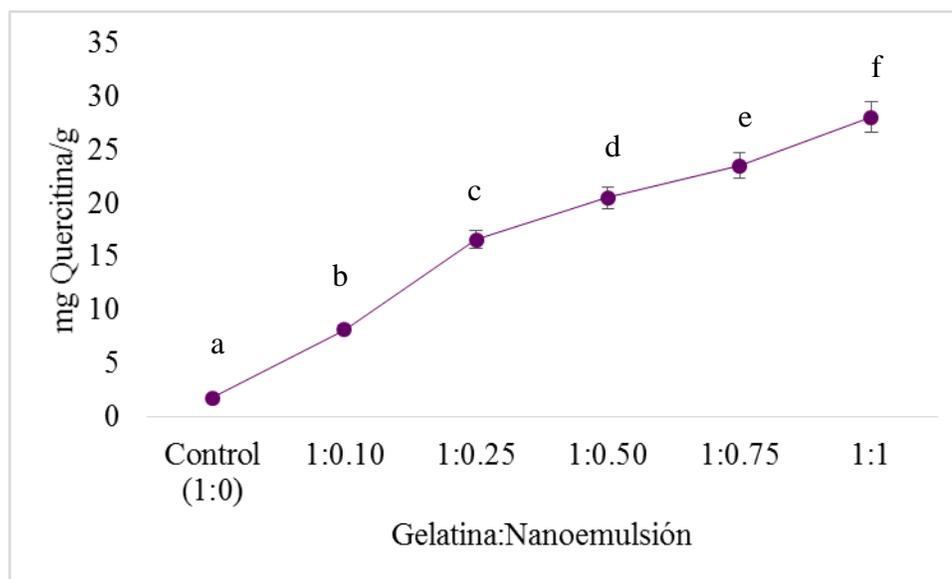
La presencia de compuestos bioactivos en películas de gelatina dependerá de la proporción de nanoemulsión; entre mayor sea la proporción presente en la película mayor será la cantidad de fenoles presentes en la película.



**Figura 20** Concentración de Fenoles totales presentes en películas de gelatina.  
a,b,c,d,e,f Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

## 8.6 Determinación de Flavonoides en películas

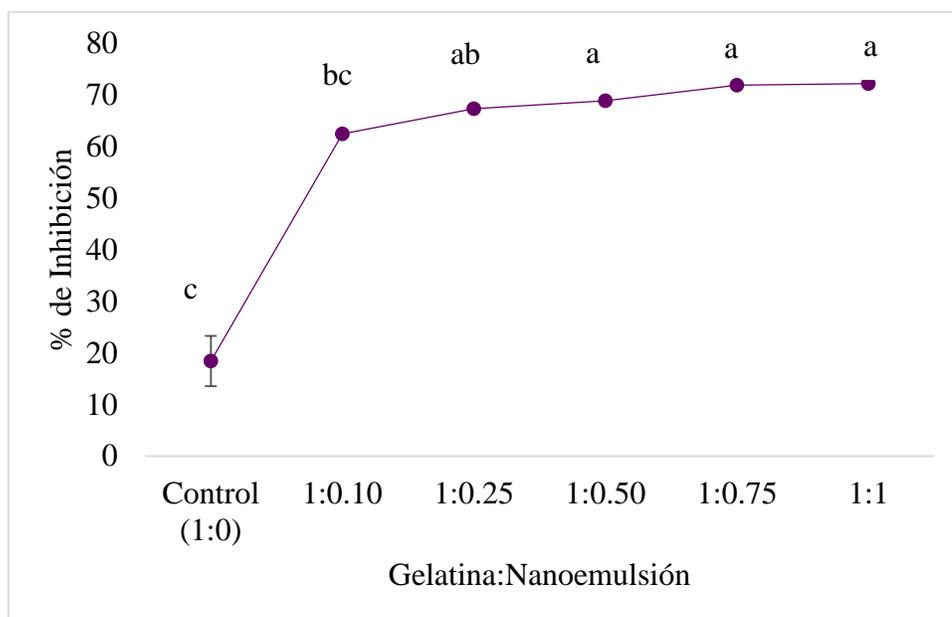
El valor máximo de flavonoides encontrados en las películas fue en la película a la cual se le incorporó la mayor concentración de nanoemulsión (1:1)  $28.03 \pm 3.25$  mg QE/g (Figura 18). Todos los tratamientos mostraron diferencias significativas entre sí ( $P < 0.05$ ). Entre mayor sea la concentración de nanoemulsión presente en la película de gelatina la presencia de flavonoides será mayor. Haddar et al., (2012) obtuvieron valores de flavonoides totales de  $7.90 \pm 0.80$  mg QE/g en películas elaboradas a base de gelatina de pescado incorporando a la matriz polimérica extracto de algas pardas.



**Figura 21** Concentración de Flavonoides totales presentes en películas de gelatina. a,b,c,d,e,f Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

### 8.7 Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico (ABTS).

La capacidad antioxidante presente en las películas elaboradas a base de gelatina adicionadas con compuestos bioactivos nanoemulsionados (Figura 22) indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Encontrando también un incremento en la actividad antioxidante con el incremento de la nanoemulsión adicionada a la película. Estos resultados son acordes con el incremento de fenoles y flavonoides incorporados a la película por la adición de la nanoemulsión.



**Figura 22** Porcentaje de inhibición para el radical ABTS de las películas de gelatina con nanoemulsión W/O.

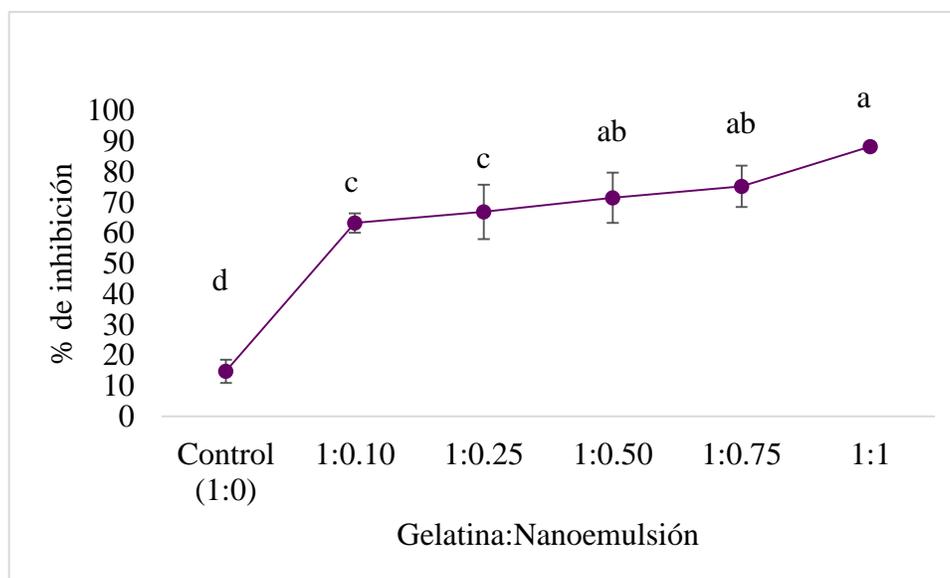
<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

El tratamiento 1:1 alcanzó un porcentaje de inhibición del 72.13%. Bitencourt et al., (2014) presentaron un valor máximo de inhibición para el radical ABTS del 57% para películas a base de gelatina incorporando extracto de cúrcuma; notándose que la película adicionada

con nanoemulsión presentó un porcentaje de inhibición mayor lo que puede deberse no solo a la presencia del filtrado de xoconostle sino a la sinergia de éste con los compuestos bioactivos presentes en el aceite de naranja.

### 8.8 Determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical 1,1 -difeníl-2-picrilhidrazil (DPPH).

La actividad antioxidante presente en las películas de gelatina medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH fue similar a la de ABTS (Figura 23). Encontrando la máxima actividad antioxidante (82.23%) en el tratamiento 1:1, presentando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) los tratamientos con la mayor concentración de nanoemulsión (1:1, 1:0.75, 1:0.50) comparados con los tratamientos con la menor concentración de compuestos nanoemulsionados (1:0.25 y 1:0.10).



**Figura 23** Porcentaje de inhibición para el radical DPPH de películas de gelatina con nanoemulsión tipo W/O.

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

Wu et al (2013) elaboraron películas de gelatina de pescado incorporando en ellas extracto de té verde alcanzando un máximo del 65% de inhibición para el radical DPPH. Sai-Ut et al., (2015) elaboraron películas a base de gelatina de pescado incorporando a ella extracto de semilla de longan la cual alcanzó un porcentaje de inhibición del 41% para el radical; siendo mayor el porcentaje de inhibición en las películas con nanoemulsión, lo cual puede deberse a la presencia de compuestos bioactivos tanto del aceite de naranja como el filtrado de xoconostle (Solans, et al., 2005; Vargas Arispuro, et al., 1998).

### **8.9 Determinación de color**

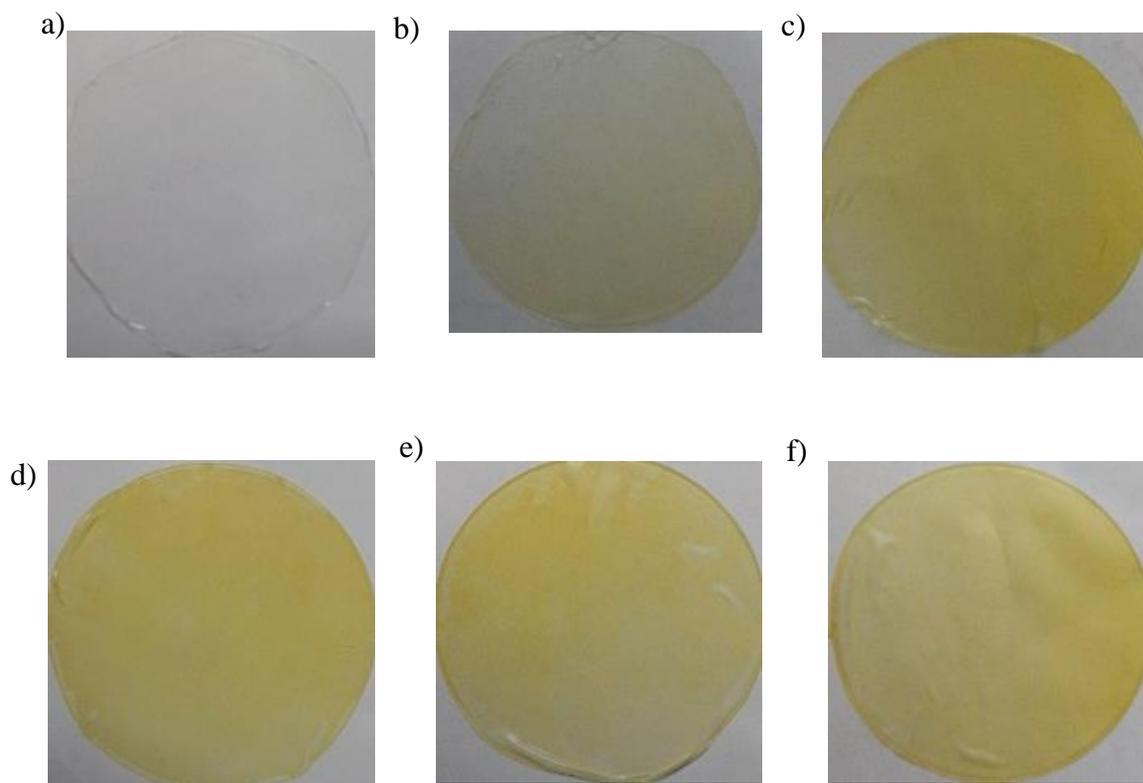
La incorporación de la nanoemulsión tuvo un efecto significativo sobre el color final de la película de gelatina como se muestra en la Tabla 4. Para la luminosidad  $L^*$  (valor 0 = negro; valor 100 = blanco); los tratamientos con nanoemulsión presentan diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) con la película control, encontrándose los valores reportados en valores intermedios en la escala. Para la coordenada  $a^*$  (valores positivos = tonos rojos y valores negativos = tonos verdes) se presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre las películas con mayor concentración de nanoemulsión con el tratamiento 1:0.10 y la película control. Para la coordenada  $b^*$  (Valores positivos = tonos amarillos y valores negativos = tonos azules) todos los tratamientos a los cuales se adicionó la nanoemulsión presentaron una tonalidad amarilla que se ve disminuida de acuerdo a la proporción de la nanoemulsión (Figura 15) mostrando todos los tratamientos diferencia significativa entre sí ( $P < 0.05$ ).

Tongnuanchan et al., (2012) elaboraron películas de gelatina de pescado incorporando a ellas aceites esenciales cítricos y reportaron que la cantidad adicionada de aceites esenciales de cítricos afecta el color de la película de gelatina, coincidiendo con los datos obtenidos para la coordenada  $b^*$ .

**Tabla 5** Determinación de color en películas de gelatina con nanoemulsión elaborada a base de extracto de xoconostle y aceite de naranja.

Tratamiento	*L	a*	b*	ΔE
Control (1:0)	49.66±2.19 <sup>b</sup>	-0.88±0.05 <sup>d</sup>	0.71±0.13 <sup>e</sup>	-----
1:0.10	46.40±2.41 <sup>ab</sup>	-1.47±0.09 <sup>c</sup>	8.16±0.40 <sup>d</sup>	8.15
1:0.25	45.26±0.29 <sup>a</sup>	-1.49±0.08 <sup>b</sup>	9.14±0.16 <sup>d</sup>	9.52
1:0.50	45.69±0.51 <sup>a</sup>	-1.93±0.13 <sup>ab</sup>	13.72±0.43 <sup>c</sup>	13.64
1:0.75	45.06±0.63 <sup>a</sup>	-1.61±0.49 <sup>b</sup>	15.21±0.31 <sup>b</sup>	15.22
1:1	44.67±1.14 <sup>a</sup>	-1.23±0.54 <sup>a</sup>	16.14±0.49 <sup>a</sup>	16.22

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey (P < 0.05).



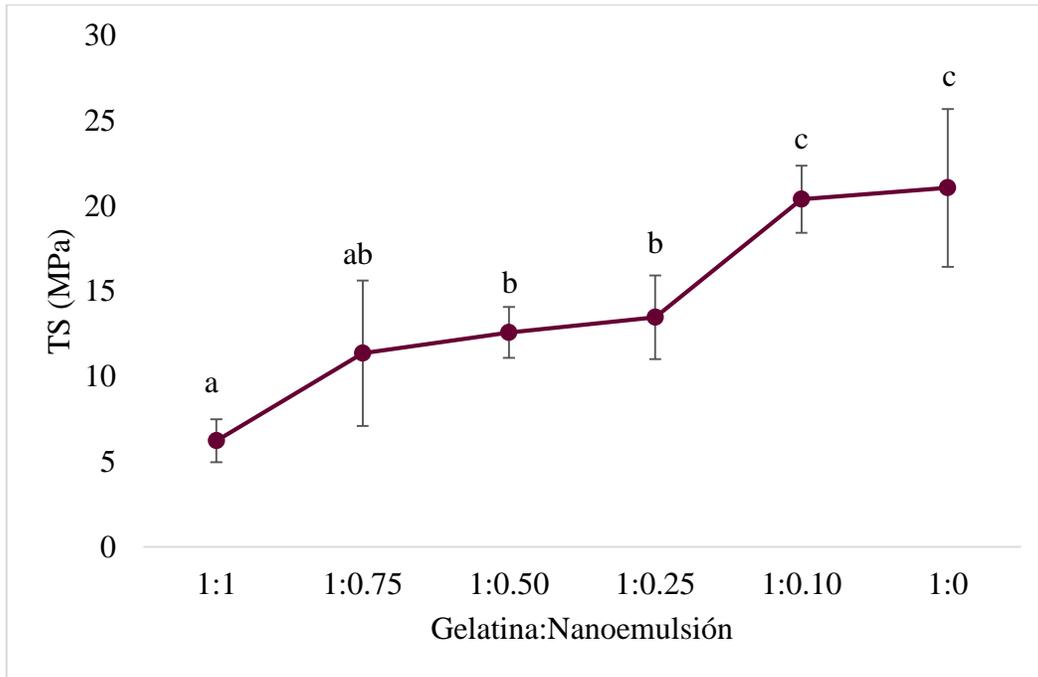
**Figura 24** Películas adicionadas con nanoemulsión, a).- tratamiento control 1:0 (sin nanoemulsión); b).- tratamiento 1:0.10 (0.076 mL de nanoemulsión); c).- tratamiento 1:0.25

(0.19 mL de nanoemulsión); d).- tratamiento 1:0.50 (0.38 mL de nanoemulsión); e).- tratamiento 1:0.75 (0.42 mL de nanoemulsión); f).- 1:1 (0.76 mL de nanoemulsión).

## **8.10 Propiedades mecánicas**

### ***8.10.1 Resistencia a la tracción***

La presencia de la nanoemulsión de tipo W/O en la red de gelatina afecta las propiedades mecánicas de la película final. La resistencia a la tracción disminuye si se aumenta la concentración de nanoemulsión mostrando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre la película control (1:0) y la película con una mayor concentración de nanoemulsión (1:1), pero no mostrando diferencia estadística la película control con la película con la menor concentración de nanoemulsión (Figura 25); Tongnuanchan et al., (2012) encontraron el mismo comportamiento en películas de gelatina de pescado adicionadas con aceite esencial de limón y mostraron valores de  $25.87 \pm 4.48$  a una concentración de 50% y utilizaron como tensoactivo Tween 20 al 25% siendo mayor el valor que obtuvieron debido a que la concentración que utilizaron de aceite fue mayor. En películas de gelatina adicionadas con aceite de limón a diferentes concentraciones, Ahmad et al., (2012) sugieren que la incorporación de otros componentes extra-poliméricos como los aceites esenciales cítricos en cantidades elevadas dan como resultado una película irregular con desprendimiento del aceite; pero en concentraciones adecuadas la presencia de estos componentes pueden reforzar la matriz mejorando la interacción entre las cadenas de proteínas.



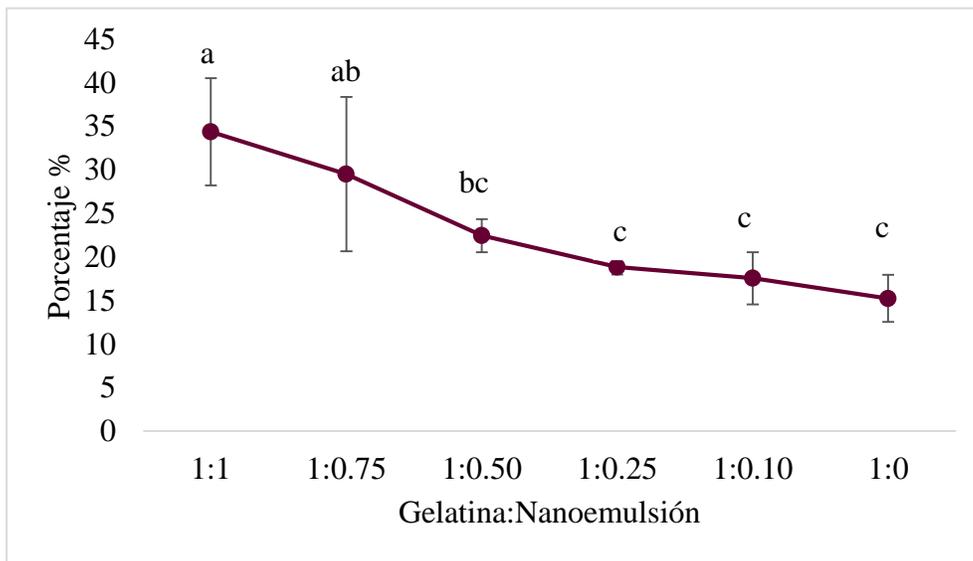
**Figura 25** Resultados de Resistencia a la tracción en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

### 8.10.2 Porcentaje de Elongación

El porcentaje de elongación es el cambio máximo de longitud de una muestra antes de romperse. El porcentaje de elongación (Figura 26) presenta diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre películas con una menor concentración de nanoemulsión y películas con mayor concentración de nanoemulsión, sin presentar diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) las películas con una concentración menor de nanoemulsión incorporada a la matriz (1:0.25, 1:0.10 y 1:0); y las películas con una concentración mayor de nanoemulsión (1:1 y 1:0.75) estadísticamente no muestran diferencias entre sí. La tendencia que mostraron las películas fue aumentar el porcentaje de elongación si se aumentó la concentración de nanoemulsión. Ma et al., (2012) reportaron una disminución del porcentaje de elongación cuando la concentración de aceite de oliva fue menor.

Este mismo comportamiento lo determinaron Kavooosi et al., (2014) al adicionar aceite esencial de *Zataria multiflora* en películas de gelatina; por lo que la inclusión de aceite en la película de gelatina favorece las interacciones proteína-proteína en gran medida, en consecuencia, las películas con la presencia de nanoemulsiones presentan un porcentaje de elongación mayor en comparación a la película control (1:0).



**Figura 26** Resultados de Porcentaje de Elongación en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

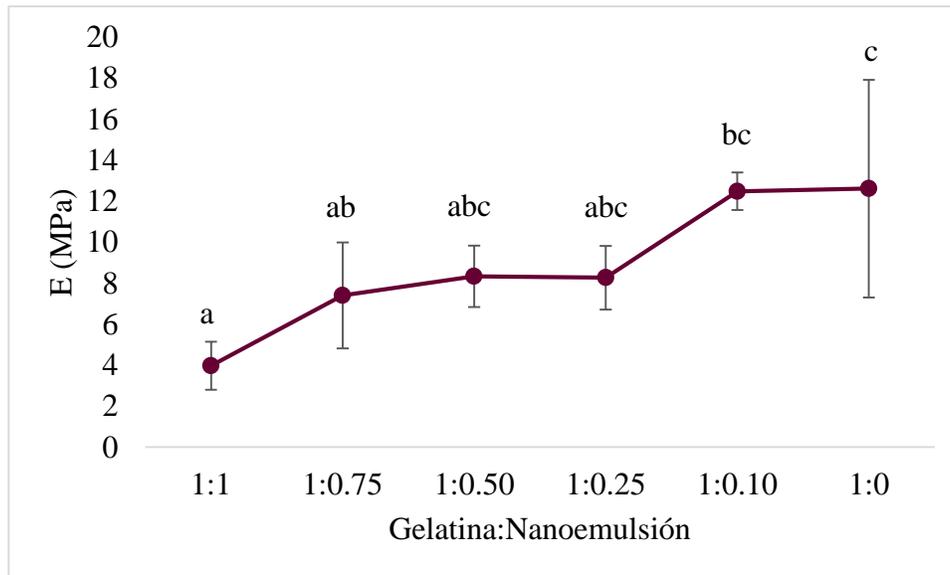
### 8.10.3 Módulo de Young

La cantidad de compuestos bioactivos nanoemulsionados en aceite de naranja influye en las propiedades mecánicas como el módulo de Young, también llamado módulo de elasticidad, nos indica la rigidez de la película y entre más alto sea el valor, más rígida será la película

obtenida (Li et al., 2014; Pereda et al., 2012) La película con la cantidad más alta de nanoemulsión mostró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a la película control (1:0).

Los tratamientos que no mostraron diferencia estadística entre ellos fueron los tratamientos 1:0.75, 1:0.50, 1:0.25 y 1:10 (Figura 18), esto puede deberse a que la presencia de presencia de nanoemulsión dentro de la red polimérica puede debilitar la interacción de cadenas de polímeros modificando así la rigidez de la película (Ma et al., 2012). Culebras-Rubio y Gómez-Clari., (2014) evidencian un efecto plastificante ejercido por el compuesto antioxidante natural (alfa-tocoferol) adicionado a la película de proteína de lactosuero.

La presencia de compuestos antioxidantes en la formulación las películas a partir de gelatina tiene un efecto favorable sobre la rigidez de la misma, al aumentar la concentración de los compuestos nanoemulsionados la rigidez de la película disminuye en comparación con la película control, la cual presenta una rigidez mayor.



**Figura 27** Resultados del Módulo de Young en películas de gelatina adicionadas con nanoemulsiones W/O.

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes por prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

## 9 CONCLUSIONES

El aumento de la presencia de fenoles, flavonoides y betalaínas en las películas de gelatina depende de la proporción de nanoemulsión adicionada; así como la capacidad antioxidante medida como porcentaje de inhibición de los radicales ABTS y DPPH. El color de la película en la tonalidad amarilla ( $b^*$ ) se ve afectado por la incorporación de nanoemulsión a la solución filmogénica. La incorporación de nanoemulsiones genera películas de gelatina menos rígidas y más flexibles; mientras que la resistencia a la tracción de las películas es inversamente proporcional a la concentración de la nanoemulsión.

La concentración de compuestos bioactivos nanoemulsionados adicionados a las películas de gelatina determinará su capacidad antioxidante, color y propiedades mecánicas.

---

## 10 REFERENCIAS

Abeyasinghe, D., et al. (2007). "Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species." *Food Chemistry* 104(4): 1338-1344.

Aguirre-Alvarez, G., et al. (2011). "The effect of drying temperature on mechanical properties of pig skin gelatin films El efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades mecánicas de películas de gelatina de cerdo." *CyTA-Journal of Food* 9(3): 243-249.

Ahmad, M., et al. (2012). "Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils." *Food Hydrocolloids* 28(1): 189-199.

Álvarez, M. F. (2000). "Revisión: Envasado activo de los alimentos/Review: Active food packaging." *Food Science and Technology International* 6(2): 97-108.

Ames, B. N., et al. (1993). "Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(17): 7915-7922.

Anal, A. K. and H. Singh (2007). "Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery." *Trends in Food Science & Technology* 18(5): 240-251.

Arvouet-Grand, A., et al. (1994). "Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents." *Journal de pharmacie de Belgique* 49(6): 462-468.

Arze, J. B. L., et al. (2005). "Essential Oils from Bolivia. VII. Myrtaceae: *Myrcianthes osteomeloides* (Rusby) McVaugh and *Myrcianthes pseudomato* (Legrand) McVaugh." *Journal of Essential Oil Research* 17(1): 64-65.

ASTM. (1995a). Designation D 882-95a. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995b). Designation E96-95. Standard method for water vapor transmission of materials. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

---

Avila, M. E. G. (2012). "Guía municipal de gestión integral de residuos de aparatos eléctricos y electrónicos" para el noreste de México." Residuos.

Badui, D. S. (2006). Química de los alimentos, Pearson Educación: 518-521.

Baldwin, E. A., et al. (2011). Edible coatings and films to improve food quality, CRC Press: 1-13, 333-373.

Beverly, R. L., et al. (2008). "Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*." Food Microbiology 25(3): 534-537.

Bitencourt, C., et al. (2014). "Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: antioxidant activity and physical properties of films." Food Hydrocolloids 40: 145-152.

Brand-Williams, W., et al. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." LWT-Food Science and Technology 28(1): 25-30.

Castellanos-Santiago, E. and E. M. Yahia (2008). "Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry." Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(14): 5758-5764.

Cruz, M. A. G., et al. (1997). La agroindustria de naranja en México, Ciestaam: 22-26, 54.

Culebras-Rubio, M. y Gómez-Clari C. (2014). "Desarrollo y caracterización de una película activa biodegradable con antioxidantes (alfa-tocoferol) a partir de las proteínas del lactosuero." REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA 21(1): 11-19.

Cuq, B., et al. (1997). "Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers." Journal of Agricultural and Food Chemistry 45(3): 622-626.

Chávez, R. G. and A. M. M. Martínez (2010). "Estudio de las propiedades morfológicas y reológicas de una red híbrida de polímeros sintetizada a partir de tres biopolímeros: Gelatina/Quitosano/Dextrano." Revista Iberoamericana de Polímeros 11(2): 88-109.

---

Decker, E. (1998). "Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability." *Trends in Food Science & Technology* 9(6): 241-248.

Di Vaio, C., et al. (2010). "Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars." *Scientia Horticulturae* 126(1): 50-55.

Dickinson, E. (2011). "Double emulsions stabilized by food biopolymers." *Food Biophysics* 6(1): 1-11.

Falguera, V., et al. (2011). "Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use." *Trends in Food Science & Technology* 22(6): 292-303.

Fernandez Alvarez, M. (2000). "Revisión: Envasado activo de los alimentos." *Food Science and Technology International* 6(2): 97-108.

García, M. A., et al. (2002). "Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3(4): 391-397.

Gómez-Estaca, J., et al. (2014). "Advances in antioxidant active food packaging." *Trends in Food Science & Technology* 35(1): 42-51.

Guilbert, S. and N. Gontard (2005). "Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics." *Innovations in food packaging*: 263-276.

Guilbert, S., et al. (1995). "Technology and applications of edible protective films." *Packaging Technology and Science* 8(6): 339-346.

Gutiérrez, E. R. and J. C. R. Villegas (2013). "Factibilidad del proyecto de extracción de aceites esenciales de la naranja en Antioquia." *Revista Soluciones de Postgrado* 3(5): 119-133.

Haddar, A., et al. (2012). "Functional, antioxidant and film-forming properties of tuna-skin gelatin with a brown algae extract." *International journal of biological macromolecules* 51(4): 477-483.

---

Hernández-Fuentes, A. D., et al. (2015). "Physicochemical variability and nutritional and functional characteristics of xoconostles (*Opuntia* spp.) accessions from Mexico." *Fruits* 70(2): 109-116.

Hood, E. E., et al. (1988). "A developmentally regulated hydroxyproline-rich glycoprotein in maize pericarp cell walls." *Plant physiology* 87(1): 138-142.

Huchin, M. M., et al. (2012). "Evaluación del contenido de flavonoides totales en residuos cítricos."

Instituto Nacional del cáncer de Estados Unidos <http://www.cancer.gov>

Jiménez-Alvarado, R., et al. (2015). "Effect of High-Pulsed Electric Fields on the Extraction Yield and Quality of Juices Obtained from the Endocarp of Nine Prickly Pear (*Opuntia* spp.) Varieties." *JÖKULL JOURNAL* 65: 414-435.

Johansson, C., et al. (2012). "Renewable fibers and bio-based materials for packaging applications—a review of recent developments." *BioResources* 7(2): 2506-2552.

Kader, A. A., et al. (1989). "Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 28(1): 1-30.

Kavoosi, G., et al. (2014). "Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films." *LWT-Food Science and Technology* 57(2): 556-561.

Kester, J. and O. Fennema (1986). "Edible films and coatings: a review." *Food technology (USA)*.

Khan, M. M., et al. (2012). "Antioxidant and antipathogenic activities of citrus peel oils." *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 15(6): 972-979.

Korhonen, H. (2002). "Technology options for new nutritional concepts." *International Journal of Dairy Technology* 55(2): 79-88.

Krochta, J. M. and C. De Mulder-Johnston (1997). "Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities." *Food technology (USA)*.

- 
- Li, J.-H., et al. (2014). "Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants." *Food Hydrocolloids* 37: 166-173.
- Liu, W., et al. (2006). "Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method." *Journal of Colloid and Interface Science* 303(2): 557-563.
- Lopez-Rubio, A., et al. (2006). "Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials." *Trends in Food Science & Technology* 17(10): 567-575.
- Ma, W., et al. (2012). "Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil." *Food Research International* 49(1): 572-579.
- Macheix, J.-J. and A. Fleuriet (1990). *Fruit phenolics*, CRC press: 17-20, 72, 76.
- Maldonado, G., et al. (2009). "Xoconostle un fruto con alto valor nutrimental y nutracéutico." *INIFAP Folleto Tecnico* 6: 20.
- Marín, F. R., et al. (2007). "By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres." *Food Chemistry* 100(2): 736-741.
- Martínez, A. (1996). "Aceites esenciales." *J. Nat. Prod* 59(1): 77-79.
- Mason, T. G., et al. (2006). "Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties." *Journal of Physics: Condensed Matter* 18(41): R635.
- Mastromatteo, M., et al. (2010). "Advances in controlled release devices for food packaging applications." *Trends in Food Science & Technology* 21(12): 591-598.
- Maté, J. I. and J. M. Krochta (1996). "Comparison of oxygen and water vapor permeabilities of whey protein isolate and  $\beta$ -lactoglobulin edible films." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(10): 3001-3004.
- Mattila, P. and J. Kumpulainen (2002). "Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(13): 3660-3667.

---

McClements, D. J. (2004). Food emulsions: principles, practices, and techniques, CRC press.

McClements, D. J. (2010). "Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components." *Annual review of food science and technology* 1: 241-269.

McClements, D. J. (2012). "Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities." *Soft matter* 8(6): 1719-1729.

McClements, D. J., et al. (2009). "Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods." *Critical reviews in food science and nutrition* 49(6): 577-606.

McClements, D. J., et al. (2007). "Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components." *Journal of Food Science* 72(8): R109-R124.

McClements, D. J. and J. Rao (2011). "Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity." *Critical reviews in food science and nutrition* 51(4): 285-330.

Montes, P. B., et al. (2001). "Ftalatos y efectos en la salud." *Revista internacional de contaminación ambiental* 17(4): 205-215.

Moradi, M., et al. (2016). "Antioxidant and antimicrobial effects of zein edible film impregnated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and monolaurin." *LWT-Food Science and Technology* 72: 37-43.

Morales, P., et al. (2012). "Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* FAC Weber ex Diguët and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico." *Food Research International* 46(1): 279-285.

Nijveldt, R. J., et al. (2001). "Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications." *The American journal of clinical nutrition* 74(4): 418-425.

Osorio-Esquivel, O., et al. (2011). "Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits." *Food Research International* 44(7): 2160-2168.

- 
- Peng, L.-C., et al. (2010). "Optimization of water-in-oil nanoemulsions by mixed surfactants." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 370(1): 136-142.
- Pereda, M., et al. (2012). "Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films." *Carbohydrate Polymers* 87(2): 1318-1325.
- Pérez-Alonso, C., et al. (2015). "Stabilization of phenolic compounds from *Opuntia oligacantha* Först by microencapsulation with agave sap (aguamiel)." *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14(3): 579-588.
- Perez-gago, M. and J. Krochta (2001). "Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films." *Journal of Food Science* 66(5): 705-710.
- Qian, C. and D. J. McClements (2011). "Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: factors affecting particle size." *Food Hydrocolloids* 25(5): 1000-1008.
- Re, R., et al. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* 26(9): 1231-1237.
- Reyes-Agüero, J. and A. Valiente-Banuet (2006). "Reproductive biology of *Opuntia*: a review." *Journal of Arid Environments* 64(4): 549-585.
- Reyes-Agüero, J. A., et al. (2006). "Reproductive biology of *Opuntia*: A review." *Journal of Arid Environments* 64(4): 549-585.
- Rojas-Graü, M. A., et al. (2009). "Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review." *Trends in Food Science & Technology* 20(10): 438-447.
- Ryu, S., et al. (2002). "Preparation and physical properties of zein-coated high-amylose corn starch film." *LWT-Food Science and Technology* 35(8): 680-686.
- Saénz, C., et al. (2009). "Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*)." *Food Chemistry* 114(2): 616-622.

---

Sai-Ut, S., et al. (2015). "Retardation of lipid oxidation using gelatin film incorporated with longan seed extract compared with BHT." *Journal of food science and technology* 52(9): 5842-5849.

Salvador, G. T. (2015). ENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DEL XOCONOSTLE (*Opuntia oligacantha* C. F. Först) EN NANOEMULSIONES. Maestría en Ciencia de los Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Maestría: 44.

Salvia-Trujillo, L., et al. (2013). "Physicochemical characterization of lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions: effect of ultrasound processing parameters." *Food and Bioprocess Technology* 6(9): 2439-2446.

Sánchez Aldana, D., et al. (2015). "Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano." *CyTA-Journal of Food* 13(1): 17-25.

Scheinvar, L. and G. Manzanero (2009). "Opuntia chiangiana, una nueva especie de Cactaceae de Oaxaca, México." *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 19(2): 222-228.

Schramm, L. L. (2006). *Emulsions, foams, and suspensions: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons.

Schrieber, R. and H. Gareis (2007). *Gelatine handbook: theory and industrial practice*, John Wiley & Sons: 45, 61, 119.

SEDESOL 2011 [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_12/07\\_residuos/cap7\\_1.html](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/07_residuos/cap7_1.html)

Seymour, R. B. and C. E. Carraher (1995). *Introducción a la química de los polímeros*, Reverté: 181, 192.

Shimao, M. (2001). "Biodegradation of plastics." *Current opinion in Biotechnology* 12(3): 242-247.

Singleton, V. L., et al. (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent." *Methods in enzymology*(299C): 152-178.

---

SISKEN, B. F., et al. (1993). "Maturation of the central nervous system: comparison of equine and other species." *Equine Veterinary Journal* 25(S14): 31-34.

Solans, C., et al. (2005). "Nano-emulsions." *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 10(3): 102-110.

Solans, C., et al. (2001). "Highly concentrated emulsions as novel reaction media." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 176(1): 101-108.

Stevens, M. P. (1993). "Polymer additives: Part I. mechanical property modifiers." *Journal of chemical education* 70(6): 444.

Stintzing, F. C., et al. (2001). "Phytochemical and nutritional significance of cactus pear." *European Food Research and Technology* 212(4): 396-407.

Suppakul, P., et al. (2003). "Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications." *Journal of Food Science* 68(2): 408-420.

Tadros, T., et al. (2004). "Formation and stability of nano-emulsions." *Advances in Colloid and Interface Science* 108–109(0): 303-318.

Talja, R. A., et al. (2007). "Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films." *Carbohydrate Polymers* 67(3): 288-295.

Taylor, P. (1998). "Ostwald ripening in emulsions." *Advances in Colloid and Interface Science* 75(2): 107-163.

Tharanathan, R. (2003). "Biodegradable films and composite coatings: past, present and future." *Trends in Food Science & Technology* 14(3): 71-78.

Tongnuanchan, P., et al. (2012). "Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils." *Food Chemistry* 134(3): 1571-1579.

Tongnuanchan, P., et al. (2013). "Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils." *Journal of Food Engineering* 117(3): 350-360.

---

Torres-Maravilla, E., et al. (2014). "Xoconostle (*Opuntia joconostle* variedad weber)." XIX Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica.

Vargas Arispuro, L., et al. (1998). "Actividad antioxidante de compuestos aislados del residuo no-volátil del aceite esencial de naranja." *Grasas y aceites* 49(2): 159-164.

Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). "Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes." *Revista Cubana de medicina militar* 31(2): 126-133.

Viña, S. Z., et al. (2007). "Effects of polyvinylchloride films and edible starch coatings on quality aspects of refrigerated Brussels sprouts." *Food Chemistry* 103(3): 701-709.

Walstra, P. (1993). "Principles of emulsion formation." *Chemical Engineering Science* 48(2): 333-349.

Waters, R. D., et al. (1976). "Method for determining the  $\alpha$ -Tocopherol content of citrus essential oils." *Journal of Food Science* 41(2): 370-371.

Wooster, T. J., et al. (2008). "Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability." *Langmuir* 24(22): 12758-12765.

Wu, J., et al. (2013). "Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract." *Food Hydrocolloids* 32(1): 42-51.

Yang, L. and A. Paulson (2000). "Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film." *Food Research International* 33(7): 571-578.

11 ANEXOS





TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CELAYA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**AMIDIQ**

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.

**Nuevas tecnologías y tendencias en la Ingeniería Química**

Otorga el presente

**RECONOCIMIENTO**

a:

**ARELY LEÓN LÓPEZ, DIANA JAQUELINE PIMENTEL GONZALEZ, GABRIELA MEDINA PEREZ, ALFREDO MADARIAGA NAVARRETE Y RAFAEL GERMÁN CAMPOS MONTIEL**

Por la presentación del trabajo:

**ESTABILIDAD DE EMPAQUES A BASE DE GELATINA INCORPORANDO NANOEMULSIONES CON EXTRACTO DE XOCONOSTLE**

Hecho en Celaya, Jalisco, México, el día 28 de mayo de 2016.  
Derecho: Ricardo Aguado Rojas Roldán, Pinar  
Derechos: Raúl Górriz Acosta, Coahuila  
Colaboradores: Rosalva López, Ricardo Márquez Rodríguez Andrade, Cecilia Fierro Méndez, Tania María Elizabeth Contreras Ochoa, Rogelio López Utrilla  
Fecha: 28 de mayo de 2016  
Hecho público en la Sociedad de Convenciones Estudiantiles del Campus I del Instituto Tecnológico de Celaya

**XXXVII Encuentro Nacional de la AMIDIQ**  
Puerto Vallarta, Jalisco, México, del 3 al 6 de mayo de 2016



**Dr. Matilde Sales Cruz**  
PRESIDENTE DE AMIDIQ



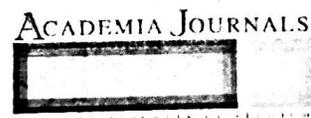
**Dr. Pedro Alberto Quintana Hernández**  
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR



**Dr. Jesús Alberto Ochoa Tapia**  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO



Congreso Internacional de  
Investigación  
Academia Journals  
Cd. Juárez 2016



## *Certificado*

*otorgado a*

Ing. Arely León López  
Dr. Gabriel Aguirre Álvarez  
Dra. Norma Güemes Vera  
Dr. Rafael Germán Campos Montiel

*por su artículo intitulado*

Cinética de degradación de color y compuestos bioactivos  
nanoemulsionados en empaques inteligentes a base de gelatina

*Artículo No. Joo8*

que fue presentado en el congreso desarrollado los  
días 25 al 29 de abril de 2016 en Cd. Juárez, Chihuahua, México, y  
publicado en el portal de Internet AcademiaJournals.com, con ISSN 1946-5351 Online,  
y en el libro electrónico CD ROM intitulado "Investigación Interdisciplinaria: Tomo II"  
con registro ISBN 978-1-939982-19-3, mismo lleva código de barras

Dr. Alfonso Aldape Alamillo  
Presidente de la Comisión Organizadora  
Profesor de Ingeniería Industrial  
Instituto Tecnológico de Cd. Juárez, Chihuahua

Dr. Rafael Moras  
Presidente del Comité de Programa  
Editor, AcademiaJournals.com  
Profesor, St. Mary's University, San Antonio, TX, EEUU