

Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones

G.A. Cardoso-Ugarte* y M.T. Jiménez-Munguía

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P.72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

Además de su amplia aplicación en las industrias farmacéutica y cosmética, debido a su reducido tamaño de gota (20 a 500 nm) y a su baja percepción e impacto sensorial, las nanoemulsiones son una importante alternativa para llevar a cabo funciones de protección, acarreo y liberación de ingredientes funcionales como antimicrobianos, antioxidantes y nutracéuticos, en los alimentos. Para lograr su estabilidad físico-química, se han empleado métodos de alta y baja energía y diferentes emulgentes, tanto sintéticos como de origen natural, para su formulación. Asimismo, la combinación del método o técnica aplicada y el tipo y proporción de sus fases y emulgentes empleados, son los factores que determinan el éxito en la estabilidad de las nanoemulsiones. En el presente trabajo, se muestra una recopilación bibliográfica de las nanoemulsiones en los alimentos, sus métodos de formación, emulgentes empleados y la aplicación que se les ha dado en esta industria.

Palabras clave: nanoemulsiones, emulgentes, tamaño de gota, métodos de formación, liberación de principios activos.

ABSTRACT

Besides its broad application in the cosmetic and pharmaceutical industries, due to its reduced droplet size (20-500 nm) and its low perception and sensory impact, nanoemulsions are an important alternative to fulfill protection, carry and delivery of functional ingredients such as antimicrobials, antioxidants and nutraceuticals in food. To achieve their physicochemical stability, low and high energy methods have been employed as well as synthetic and natural emulsifiers for their formulation. In addition to that, the combination of the method and the kind and ratio of phases and emulsifiers used are the factors determining the success in the stability of the nanoemulsions. This review presents recent literature concerning the different nanoemulsions methods of preparation, the emulsifiers used and the applications in food industry so far.

Keywords: nanoemulsions, emulsifiers, droplet size, formation methods, bioactive compounds.

 Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica:
gabriel.cardosoue@udlap.mx

Introducción

Una emulsión consiste en dos líquidos inmiscibles (generalmente agua y aceite) en donde uno de ellos es dispersado en forma de pequeñas gotas dentro del otro. En la mayoría de los alimentos, el diámetro de las gotas en las emulsiones es de 0.1 a 100 µm. Las emulsiones se clasifican según la distribución de las fases oleosa y acuosa; a un sistema en el cual las partículas de aceite se dispersan en una fase acuosa, se le denomina emulsión aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés), mientras que a un sistema en el que las gotas de agua se dispersan en una fase oleosa, se le denomina emulsión agua en aceite (W/O, por sus siglas en inglés) (McClements, 1999).

Debido a su naturaleza, las emulsiones son sistemas que tienden a separarse en las fases que las forman a través del tiempo, como consecuencia de diversos mecanismos como coalescencia y migración de líquido (Rao, Chen y Chen, 2009; Peredo-Luna y Jiménez-Munguía, 2012). Como solución a lo anterior, y para cumplir las funciones de encapsulación y liberación de ingredientes funcionales y nutracéuticos, el uso de nanoemulsiones ha ido en aumento en la industria alimentaria. Entre las ventajas que ofrecen las nanoemulsiones sobre las emulsiones convencionales, se encuentran una mayor estabilidad de las gotas ante la agregación y separación gravitacional, además de la liberación del compuesto protegido en el sitio específico. Asimismo, debido a su pequeño tamaño de gota, las nanoemulsiones presentan una apariencia transparente o translúcida y alta solubilidad y estabilidad, por lo que ofrecen una excelente biodisponibilidad oral y eficacia biológica a los bioactivos dispersos (Abbas, Hayat, Karangwa, Bashari y Zhang, 2013).

Se le considera nanoemulsión, a una emulsión cuyos tamaños de gota se encuentran en el rango de 20 a 500 nm (Bilbao-Sáinz, Avena-Bustillos, Wood, Williams y McHugh, 2010).

Dentro de la industria y ciencia de los alimentos, la aplicación de nanoemulsiones se ha dirigido principalmente a su empleo como sistemas acarreadores de compuestos bioactivos de naturaleza lipofílica, esto debido, entre otros factores, a su mínimo impacto en las características sensoriales de los alimentos, así como a su alta biodisponibilidad (Choi, Kim, Cho, Hwang y Kim, 2011; Donsi, Sessa y Ferrari, 2012). Se han reportado estudios que pretenden integrar compuestos bioactivos lipídicos en los alimentos, para aprovechar algunas de sus propiedades como saborizantes, colorantes, antioxidantes, antimicrobianos, entre otros, probando emulgentes tanto de origen natural como sintético, así como diferentes métodos de formación de emulsiones. Por lo tanto, la presente revisión

bibliográfica pretende mostrar el estado del arte de los métodos de preparación, aplicaciones y materiales empleados en la elaboración de nanoemulsiones en el área de alimentos.

Revisión bibliográfica

1. La escala nano y sus aplicaciones en alimentos

Se entiende como nanotecnología al control de la materia en dimensiones que van de 20 a 500 nm, rango en el cual los fenómenos ocurridos permiten el desarrollo de nuevas aplicaciones. Dicha definición incluye la formación y el uso de materiales, estructuras, dispositivos y sistemas que poseen propiedades únicas, debido a su diminuto tamaño (Allhoff, Lin y Moore, 2010).

La mayoría de las aplicaciones de la nanotecnología se centran en la ingeniería de materiales, informática y medicina. Sin embargo, en campos como la agricultura y alimentos, las investigaciones han ido en aumento. La industria de los alimentos se ha visto revolucionada debido a la intervención de la nanotecnología, incluyendo los procesos de producción, procesamiento, almacenamiento y desarrollo de materiales innovadores, así como sus aplicaciones. Su aplicación puede generar resultados novedosos en características como textura, sabor, color y estabilidad durante la vida de anaquel, llevando a la creación de nuevos productos (Ezhilarasi, Karthik, Chhanwal y Anandharanakrishnan, 2013; Soto-Chilaca y López-Malo, 2011).

En la industria de alimentos, las investigaciones se han enfocado principalmente a la tecnología de envasado atendiendo dos áreas: la implementación de nanosensores que detectan contaminantes peligrosos y la incorporación de nano-aditivos con la finalidad de liberarse en el producto final para mejorar su calidad. Adicionalmente, en los últimos años la nanotecnología se ha aplicado en el desarrollo de alimentos funcionales, nutracéuticos y en la detección de microorganismos patógenos, mediante el desarrollo de cubosomas, biopolímeros complejos, micelas, liposomas y nanoemulsiones (Soto-Chilaca y López-Malo, 2011).

2. Nanoemulsiones

2.1. Formulación de nanoemulsiones

Una nanoemulsión consiste en una fase dispersa de naturaleza lipídica en una fase continua de naturaleza acuosa, en la cual, cada una de las gotas de aceite se encuentra rodeada por una

capa interfacial delgada constituida por un emulgente. A pesar de que la mayoría de los autores mencionan que las nanoemulsiones sólo pueden ser producidas del tipo aceite en agua (O/W), Zuidam y Shimon (2010) reportaron la producción de emulsiones del tipo agua en aceite (W/O). En ambos casos, el tamaño de gota formado en las emulsiones debe estar dentro del rango de la escala nano (20 a 500 nm). Por lo general, las nanoemulsiones son altamente estables a la separación gravitacional debido a su pequeño tamaño de partícula, asimismo, muestran alta resistencia a la agregación, ya que el rango de fuerzas de atracción entre las gotas disminuye a medida que disminuye el tamaño de gota (Silva, Cerqueira y Vicente, 2011).

2.2. Emulgentes empleados

En el proceso de formación de nanoemulsiones, al igual que en el de emulsiones convencionales, es necesaria la acción de un agente emulgente para lograr estabilizar la emulsión por períodos de tiempo prolongados. Además de las características generales con las que deben contar los emulgentes, en el caso de la formación de nanoemulsiones, el emulgente debe tener la capacidad de absorberse rápidamente alrededor de la fase dispersa, de manera que no se rompa al momento de la colisión entre dos gotas y, por lo tanto, no exista coalescencia; debe ser mayormente soluble en la fase continua y debe ser capaz de emulsionar la mezcla aún en pequeñas concentraciones (Cannon, Shi y Gupta, 2008).

En la formación de nanoemulsiones, los emulgentes que se han probado son tanto de origen natural como sintético y no difieren de los empleados en la formación de emulsiones convencionales; los principales retos de su inclusión son dos: lograr estabilizar las nanoemulsiones sin aumentar el tamaño de gota, ya que la mayoría de los emulgentes son polímeros de gran tamaño y alto peso molecular, y lograr su estabilidad bajo condiciones de estrés. En un estudio amplio, Mao *et al.* (2009) evaluaron la capacidad de formación de emulsiones de diferentes emulgentes de alto peso molecular, para formar nanoemulsiones de β-caroteno mediante homogeneización por altas presiones. Los emulgentes probados fueron Tween 20, monolaureato decaglicerol, octenil succinato de almidón, aislado de proteína de suero y una mezcla de Tween 20 y aislado de proteína de suero. Se demostró que cada emulgente tiene un efecto diferente sobre la estabilización de las nanoemulsiones. En el caso del Tween 20 y el monolaureato decaglicerol, redujeron la tensión interfacial y formaron muy pequeñas gotas, pero éstas se agregaron fácilmente; en contraste, el octenil succinato de almidón y el aislado de proteína de suero resultaron con gotas de mayor tamaño, pero con mayor estabili-

dad, debido a sus fuertes capas interfaciales. Por otra parte, las nanoemulsiones estabilizadas con proteína de suero brindaron la mejor protección al β-caroteno, mientras que en las de octenil succinato de almidón, éste se degradó rápidamente.

Por otra parte, Donsi *et al.* (2012) probaron diferentes tipos de emulgentes de origen natural y compararon su efecto con respecto a algunos sintéticos. Entre los naturales, probaron almidón modificado, proteína de chícharo, un éster de azúcar y lecitina de soya, mientras que los sintéticos probados fueron dodecil sulfato de sodio (DSS) y Tween 80. Las emulsiones se homogeneizaron aplicando altas presiones, obteniendo emulsiones estables con diferentes tamaños de gota en el siguiente orden, éster de azúcar (90 nm), Tween 80 (95 nm), DSS (110 nm), almidón modificado (150 nm), proteína de chícharo (180 nm) y lecitina de soya (190 nm); siendo las emulsiones con menor tamaño de gota, las que mostraron una mayor estabilidad.

En adición a los emulgentes de origen natural anteriormente mencionados, el aislado de proteína de suero (APS) es otro de los emulgentes que ha sido ampliamente empleado y probado para la formación de nanoemulsiones en numerosos estudios (Li *et al.*, 2011; Mao *et al.*, 2009; Jafari, Assadpoor, He y Bhandari, 2008; Jafari, He y Bhandari, 2006). En un estudio realizado por Lee, Choi, Li, Decker y McClements (2011) 0.9% WPI, se llevó a cabo una comparación de la estabilidad y propiedades físico-químicas de nanoemulsiones y emulsiones convencionales, utilizando aislado de proteína de suero como emulgente. Se encontró que, además de que las nanoemulsiones mostraron mejor estabilidad ante cambios de pH, adición de sales, procesos térmicos y procesos de congelación-descongelación, que las emulsiones convencionales mostraron una mayor digestibilidad y mayor estabilidad oxidativa que las emulsiones convencionales. Sin embargo, los autores mencionan que una de las desventajas de las nanoemulsiones que elaboraron radicaba en la poca cantidad de aceite que contenían éstas, limitando su aplicación en productos comerciales. Por lo tanto, en este estudio se evidenció que a pesar de las ventajas de su aplicación, las nanoemulsiones pueden llegar a presentar algunas desventajas con respecto a las emulsiones convencionales.

El uso de almidón modificado como emulgente en la formación de nanoemulsiones, también fue reportado por Liang, Shoemaker, Yang, Zhong y Huang (2013), el cual fue empleado en la encapsulación de β-caroteno. Se reportó que después de 30 días de almacenamiento a diferentes condiciones de temperatura, las nanoemulsiones más estables fueron las almacenadas en temperaturas de refrigeración (4°C), dichas emulsiones no mostraron creaming y/o separación de fases. La inestabili-

dad de las emulsiones a temperaturas mayores se atribuyó a la pérdida de viscosidad y al aumento de movilidad del sistema.

2.3. Procesos de formación

Debido a que la unión de un compuesto lipídico y uno acuoso no puede presentarse de manera natural o espontánea, la formación de nanoemulsiones necesita la aplicación de energía. Respecto a la cantidad de energía empleada para su formación, los procesos han sido clasificados en dos grandes grupos: aquellos que emplean una baja cantidad de energía y los que utilizan una cantidad de energía alta (Ezhilarasi *et al.*, 2013). Como su nombre lo indica, la diferencia entre ellos radica en la cantidad de energía suministrada al sistema.

2.3.1. Procesos de baja energía

La formación de nanoemulsiones mediante procesos de baja energía se basa en la formación de gotas dentro de sistemas de agua-aceite-emulgente, mediante la alteración intencional de las condiciones del entorno o la composición del sistema. Entre los procesos más utilizados se encuentran la formación espontánea de emulsiones o inversión de fases y el proceso de autoensamblaje, así como otros menos utilizados como la formación de emulsiones por membrana y desplazamiento del solvente (Abbas *et al.* 2013; Silva *et al.*, 2011).

2.3.1.1. Formación espontánea de emulsiones o inversión de fases

La aplicación del método de formación espontánea de emulsiones es una alternativa eficiente y menos costosa que los procesos de alta energía. Este método aprovecha la energía química almacenada en el sistema para la formación de emulsiones e implica la inversión de las fases en el sistema; dicho fenómeno se refiere al proceso en el cual un sistema aceite en agua se convierte en un sistema agua en aceite y viceversa. Una variante de dicho método es la inversión catastrófica de fases (ICF) (Bilbao-Sáinz *et al.*, 2010). De acuerdo a Sajjadi, Jahanzad y Yianneskis (2004), en el método ICF el sistema comienza siendo una emulsión anormal, es decir, aquella donde el emulgente tiene alta afinidad por la fase dispersa, además de que se debe aplicar agitación constante para mantenerse estable. Como su nombre lo indica, lo que se busca con este método es que la emulsión invierta sus fases, lo que se logra aumentando la velocidad de coalescencia y, de esta manera, el balance entre la velocidad de coalescencia y la ruptura de gotas no puede mantenerse. Este fenómeno puede ser inducido modificando las variables que aumentan la velocidad de coalescencia de las gotas, como la adición continua de un volumen conocido de la fase dispersa, tal como se muestra en la Fig. 1. En dicha figura se observa como a una emulsión que inicialmente es agua en

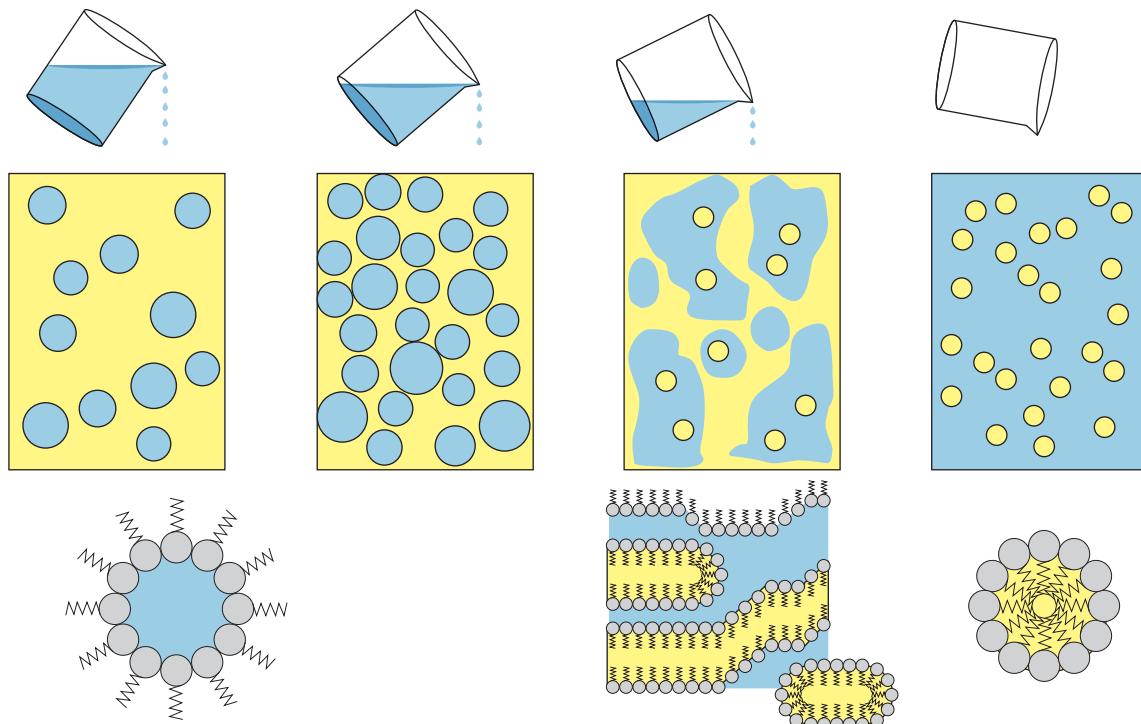


Fig. 1. Diagrama del proceso de emulsificación por inversión de fases (McClements, 2011).

aceite, se le agregan más gotas de agua, las cuales van aumentando el tamaño de las gotas iniciales, hasta que dichas gotas logran tal incremento de tamaño que logran envolver a la fase continua (aceite) hasta que gradualmente, el agua se convierte en la fase continua de la emulsión, provocándose así una inversión de fases.

Entre las investigaciones realizadas empleando la técnica de IFC para la formación de emulsiones, Bilbao-Sáinz *et al.* (2010) llevaron a cabo emulsiones de Acetem/agua/Tween 60, obteniendo tamaños de gota más pequeños y, por lo tanto, emulsiones más estables que aquellas obtenidas mediante agitación a velocidad constante durante 6 horas. Ghosh, Mukherjee, y Chandrasekaran (2012) emplearon esta técnica en la formación de nanoemulsiones de aceite esencial de mostaza, y mencionan que para una exitosa formación de nanoemulsiones mediante esta técnica es importante controlar la proporción aceite-emulgente, así como la velocidad a la que se agrega una de las fases al sistema ya existente para lograr la inversión.

2.3.1.2. Autoensamble

Choi *et al.* (2011) generaron nanoemulsiones mediante el método de autoensamble, que consiste en preparar una emulsión convencional cuyo tamaño se encuentre en la escala nano, en presencia de un emulgente soluble en agua, en este caso se utilizó Tween 80, aplicando agitación por un determinado tiempo; a este sistema se le denomina nanoemulsión de capa simple. Posteriormente, a esta nanoemulsión se le agrega un biopolímero con el que se pretende recubrir la fase dispersa, obteniendo una nanoemulsión de doble capa. Finalmente, a esta nanoemulsión se le vuelve a agregar un biopolímero formando una nanoemulsión de triple capa, cuyo tamaño final oscila entre los 20 y 300 nm. En su estudio, utilizaron alginato y quitosano para recubrir capsaicina, la cual formaba parte de la fase oleosa de la emulsión de capa simple. A pesar de que se menciona que el tamaño de las nanoemulsiones formadas por autoensamble se encuentra entre los 20 y 300 nm, entre los resultados obtenidos en este estudio, se reporta que se obtuvieron nanoemulsiones dobles y triples estables con tamaños iguales o menores a los 20 nm. Finalmente, basándose en los valores obtenidos de potencial zeta, concluyeron que la adición de quitosano y alginato, mejora la estabilidad de las nanoemulsiones, siendo una buena opción para el recubrimiento y protección de alimentos funcionales.

2.3.1.3. Formación de emulsiones por membrana

Además de los anteriormente mencionados, existen otros métodos de baja energía que, a pesar de que su aplicación no es

tan extensa, son exitosamente empleados en la formación de nanoemulsiones.

La formación de emulsiones por membrana, es un proceso que requiere menor cantidad de emulgente que los procesos de alta energía y produce emulsiones con distribuciones de tamaño de gota más estrechas. Este método consiste en hacer pasar la fase dispersa a través de una membrana para lograr su disminución de tamaño.

2.3.1.4. Desplazamiento del solvente

Por otra parte, la técnica de desplazamiento de solvente consiste en mezclar un solvente orgánico, miscible en agua, que contenga compuestos lipofílicos funcionales en una fase acuosa en presencia de un emulgente; la rápida difusión del solvente orgánico en la fase acuosa permite la formación de nanoemulsiones; finalmente, el solvente es evaporado (Mason, Wilking, Meleson, Chang y Graves, 2006).

2.3.2 Procesos de alta energía

La formación de nanoemulsiones mediante procesos de alta energía se caracteriza por someter al sistema a la aplicación de una alta cantidad de energía previamente determinada; dicha energía brinda al sistema una predisposición para mantener su estabilidad a pesar de que se lleven a cabo modificaciones en su composición. Estos procesos se basan en el empleo de dispositivos mecánicos que generan las fuerzas disruptivas necesarias para lograr el rompimiento de las fases macroscópicas. De manera general, estos procesos han mostrado mayor eficiencia tanto en tiempo de formación de las nanoemulsiones como en reducción de tamaño de las gotas de la fase dispersa, sin embargo, su aplicación a nivel industrial aún es escasa. Los principales procesos de alta energía son aplicación de altas presiones, ultrasonido y agitación a altas velocidades (Abbas *et al.*, 2013; Ezhilarasi *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2011).

2.3.2.1. Ultrasonido

El proceso de formación de emulsiones fue una de las primeras aplicaciones del ultrasonido hace poco más de 50 años. El fenómeno principal que se presenta durante este proceso y permite la formación de las nanoemulsiones es denominado cavitación (Jafari *et al.*, 2006).

Las ondas de ultrasonido en el rango de 20 a 100 kHz, tienen la habilidad de llevar a cabo cambios físicos y químicos al entrar en contacto con la materia. Cuando una superficie plana vibra con cierta frecuencia y amplitud, se generan ondas longitudinales y se propagan en el medio líquido o gaseoso circundante. Estas ondas inducen un movimiento en las par-

tículas del medio a través de una serie de compresiones y rarefacciones bajo presión fluctuante, provocando el fenómeno de cavitación acústica.

La cavitación es la formación y colapso de cavidades de vapor dentro de un líquido fluido; el colapso de estas cavidades provoca poderosas ondas de choque que se irradian a lo largo de la solución, rompiendo así el líquido disperso. El efecto intenso de las ondas al colapsar explica el porqué de la obtención de gotas de tan pequeño tamaño que permiten la formación de emulsiones dentro de la escala nano (Jafari *et al.*, 2006; Abbas *et al.*, 2013).

Los principales parámetros que se evalúan y tienen impacto en la formación de nanoemulsiones, son la frecuencia, potencia y tiempo de tratamiento. En cuanto a la frecuencia, la mayoría de los autores mencionan que el rango más efectivo para la formación de nanoemulsiones es de 20 a 24 kHz; asimismo, Abbas *et al.* (2013) mencionan que prefieren las frecuencias bajas para la formación de nanoemulsiones. Respecto al tiempo de tratamiento, Ghosh, Mukherjee y Chandrasekaran (2013) formularon nanoemulsiones de aceite esencial de albahaca probando tiempos en un rango de 5 a 15 minutos; los tamaños de gota se redujeron de 57.75 nm con 5 minutos de tratamiento a 41.15 nm con 15 minutos. Dichos resultados confirman que a mayor tiempo de tratamiento, se incrementa la cantidad de energía disponible para el rompimiento de las gotas y se reduce su tamaño. Leong, Wooster, Kentish y Ashokkumar (2009) reportaron una disminución de tamaño de gota de 100 nm a 40 nm, al aumentar el tiempo de tratamiento de 5 a 40 minutos.

2.3.2.2. Altas presiones

De acuerdo a Donsi, Senatore, Huang y Ferrari (2010), el método más eficiente y de mayor rendimiento para la producción de nanoemulsiones, es la homogeneización por altas presiones (HAP), también denominado microfluidización. Debido al alto nivel de presión que se le aplica al fluido, el cual está por encima de los 300 MPa en sistemas comerciales, se ejercen elevadas tensiones de fluido mecánico al hacerlo pasar por una pequeña válvula, lo que contribuye a la reducción del tamaño de gota de la emulsión por debajo de la escala micrométrica. Con la finalidad de probar esta técnica, los autores desarrollaron nanoemulsiones aceite en agua probando un emulgente novedoso a partir de proteína de chícharo. Entre los resultados que obtuvieron, reportan que para la obtención de emulsiones estables con tamaño de gota dentro del rango de la escala nano, es necesario pasar las muestras hasta tres veces por el homogeneizador, aplicando presiones de 200 y 300 MPa; de

esta manera, se obtuvieron emulsiones con tamaños de gota inferiores a 100 nm. Uno de los principales objetivos de este estudio, era mostrar la capacidad emulgente de la proteína de chícharo; sin embargo, con fines comparativos, reportaron que al usar Tween 80 para emulsiones con las mismas proporciones de fases y emulgente, los tamaños de gota fueron de 80 nm, demostrando la efectividad del método para obtener nanoemulsiones con tamaños de gota muy pequeños.

Durante la homogeneización por altas presiones, existen diversos factores del proceso que influyen en el tamaño de gota final de las emulsiones, lo que, posteriormente y como ya se ha mencionado con anterioridad, regirá la estabilidad de la emulsión. Los principales factores son el número de pasos y la presión aplicada. Liang *et al.* (2012) probaron la influencia de dichos factores sobre la estabilidad de nanoemulsiones de aceite esencial de menta. Las presiones probadas fueron de 50, 100 y 150 MPa con 1, 3, 5, 7, 10, 15 y 20 ciclos o pasos. Se observó que con presiones de 100 y 150 MPa, los diámetros de gota eran muy similares y significativamente menores a los obtenidos con 50 MPa de presión. Asimismo, se observó que después de los primeros ocho ciclos, el tamaño de gota de las nanoemulsiones se redujo considerablemente aplicando las tres presiones, sin embargo, a partir del décimo ciclo, en todos los casos, el tamaño de gota no mostró una disminución significativa. Los tamaños obtenidos fueron menores a 10 nm, mostrando la efectividad de esta técnica para obtener tamaños de gota en la escala nano, lo que permitió que las nanoemulsiones se mantuvieran estables durante un periodo de almacenamiento de 30 días, sin mostrar separación de fases o creaming.

Un comportamiento contrario fue reportado por Jafari *et al.* (2006) al elaborar nanoemulsiones de d-limoneno mediante altas presiones. En dicho estudio, a mayor número de ciclos, se obtuvieron nanoemulsiones con mayor tamaño de gota. Los autores explican dicho fenómeno como sobre-procesamiento, atribuyéndolo a un pobre desempeño del emulgente empleado, así como a un aumento en el movimiento browniano que se define como el movimiento aleatorio de partículas suspendidas en un fluido (líquido o gas) provocado por la rápida colisión de los átomos y moléculas del mismo, causando así mayor coalescencia entre las gotas suspendidas.

Con la finalidad de determinar un factor más, Donsi, Sessa y Ferrari (2012) probaron la influencia de la geometría de la cámara donde interaccionan las gotas después de su paso por la válvula de reducción de tamaño de gota. Las geometrías probadas se muestran en la Fig 2. En el caso de la geometría A, los sistemas se hicieron pasar por la válvula de reducción de tamaño de gota y posteriormente por las cámaras de interacción con

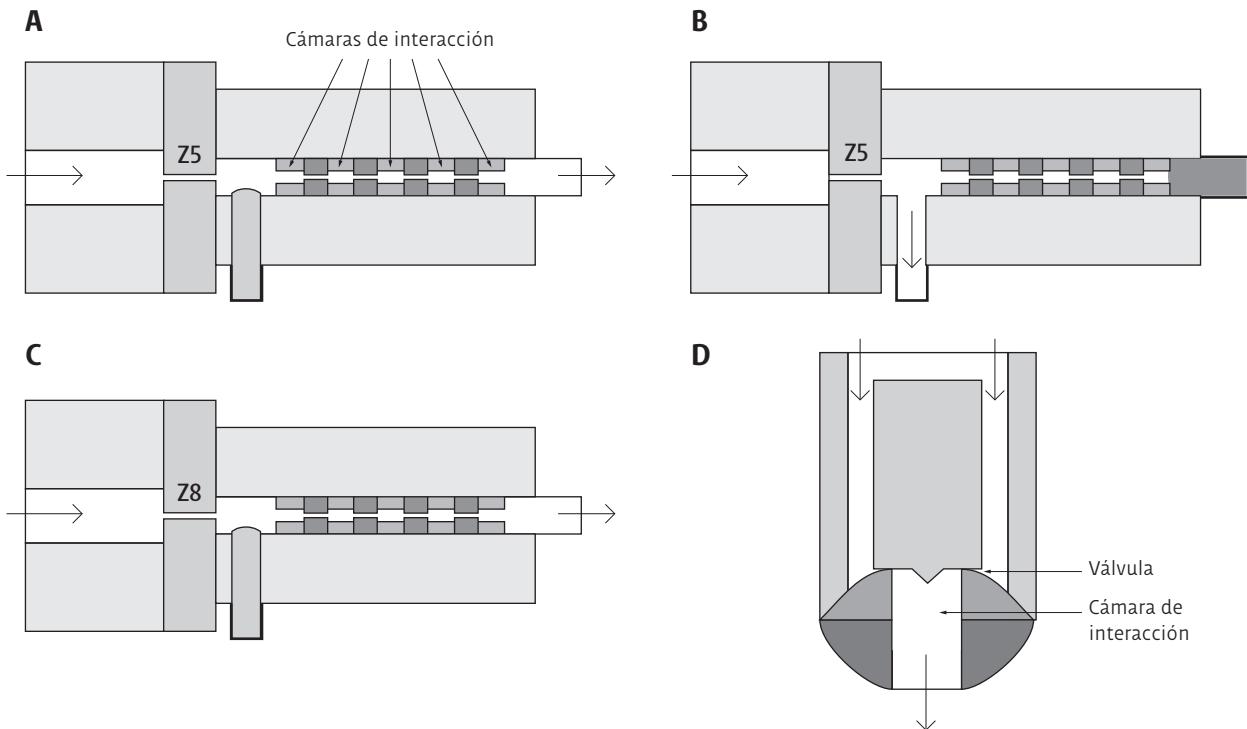


Fig. 2. Diagrama de las diferentes geometrías de las cámaras de homogeneización probadas en la formación de nanoemulsiones de aceite esencial de mostaza (Donsì, Sessa y Ferrari, 2012).

la finalidad de provocar una reducción de tamaño aún menor, para después salir de la cámara; en la geometría B, sólo se hicieron pasar los sistemas por la válvula de reducción de tamaño sin pasar por las cámaras de interacción; en el caso de la geometría C, los sistemas siguieron los mismos pasos que en la geometría A, pero el flujo fue más rápido; finalmente, en la geometría D, los sistemas se hicieron pasar por dos canales que al final contenían una válvula de reducción de gotas cada uno. Sin embargo, se encontraron diferencias muy pequeñas en el tamaño y forma de las gotas de las nanoemulsiones obtenidas en las diferentes cámaras.

2.4. Aplicaciones de las nanoemulsiones en alimentos

Las nanoemulsiones son una de las aplicaciones más importantes dentro de la nanotecnología, ya que pueden ser utilizadas como sistemas acarreadores o de liberación de compuestos lipofílicos como ingredientes nutracéuticos, saborizantes, y agentes antioxidantes y antimicrobianos, entre otros. Una de las mayores ventajas de las nanoemulsiones es que éstas mejoran la biodisponibilidad de los componentes encapsulados, debido a su reducido tamaño de partícula, teniendo una mayor relación superficie-volumen.

2.4.1. Agentes antimicrobianos

En la mayoría de las investigaciones que utilizan nanoemulsiones como acarreadores de compuestos bioactivos con capacidad antimicrobiana, se reporta el uso de aceites esenciales en la fase lipídica de estos sistemas. El aceite esencial de mostaza es un compuesto oleoso que ha sido sujeto a investigaciones para su encapsulación mediante el proceso de formación de emulsiones con el propósito de aprovechar sus propiedades antimicrobianas. En un estudio realizado por Ghosh *et al.* (2012), se probó la actividad antimicrobiana de aceite esencial de mostaza encapsulado en nanoemulsiones formadas mediante inversión de fases, en sistemas modelo, contra *Escherichia coli*. La nanoemulsión se puso en contacto directo con el microorganismo y se encontró que después de 15 minutos de interacción, se lograba una reducción de tres ciclos logarítmicos, después de 45 minutos, se lograba una reducción de cuatro ciclos logarítmicos, mientras que con un tiempo de 60 minutos, la inactivación de la bacteria fue total, comprobando de esta manera que la liberación del aceite esencial de mostaza contenido en las emulsiones se llevó a cabo de manera gradual y fue eficaz después de una hora de contacto o exposición. En el caso del control (sin adición de la nanoemulsión), la cantidad de bacterias fue incontable.

La aplicación de nanoemulsiones de aceite esencial de menta para evaluar su acción antimicrobiana, fue reportada por Liang *et al.* (2012). En dicho estudio, se probó su actividad antimicrobiana ante dos bacterias Gram positivas, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Antes de efectuar los experimentos para probar dicha actividad, se llevó a cabo un análisis de la composición del aceite esencial puro y del contenido en las nanoemulsiones, encontrando que las composiciones no variaban sustancialmente, permitiendo así considerar a las nanoemulsiones como sistemas de liberación con potencial antimicrobiano y llevar a cabo el estudio. Las concentraciones mínimas inhibitorias de las nanoemulsiones y el aceite esencial puro mostraron ser iguales (0.5% v/v) para ambas bacterias; concluyendo que es posible aprovechar las ventajas de protección, liberación y/o acarreo del aceite esencial que ofrecen las nanoemulsiones, sin que la capacidad inhibitoria del aceite se vea afectada por la presencia de la fase acuosa.

2.4.2. Agentes antioxidantes

Debido a que algunos de los compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes son mayormente lipofílicos y muestran poca solubilidad en agua, la aplicación de estos compuestos mediante emulsiones aceite en agua es una buena opción que, además de servir como medio acarreador, ayudará a mejorar su dispersabilidad y servirá como protector para mantener las propiedades funcionales de dichos compuestos (Donsì, Sessa, Mediouni, Mgaidi y Ferrari, 2011).

Entre las investigaciones realizadas para encapsular compuestos antioxidantes mediante nanoemulsiones, Donsì *et al.* (2011) emplearon la homogeneización por altas presiones y probaron diferentes emulgentes para encapsular curcumina y resveratrol, dos fitoquímicos con diversos efectos positivos sobre la salud humana, con la finalidad de mejorar su dispersabilidad en sistemas acuosos y protegerlos de la degradación, así como de mantener o mejorar su capacidad antioxidante. Los resultados mostraron que, al encapsular resveratrol (0.01% p/p) en nanoemulsiones conteniendo aceite de cacahuate, se mejoró la estabilidad del resveratrol, reduciendo su degradación y transformación de cis- a trans-. Asimismo, al encapsular curcumina (0.01% p/p), la nanoemulsión contribuyó a mejorar su dispersabilidad en agua y a evitar su recristalización y asentamiento a lo largo del almacenamiento.

Sessa, Tsao, Liu, Ferrari y Donsì (2011) emplearon nanoemulsiones para la encapsulación de resveratrol. Los objetivos principales del estudio fueron lograr una alta estabilidad física de las nanoemulsiones y química del resveratrol durante el almacenamiento, así como probar la retención de la actividad

antioxidante del resveratrol aún después de la digestión. Respecto a la estabilidad física, lograron nanoemulsiones estables durante un periodo de 30 días a temperaturas de 4, 30 y 55°C, empleando lecitina y un éster de azúcar como emulgentes; de igual manera, los resultados de estabilidad química mostraron que a 4 y 30°C no hubo cambios significativos en la composición química del resveratrol, aún con exposición a las radiaciones UV-C durante 30 días. Por otra parte, a pesar de que se obtuvieron buenos resultados *in vitro* de actividad antioxidante de las nanoemulsiones mediante los métodos de poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) y capacidad de absorbancia del radical oxígeno (ORAC), los autores consideraron que, aunque la protección al resveratrol fue exitosa, es necesario continuar con los experimentos para lograr una mayor retención.

2.4.3. Ingredientes nutracéuticos

A pesar de que no existe una definición concreta y universal de productos nutracéuticos, Wildman y Kelley (2007) los definen como cualquier sustancia considerada alimento o parte de un alimento que brinde beneficios médicos y de salud más allá del aporte nutricional, incluyendo la prevención y tratamiento de alguna enfermedad. Entre dichos productos se encuentran ingredientes aislados, suplementos dietéticos, hierbas y alimentos procesados como cereales, sopas y bebidas.

En el área de la encapsulación de compuestos bioactivos, se ha reportado el uso de nanoemulsiones para la protección y transporte de diferentes tipos de ingredientes nutracéuticos. Dentro de este basto grupo de ingredientes, los carotenoides representan un extenso grupo de pigmentos orgánicos tetra-terpenoides, que se encuentran en diversas frutas y hortalizas. Con el fin de aprovechar las propiedades de los carotenoides, Liang *et al.* (2013) probaron la estabilidad y bioaccesibilidad de β-caroteno en nanoemulsiones, empleando almidón modificado como emulgente y altas presiones como técnica de formación de las nanoemulsiones. Después de 30 días de almacenamiento a diferentes condiciones de luz, oxígeno y temperaturas, se encontró que existía una retención de β-caroteno superior al 50%, incluso a una temperatura de 25°C, tanto en presencia de luz como en oscuridad; mientras que al agregar nitrógeno al espacio de cabeza y a temperatura de 4°C, la retención fue favorecida y aumentada, mostrando al almidón modificado como una buena opción para estabilizar nanoemulsiones que protejan carotenoides.

Conclusiones

La aplicación de procesos de alta y baja energía en la formación de emulsiones, permiten la obtención de tamaños de gota dentro de la escala nano, brindando así mayor estabilidad a las emulsiones; los primeros procesos, a pesar de tener un consumo energético alto, resultan ser los más eficientes en la formación de las nanoemulsiones, aunque en algunos casos, no se ha podido desarrollar su escalamiento a nivel industrial. En el caso de los procesos de baja energía, a pesar de ser menos eficientes, se ha logrado obtener nanoemulsiones altamente estables, y en ambos casos han mostrado mayor estabilidad que las emulsiones convencionales. Entre los emulgentes usados, sobresale el empleo de proteínas, cuyo uso permite reducir aún más el contenido lipídico de las nanoemulsiones, asimismo, es posible utilizar emulgentes que, a la vez forman la fase oleosa del sistema. Por otra parte, la aplicación de nanoemulsiones en sistemas alimenticios ha resultado exitosa en procesos de protección y liberación de ingredientes nutracéuticos y funcionales, por lo que se concluye que la aplicación de nanoemulsiones es una buena alternativa para la adición de dicha clase de ingredientes en alimentos.

Agradecimientos

El autor Cardoso-Ugarte agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo para sus estudios de posgrado.

Referencias

- Abbas, S., Hayat, K., Karangwa, E., Bashari, M. y Zhang, X. (2013). An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 139-157.
- Allhoff, F., Lin, P. y Moore, D. (2010). *What is nanotechnology and why does it matter?*. West Sussex, Reino Unido: Wiley-Blackwell.
- Bilbao-Sáinz, C., Avena-Bustillos, R., Wood, D., Williams, T. y McHugh, T. (2010). Nanoemulsions prepared by a low-energy emulsification method applied to edible films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11932-11938.
- Cannon, J., Shi, Y. y Gupta, P. (2008). Emulsions, microemulsions, and lipid-based drug delivery systems for drug solubilization and delivery- Part 1: Parenteral applications. En R. Liu, *Water-Insoluble Drug Formulation*, (págs. 195-216). Florida: CRC Press.
- Choi, A., Kim, C., Cho, Y., Hwang, J. y Kim, C. (2011). Characterization of capsaicin-loaded nanoemulsions stabilized with alginate and chitosan by self-assembly. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 1119-1126.
- Donsi, F., Senatore, B., Huang, Q. y Ferrari, G. (2010). Development of novel pea protein-based nanoemulsions for delivery of nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10653-10660.
- Donsi, F., Sessa, M. y Ferrari, G. (2012). Effect of emulsifier type and disruption chamber geometry on the fabrication of food nanoemulsions by high pressure homogenization. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(22), 7606-7618.
- Donsi, F., Sessa, M., Mediouni, H., Mgaidi, A. y Ferrari, G. (2011). Encapsulation of bioactive compounds in nanoemulsion-based delivery systems. *Procedia Food Science*, 1, 1666-1671.
- Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N. y Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647.
- Ghosh, V., Mukherjee, A. y Chandrasekaran, N. (2012). Mustard oil microemulsion formulation and evaluation of bactericidal activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 2-5.
- Ghosh, V., Mukherjee, A. y Chandrasekaran, N. (2013). Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 338-344.
- Jafari, S., He, Y. y Bhandari, B. (2006). Nano-Emulsion Production by Sonication and Microfluidization—A Comparison. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 475-485.
- Jafari, S., Assadpoor, E., He, Y. y Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- Krog, N. y Sparso, F. (2005). Food emulsifiers: their chemical and physical properties. En S. Friberg, K. Larsson y J. Sjöblom, *Food Emulsions* (págs. 45-90). Nueva York: Marcel Dekker, Inc.
- Lee, S., Choi, S., Li, Y., Decker, E. y McClements, D. (2011). Protein-stabilized nanoemulsions and emulsions:

- Comparison of physicochemical stability, lipid oxidation, and lipase digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 415-427.
- Leong, T., Wooster, T., Kentish, S. y Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrasonic Sonochemistry*, 16(6), 721-727.
- Li, B., Jiang, Y., Liu, F., Chai, Z., Li, Y. y Leng, X. (2011). Study of the encapsulation efficiency and controlled release property of whey protein isolate-polysaccharide complexes in W₁/O/W₂ double emulsions. *International Journal of Food Engineering*, 7(3), doi: 10.2202/1556-3758.2321.
- Liang, R., Shoemaker, C. F., Yang, X., Zhong, F. y Huang, Q. (2013). Stability and bioaccessibility of β-carotene in nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(6), 1249-1257.
- Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C., Li, Y., Zhong, F. y Huang, Q. (2012). Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7548-7555.
- Mao, L., Xu, D., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y. y Zhao, J. (2009). Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of β-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization. *Food Technology and Biotechnology*, 47(3), 336-342.
- Mason, T., Wilking, J., Meleson, K., Chang, C. y Graves, S. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18(41), R635-R666.
- McClements, D. (1999). *Food emulsions. Principles, practice and techniques*. Florida, EE.UU: CRC Press LLC.
- McClements, D. (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7(6), 2297-2316.
- Peredo-Luna, A. y Jiménez-Munguía, M. (2012). Mecanismos de inestabilidad y métodos de estabilización de emulsiones múltiples. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 122-130.
- Rao, J., Chen, Z. y Chen, B. (2009). Modulation and stabilization of silk fibroin-coated oil-in-water emulsions. *Food Technology and Biotechnology*, 47(4), 413-420.
- Sajjadi, S., Jahanzad, F. y Yianneskis, F. (2004). Catastrophic phase inversion of abnormal emulsions in the vicinity of the locus of transitional inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 240(1-3), 149-155.
- Sessa, M., Tsao, R., Liu, R., Ferrari, G. y Donsi, F. (2011). Evaluation of the stability and antioxidant activity of nanoencapsulated resveratrol during in vitro digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12352-12360.
- Silva, H., Cerqueira, M. y Vicente, A. (2011). Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 854-867.
- Soto-Chilaca, G. y López-Malo, A. (2011). Nanotecnología en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(1), 11-21.
- Wildman, R. y Kelley, M. (2007). Nutraceutical and Functional Foods. En R. Wildman, *Handbook of Nutraceutical and Functional Foods* (págs. 1-22). Nueva York: CRC Press.
- Zuidam, N. y Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulation use in food products or processes and methods to make them. En N. Zuidam y V. Nedovic, *Encapsulation technique for active food ingredients and food processing* (págs. 3-29). Nueva York: Springer.