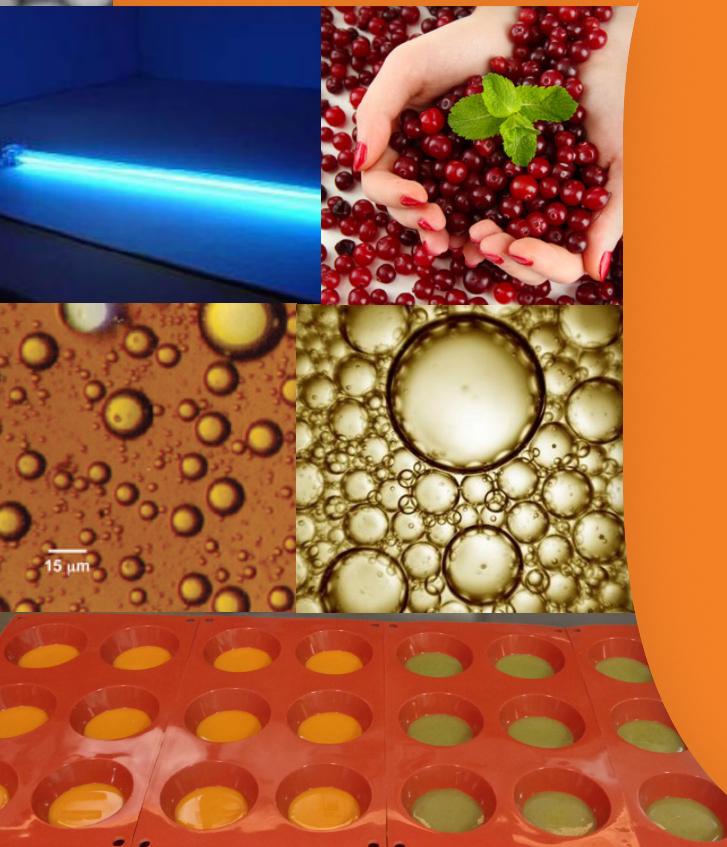


tsia

TEMAS SELECTOS DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS



Editorial

La persona que elige una carrera en investigación se verá en la necesidad de escribir frecuentemente textos científicos como, por ejemplo, revisiones bibliográficas, propuestas de proyectos de investigación, artículos de divulgación científica, reportes técnicos, etc. Es por ello que la habilidad para escribir artículos científicos es un aspecto crítico en la formación de futuros investigadores, y que se desarrolla con la práctica. La revista Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos proporciona a los estudiantes de posgrado una excelente oportunidad para sintetizar la gran cantidad de información disponible sobre un tema específico; ejercitarse la habilidad de escritura científica y, mediante la retroalimentación por parte de su asesor, contribuir al desarrollo de la misma.

En esta ocasión me es muy grato presentar el Número 1 del Volumen 9 de dicha revista. En este volumen se incluyen cinco artículos de revisión bibliográfica sobre tópicos de actualidad e interés en las áreas de Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Estas contribuciones incluyen temas variados como: modificación enzimática de compuestos fenólicos; preparación y aplicaciones de nanoemulsiones en alimentos; pigmentos en frutas y hortalizas rojas; métodos para la determinación de dosis de radiación ultravioleta (UV-C) en alimentos; y, películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras, que serán de interés tanto para expertos como para aquéllas personas interesadas en adquirir o profundizar sus conocimientos en estas áreas.

Ojalá que la revista continué con su publicación, como desde hace ya más de ocho años, y siga contribuyendo a la formación de investigadores con habilidades excelentes para la escritura científica.

M. Fernanda San Martín González

ExAUDLAP
Profesora Asociada
Purdue University
West Lafayette, IN

Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Publicación Semestral

Volumen 9 (enero - mayo 2015)

EDITORIA RESPONSABLE

María Eugenia Bárcenas Pozos

CONSEJO EDITORIAL

Emma Mani López

Arlette Santacruz López

María Teresa Jiménez Munguía

Fidel Tomás Vergara Balderas

Rossana del Carmen Altamirano Fortoul

Certificado de reserva de derechos

04-2010-080615025900-102

Certificado de licitación de título y contenido

15430

DOMICILIO:

Fundación Universidad de las Américas, Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N

San Andrés Cholula, Puebla.

C.P. 72810, México

Teléfono: 222 229 2126

DISTRIBUIDO POR:

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

Fundación Universidad de las Américas, Puebla

IMPRESIÓN:

Talleres gráficos

Universidad de las Américas Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N

San Andrés Cholula, Puebla. C.P. 72810, México

UDLAP®

Contenido

Volumen 9 / Enero-mayo 2015

EDITORIAL

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

5 Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos

L.R. Castro-López*, A.E. Ortega-Regules y J.D. Lozada-Ramírez

15 Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones

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

25 Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas

A. Castañeda-Sánchez* y J.A. Guerrero-Beltrán

34 Métodos para la determinación de la dosis de radiación ultravioleta de onda corta (UVC) en alimentos

O.T. Antonio-Gutiérrez*, A. López-Malo, E. Palou y N. Ramírez-Corona

41 Películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras

A.S. López-Díaz*, A. López-Malo y E. Palou

Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos

L.R. Castro-López^{1,*}, A.E. Ortega-Regules³, J.D. Lozada-Ramírez²

¹ Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.

² Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas

³ Departamento de Ciencias de la Salud

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

RESUMEN

Los compuestos fenólicos, también llamados polifenoles, son un tipo de metabolitos secundarios encontrados en la mayoría de las plantas. Muchos estudios han indicado que estos compuestos exhiben actividades biológicas tales como propiedades antioxidantes, antimicrobianas y/o anticancerígenas. Sin embargo, los polifenoles presentan limitada solubilidad y estabilidad frente a parámetros como lo son pH, temperatura, presencia de oxígeno, metales, entre otros. Debido a ello, la modificación estructural enzimática de dichos compuestos podría ser una alternativa para afrontar este problema. El propósito de esta revisión es exponer estudios encontrados sobre modificaciones enzimáticas de polifenoles, particularmente por glicosilación y acilación, que permiten la obtención de derivados fenólicos potenciales para ser aplicados en procesos de interés alimentario.

Palabras clave: polifenoles, modificación enzimática, glicosilación, acilación.

ABSTRACT

Phenolic compounds, also called polyphenols, are a type of secondary metabolites found in most plants. Many studies have suggested that these compounds exhibit biological activities such as antioxidant, antimicrobial or anticancer properties. However, they have limited solubility and stability against some parameters such as pH, temperature, presence of oxygen, metals, among others. As a result, the enzyme structural modification of such compounds could be an alternative to address this problem. The purpose of this review is to present studies found on enzymatic modifications, obtained by glycosylation and acylation, which produce phenolic compounds for potential application in food processes.

Keywords: polyphenols, enzymatic modification, glycosylation, acylation.

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

Introducción

Los compuestos fenólicos, también llamados polifenoles, son un tipo de metabolitos secundarios distribuidos ampliamente en el reino vegetal; poseen un anillo aromático el cual está unido a uno o más grupos hidroxilo y se caracterizan por presentar propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales. El grupo más importante de los compuestos fenólicos son los flavonoides. Los flavonoides incluyen antocianinas, flavanoles (catequinas), flavonoles, flavonas e isoflavonas. Los flavonoides han sido utilizados en preparaciones alimentarias, cosméticas y farmacéuticas, lo cual les ha conferido un marcado interés que ha venido en aumento durante los últimos años. Sin embargo, el uso de estos compuestos fenólicos en varios dominios, se ha visto limitado por su baja estabilidad presentada frente a diversos parámetros de pH, temperatura, presencia de oxígeno, metales y solubilidad, entre otros. Para optimizar las propiedades presentadas por los flavonoides, distintos autores han estudiado su modificación estructural por reacciones químicas o enzimáticas, siendo dos reacciones las de particular atención: glicosilación y acilación. Diferentes estudios han demostrado que la glicosilación puede repercutir de manera positiva en la estabilidad de las agliconas de los flavonoides y la acilación enzimática puede potenciar la estabilidad y actividad antioxidante de los mismos. Aunque las antocianinas de muchos productos ya han sido caracterizadas y estudiadas, se han realizado pocos estudios sobre su modificación para buscar mayor estabilidad y nuevas propiedades colorantes y antioxidantes.

En este artículo se presentan estudios realizados recientemente sobre las modificaciones estructurales llevadas a cabo por enzimas específicas, particularmente en los procesos de glicosilación y acilación, sobre los compuestos fenólicos, con el fin de potenciar la capacidad antioxidante de los mismos y examinar sus posibles aplicaciones como aditivos en alimentos funcionales.

Revisión bibliográfica

1. Aspectos generales de los compuestos fenólicos
En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos se denominan polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en fun-

ciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc). Por lo general, se nombran como derivados del miembro más sencillo de la familia, el fenol. Su estructura química es más o menos compleja y pueden variar de moléculas simples a muy complicadas, con un bajo peso molecular a un mayor peso molecular. Debido a la gran diversidad en su estructura, presentan diferentes propiedades, como solubilidad y polaridad, que les permiten tener diferentes interacciones con otras moléculas alrededor de ellas (Jakobek, García y Tomás, 2013).

1.1 Clasificación

Los compuestos fenólicos constituyen un enorme grupo de sustancias, en su mayoría de origen vegetal, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se han clasificado en distintos grupos según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base (Muñoz, Fernández, Ramos Alvarado-Ortiz, 2007). De acuerdo a su complejidad química, se han encontrado los siguientes grupos: fenoles simples, ácidos fenólicos, acetofenonas, cumarinas, benzofenonas y estilbenos, xantonas y flavonoides. Estos últimos constituyen el grupo de mayor relevancia y abundancia en la naturaleza (Sánchez-Paniagua, 2008) y fueron descubiertos por el premio Nobel en Bioquímica Dr. Albert Szent-Gyorgyi, quien les denominó como “vitamina P”. Los polifenoles se clasifican en varias categorías dentro de las que se incluyen antocianidinas, flavonoles, flavanoles (catequinas y proantocianidinas), flavanones, flavonas e isoflavonas (Crozier, Jaganath y Clifford, 2009), en la Fig. 1. se presenta la clasificación de los compuestos fenólicos en bayas de fruta.

La estructura básica de los polifenoles consiste en dos grupos fenilo ligados al puente de tres carbonos comúnmente ciclados con el oxígeno. Varias moléculas de azúcar pueden unirse a la estructura del flavonoide por los grupos hidroxilo, lo cual genera que la estructura de estas moléculas sea más compleja (Jakobek *et al.*, 2013). Los polifenoles comprenden varias clases de sustancias naturales, entre las cuales están muchas de las que les confieren colores amarillo, naranja, rojo, violeta y azul a muchas flores, hojas y frutos, especialmente (Martínez, 2005).

Como resultado de la gran variedad de compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, las propiedades y aplicaciones de los fenoles varían, existiendo algunos con efectos tóxicos sobre los organismos vivos y otros con efectos favorables para la salud.

1.2 Biosíntesis

Los polifenoles, como se mencionó anteriormente y como su nombre lo indica, contienen al menos un grupo **fenol** y un an-

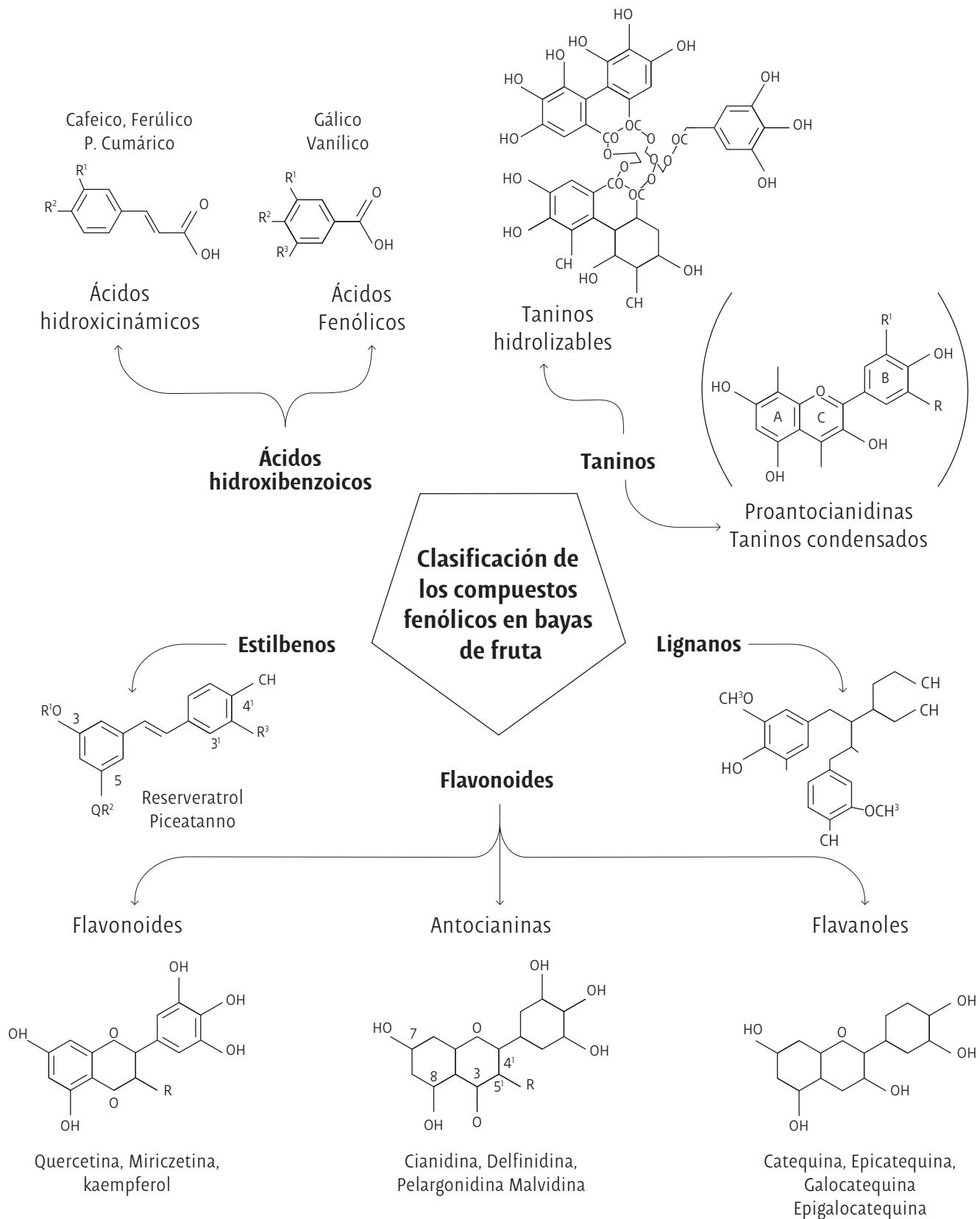


Fig. 1. Clasificación de los compuestos fenólicos en bayas de frutas (Adaptado de Paredes, Cervantes, Vigna y Hernández, 2010)

llo aromático unido a un grupo funcional. Se diferencian de otros compuestos, que también poseen esta estructura fenólica (monoterpenos), en su origen biosintético. La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas, tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shiquímico y la ruta de los poliacetatos (Bravo, 1998). La ruta del ácido shiquímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas. La ruta del ácido shiquímico (dependiente de la luz) se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fostato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucólisis. Tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido shiquímico, del que derivan directamente algunos fenoles (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012). En la Fig. 2 se observa la ruta biosintética de los flavonoides en las plantas.

2. Compuestos fenólicos en alimentos

Numerosos estudios han confirmado las propiedades biológicas de los polifenoles, teniendo potencial interés sus propiedades antioxidantes (relacionada con su capacidad para quitar metales y captar radicales libres) (Perez-Vizcaino, Duarte, Jimenez, Santos-Buelga y Osuna, 2009, Xiao, Kai, Yamamoto y Chen, 2013). Consiguiendo un beneficio desde un punto de vista nutricional la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en compuestos fenólicos, reduciendo así la utilización de aditivos antioxidantes. Los flavonoides con mayor poder antioxidante o actividad neutralizadora de radicales libres son: catequina, quercentina, miricetina, kaempferol, isoxanthohumol, genisteína, naringenina y el glucósido de cianidina C₃G presente especialmente en el vino tinto (Ochoa y Ayala, 2004).

Fabianni *et al.*, (2013) encontraron en los extractos de arándano (el cual presenta un alto contenido de polifenoles), un aumento en la actividad antirradicalaria (medida como porcentaje de decoloración de DPPH) del 62.86% al 64.52% usan-

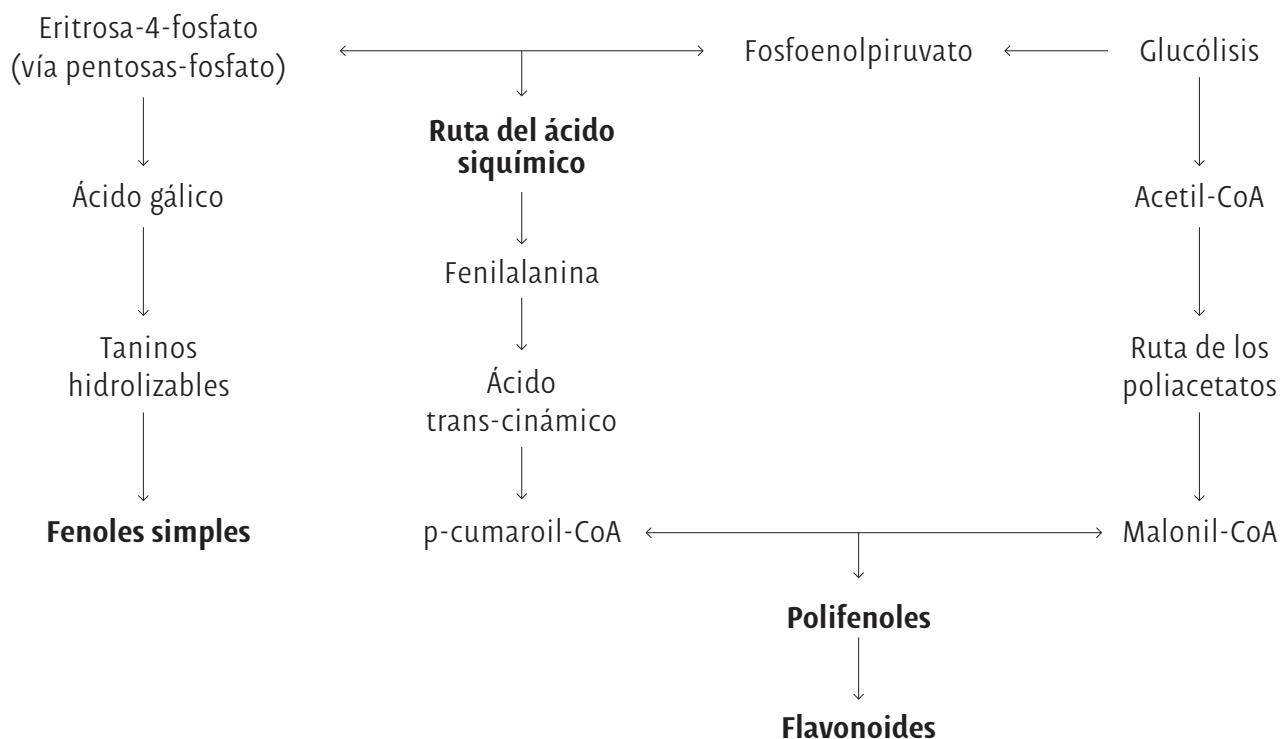


Fig. 2. Ruta biosintética de los polifenoles (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012).

Tabla I. Estudios de intervención en humanos con compuestos polifenólicos de alimentos.

Modo de administración	Compuesto polifenólico)	Dosis por día	Efectos en salud	Referencias
Cebolla	Quercetina	112 mg	Disminución de la presión arterial	Kudolo, 2001
Extracto de Ginkgo Biloba	Quercetina	120-320 mg	Disminución de radicales libres	Kudolo, 2001
Chocolate	Procianidinas	320 mg	Disminución de oxidación de LDL	Taubert, Berkels, Roesen y Klaus, 2003
Vino tinto	Procianidinas	250-500 ml vino	Disminución de peróxidos en plasma	Nigdikar, Williams, Griffin y Howard, 1998

LDL: Lipoproteína de baja densidad. Adaptado de Arranz (2010).

do quer cetina como referencia. Otro estudio demostró que estos polifenoles (antocianinas, quer cetina, procianidinas) lograron aumentar la capacidad antioxidante del organismo en adultos mayores sanos (50-70 años) (McKay, Oliver, Zampariello y Blumberg, 2015) dando un resultado del 44.6 µmol Trolox/g peso seco por el método ORAC (capacidad de absorbancia del radical oxígeno) (Paredes, Cervantes, Vigna y Hernández, 2010). También se ha reportado que los ácidos fenólicos solubles (formas glicosiladas libres, esterificadas y solubles) contribuyen en la actividad antioxidante de cereales alimentarios, como se observó en un estudio de granos de maíz y trigo, los cuales presentaron una actividad antioxidante de 181.42 ± 0.86 y 70 ± 1.38 µmol de vitamina C equiv/g de grano respectivamente (Pihlava *et al.*, 2015).

Por otro lado, el jugo de uva también ha mostrado beneficios potenciales asociados a su composición polifenólica. Se ha demostrado que adultos mayores con deterioro cognitivo leve después de 12 semanas de consumir jugo de uva (6-9 mL/kg/día) mostraron un mayor aprendizaje y una tendencia hacia una mayor recuperación de memoria de acuerdo al test California verbal learning (CVLT), en relación con los adultos que recibieron un placebo, atribuyendo este resultado al alto contenido de polifenoles (flavonoides) en el jugo de uva (Marshall, Shukitt-Hale, y Shukitt-Hale, 2012). En la Tabla I se muestran estudios de intervención en humanos con sus efectos de salud que conlleva el consumo de alimentos ricos en polifenoles.

La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, formas que no se pueden absorber. La solubilidad y destino metabólico de los polifenoles, debido a biotransformaciones endógenas y exó-

genas, y la interacción con otros componentes de la dieta, determinan la biodisponibilidad (proporción de nutrientes que se digieren, se absorben y se metabolizan a través de las rutas metabólicas habituales de asimilación) de estas sustancias (Birt, Hendrich y Wang, 2001; Srinivasan, 2001). Esta biodisponibilidad, en el caso de los flavonoides, puede ser muy diferente dependiendo del tipo de compuesto y de su estructura concreta, es por eso que su bioaccesibilidad (fracción máxima que puede liberarse de la matriz del alimento en el tracto gastrointestinal) y biodisponibilidad son sujetos de diversos estudios y revisiones (Adam *et al.*, 2002; Duarte y Farah, 2011; Serra *et al.*, 2010), donde el objetivo principal es el determinar cuáles son los polifenoles que mejor se absorben, valorar los polifenoles que dan lugar a metabolitos activos, y caracterizar la actividad biológica de estos metabolitos (Quiñones *et al.*, 2012).

3. Modificaciones enzimáticas

Durante los últimos años se han implementado muchos esfuerzos en la búsqueda de nuevos compuestos fenólicos o en la modificación estructural de los previamente conocidos para incrementar su estabilidad a través de biomimética.

Se ha comprobado que los compuestos fenólicos pueden sufrir modificaciones enzimáticas en su estructura, confiriéndoles una mayor estabilidad así como propiedades mejoradas en cuestión de su capacidad antioxidante y propiedades colorantes. Los polifenoles, particularmente las antocianinas, pueden ser modificadas a través de glicosilaciones, acilaciones y metilaciones usando enzimas selectivas (Yan *et al.*, 2013; Yonekura-Sakakibara, Nakayama, Yamazaki y Saito, 2012). Se ha demostrado la obtención de antocianinas más estables, por medio de la copigmentación con isoquer cetina (Yan *et al.*, 2013).

Este tipo de modificaciones sobresaltan el color de las flores y de los frutos de las plantas, resultando de gran importancia, estudiar la probabilidad de modificar estructuralmente dichos compuestos con fines de obtener y conseguir propiedades mejoradas.

3.1 Glicosilaciones y enzimas implicadas

Muchos de los metabolitos secundarios, que tienen una gran tradición en aplicaciones etnofarmacológicas ancestrales y precursoras de la medicina moderna, se presentan naturalmente en su forma glicosilada, por ejemplo la presencia de la glicona representa grandes ventajas desde el punto de vista farmacológico. Un método alternativo para la síntesis de glucósidos es la vía enzimática, en la cual se aprovecha la alta especificidad de las enzimas, permitiendo realizar la síntesis en un número reducido de etapas de proceso y lo que es mejor, evitando subproductos no deseados.

La mayoría de los estudios sobre las consecuencias funcionales de la glicosilación de polifenoles se centran en cómo se afecta su capacidad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas, por lo tanto es muy difícil obtener observaciones generales o de aplicación universal sobre el impacto de la glicosilación en la bioactividad de estos compuestos y la capacidad de afectar la salud humana. Sin embargo, podemos encontrar algunos ejemplos de glicosilaciones enzimáticas en algunos alimentos como lo es en jugos, uno de estos ejemplos es el llevado a cabo por Morais *et al.*, en el 2013, donde consiguieron potenciar la actividad antioxidante en jugos de naranja y lima por glicosilación enzimática empleando las enzimas α -L-rhamnosidasa y la β -D-glucosidasa, solas o en combinación, obteniendo derivados con un incremento de actividad antioxidante del 72.7% al 86.5%. También se ha demostrado la eficiencia del kaempferol (flavonol encontrado en el té verde) como limpiador de los radicales 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

(DPPH) y un mejor inhibidor de la xantina oxidasa (Park, Rho, Kim y Chang, 2006). Otro ejemplo de glicosilación enzimática de compuestos fenólicos, es el encontrado en la naringina (flavanona glicosilada) donde se observó que genera una actividad antiinflamatoria con la disminución de un 50% en los niveles de la peroxidación lipídica (Amaro *et al.*, 2009).

Existen varias enzimas implicadas en la glicosilación, particularmente encontramos aquéllas que catalizan las reacciones de sustitución, y son activas con múltiples clases de flavonoides (Tooru, 2005). Un ejemplo de lo anterior es la glucosiltransferasa UGT78G, identificada como una isoflavona glucosiltransferasa que presenta una afinidad cinética baja sobre las antocianidinas (Dixon y Pasinetti, 2010). Las enzimas flavonol glicosil transferasa, antociani(di)n glicosil transferasa y flavonoide glicosil transferasa pueden ser usadas para la modificación estructural “in vitro” de antocianinas con fines de mejorar su capacidad colorante y/o antioxidante (Lillo, Lea y Ruoff, 2008). En la Tabla II se nombran las glicosiltransferasas identificadas durante los últimos años, permitiendo la obtención a gran escala de dichas enzimas en la industria alimentaria.

3.2 Acilaciones y enzimas implicadas

Los compuestos fenólicos pueden proporcionar numerosas oportunidades para la innovación de ingredientes y/o aditivos alimentarios. Sin embargo, dependiendo de su estructura, su uso está limitado, sobre todo en la industria alimenticia por su solubilidad débil en matrices lipídicas. Algunos científicos han investigado la acilación química y enzimática con el fin de mejorar las propiedades de los polifenoles. En comparación con los métodos químicos, el enfoque enzimático es más adecuado para estas modificaciones porque las enzimas son regioselectivas y el proceso puede llevarse a cabo a temperaturas y presiones moderadas, por lo tanto, el proceso de acilación enzimática es un método prometedor.

Tabla II. Glicosiltransferasas identificadas entre el 2006 y 2013

Espezie	Enzima	Substrato (s) Aceptor	Substrato donador	Producto	Referencias
<i>Amaranthus tricolor</i>	BGT	Betanidina Kaempferol	UDP-Glc	O-glucósido	Das, Gauri, Misra, Biswas y Dey (2013)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AtUGT78D3	Quercetina	UDP-Ara	O-arabinosida	Kim <i>et. al.</i> (2010)
<i>Glicina max (L.) Merr</i>	UGT78K1	Antocianidinas Flavonoles	UDP-Glc	O-glucósido	Kovinich Saleem, Arnason y Miki (2011)
<i>Vitis vinifera</i>	Vv GT6	Flavonoles	UDP-Glc	O-glucósido	Ono, Ruike, Iwashita, Nomoto y Fukui (2010)

La acilación corresponde al proceso químico de adicionar grupos acilo a un compuesto con el fin de producir o generar compuestos más estables utilizando biosíntesis química y/o enzimas específicas. Este proceso es particularmente importante en la estabilización de antocianinas, generándose compuestos más azulados. Varios tipos de enzimas han sido probadas para la acilación de flavonoides, como las proteasas, acil transferasas y lipasas, no obstante, el aumento en el número de enzimas disponibles comercialmente permite una amplia gama de biocatalizadores para ser utilizados (Chebil, Humeau, Falcimaigne, Engasser y Ghoul, 2006). La enzima isoflavona-7-O-beta-glucosido 6"-O-maloniltransferasa (EC 2.3.1.115) es una aciltransferasa que se encarga de transferir grupos acilo y participa en la biosíntesis de flavonoides. La enzima comercial registrada lipase B (Novozym 435®) permite la acilación de glucósidos de flavonoles (naringina) de los frutos manzana y arándanos, en sus correspondientes ácidos fenólicos (Stevenson, Wibisono, Jensen, Stanley y Cooney, 2006).

4. Aplicaciones de compuestos fenólicos modificados en alimentos

Para la industria de los alimentos, los compuestos fenólicos tienen un nicho de aplicación cada vez con mayor impacto debido a sus múltiples características benéficas frente a distintos parámetros. Es así como la modificación enzimática en estos compuestos le confiere una mayor versatilidad y, sobre todo, un alto potencial para ser usados como colorantes naturales y aditivos funcionales favoreciendo la capacidad antioxidante.

Evaluando la concentración de antocianinas de productos alimenticios, en un inicio ricos en antocianinas, es probable establecer analíticamente por métodos cromatográficos un índice de calidad, el cual es útil para determinar un análisis rutinario de la vida de anaquel del producto y de sus propiedades benéficas (Bononi y Tateo, 2007). De esta misma manera se puede estimar el incremento en la vida de anaquel de productos adicionados con antocianinas modificadas, más estables y con las mismas o mejores propiedades antioxidantes y colorantes (Zhang *et al.*, 2013).

A pesar de los grandes beneficios que conlleva el consumo de compuestos fenólicos en una dieta diaria, y su aplicación en la industria alimentaria, son pocos los estudios realizados sobre la modificación enzimática de dichos compuestos y su aplicación en alimentos. Sin embargo, en la bibliografía podemos encontrar algunos ejemplos: el primer glucósido flavonol soluble y considerado seguro (GRAS) por la FDA en el 2003, es

la isoqueracetina enzimáticamente modificada (EMIQ) obtenida por transglucosilación con la enzima ciclodextrina glucanotransferasa (CGTase) (Akiyama, Washino, Yamada, Koda, y Maitani, 2000). También se ha reportado el potencial de la alfa-L-rhamnosidasa en la producción de bebidas funcionales por la reacción de glicosilación en sus glucósidos flavonoides (Morais *et al.*, 2013) donde se observó, de acuerdo a ensayos con antioxidantes, un incremento significativo en la bioconversión de jugos cítricos, pudiendo favorecer en intervenciones futuras en relación con los beneficios para la salud de los flavonoides cítricos.

Conclusiones y comentarios finales

La estabilización de los compuestos fenólicos, principalmente antociánicos y flavonoides por métodos enzimáticos, permite obtener nuevos compuestos con múltiples ventajas, ofreciendo mayores posibilidades de aplicación; para inhibir la proliferación celular en cáncer, como antioxidantes en productos farmacéuticos, cremas y alimentos, para evaluar la calidad nutrimental de un alimento, entre otros. Es por ello que se necesitan más investigaciones para favorecer el uso de los compuestos fenólicos modificados enzimáticamente, en diferentes campos, teniendo potencial interés su aplicación en alimentos funcionales.

Agradecimientos

La autora L.R. Lopez agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla, por el financiamiento de sus estudios de posgrado y el apoyo para realizar este trabajo.

Referencias

- Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M. A., Leenhardt, F., Leuillet, M., Demigné, C. (2002). The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *The Journal of Nutrition*, 132, 1962-1968.

- Akiyama, T., Washino, T., Yamada, T., Koda, T., y Maitani, T. (2000). Constituents of enzymatically modified isoquercitrin and enzymatically modified rutin (extract). *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 41(1), 54-60.
- Amaro, M., Rocha, J., Vila-Real, H., H., Eduardo-Figueira, M., Mota-Filipe, H., Sepedes, B., Ribeiro, M. (2009). Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesised naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*, 42, 1010-1017.
- Andrae-Marobela, K., Ghislain, F.W., Okatch, H y Majinda, R. (2013). Polyphenols: a diverse class of multi-target anti-HIV-1 agents. *Current Drug Metabolism*, 7, 392-413.
- Arranz, S. (2010). Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Tesis de doctorado no publicada, Universidad Complutense de Madrid. España.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Binsack, R., Boersma, B. J., Patel, R. P., Kirk, M., White, C. R., DarleyUsmar, V., Barnes, S., Zhou, F., Parks, D.A. (2001). Enhanced antioxidant activity after chlorination of quercetin by hypochlorous acid. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 25, 434-443.
- Birt D. F, Hendrich, S, Wang, W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 90, 157-77.
- Bononi, M., Tateo, F. (2007) Stabilization of cranberry anthocyanins in nutraceutical capsules. *Int. Journal on Food Science Nutrition*, 58(2), 142-149.
- Chebil, L., Humeau, C., Falcimaigne, J., Engasser, J., Ghoul, M. (2006). Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, 41, 2237-2251.
- Christensen, L. P. (2009). Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 55, 1-99.
- Crozier, A., Jaganath, I., Clifford, M. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports*, 26, 1001-10043.
- Das, S., Gauri, S., Misra, B., Biswas, M., Dey, S. (2013). Purification and characterization of a betanidin glucosyltransferase from *Amaranthus tricolor* L catalyzing non-specific biotransformation of flavonoids. *Plant Science*, 211, 61-9.
- Dixon, R. y Pasinetti, G. (2010) Flavonoids and Isoflavonoids: From Plant Biology to Agriculture and Neuroscience. *Plant Physiology*, 154, 453-457.
- Duarte, G. S., y Farah, A. (2011). Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7925-7931.
- Fabiani, G., Pérez, E., Corral, L., Salguero, A., González, M., Tereschuk, M y Boggetti, H. (2013). Evaluación del contenido de antioxidantes en extractos convencionales y supercríticos de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA ISSN N° 1853-7871.
- Gorelik, S., Kanner, J., Schurr, D., Kohen, R. (2013). A rational approach to prevent postprandial modification of LDL by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 5, 163-169.
- Jakobek, L., García, R., Tomás, F. (2013). Polyphenolic characterisation of old local apple varieties from Southeastern European region. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 199-211.
- Johnson, M., DeMejia, E., Fan, J.F, Lila, M y Yousef, G. (2013). Anthocyanins and proanthocyanidins from blueberry-blackberry fermented beverages inhibit markers of inflammation in macrophages and carbohydrate-utilizing enzymes in vitro. *Molecular and Nutrition Food Research*, 57, 1182-97.
- Kim, B., Jung, N., Joe, E., Hur, H., Lim, Y., Chong, Y. (2010). Bacterial synthesis of a flavonoid deoxyaminosugar conjugate in *Escherichia coli* expressing a glycosyltransferase of *Arabidopsis thaliana*. *Chembiochem*, 11, 2389-92.
- Kovinich, N., Saleem, A., Arnason, J., Miki B. (2011). Combined analysis of transcriptome and metabolite data reveals extensive differences between black and brown near-isogenic soybean (*Glycine max*) seed coats enabling the identification of pigment isogenes. *BMC Genomics*, 12, 381.
- Kudolo, G. B. (2001). The effect of 3-month ingestion of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) on pancreatic β-cell function in response to glucose loading in individuals with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of clinical pharmacology*, 41(6), 600-611.
- Lillo, C., Lea, U.S., Ruoff, P. (2008) Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell Environ*, 31, 587-601.

- Martínez, A. (2005). Flavonoides. Recuperado el 20 de enero de 2015 de Universidad de Antioquia: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>.
- Marshall, G., Shukitt-Hale, B., Shukitt-Hale, M (2012). Berry Fruit Enhances Beneficial Signaling in the Brain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (23), 5709-5715.
- McKay, D., Oliver, C.Y., Zampariello, A., Blumberg, J. (2015). Flavonoids and phenolic acids from cranberry juice are bioavailable and bioactive in healthy older adults. *Food Chemistry*, 168, 233-240.
- Morabito, N. et al. (2002). Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: A randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(10), 1904-1912.
- Morais, C., Jares, F., Frankland, A., Cabral, E., Barbosa, I., Nogueira, M. y Oliveira, P. (2013). Enhancement of the antioxidant activity of orange and lime juices by flavonoid enzymatic de-glycosylation. *Food Research International*, 52, 308-314.
- Muñoz, A., Fernández, A., Ramos, F y Alvarado-Ortiz, C. (2007). Evaluation of the antioxidant activity and content of phenolics compounds in wines produced in Peru. *Sociedad Química de Perú*, 73(1), 30-40.
- Nigdikar, S. V., Williams, N. R., Griffin, B. A., y Howard, A. N. (1998). Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68(2), 258-265.
- Ochoa, C., Ayala, A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. *Ingeniería y competitividad*, Volumen 6 - No. 2.
- Ono, E., Ruike, M., Iwashita, T., Nomoto, K., Fukui Y. (2010). Co-pigmentation and flavonoid glycosyltransferases in blue Veronica persica flowers. *Phytochemistry*, 71, 726-35.
- Paredes, O., Cervantes, M., Vigna, M., Hernández, T (2010). Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life a review. *Plant Foods Human Nutrition* 65, 299-308.
- Park, J. S., Rho, H. S., Kim, D. H., y Chang, I. S. (2006). Enzymatic preparation of kaempferol from green tea seed and its antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2951-2956.
- Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. (2009). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacology Reports*, 61, 67-75
- Pihlava, J. M., Nordlund, E., Heinio, R. L., Hietaniemi, V., Lehtinen, P y Poutanen, K. (2015). Phenolic compounds in wholegrain rye and its fractions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 89-97.
- Quiñones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Sánchez-Paniagua- López, M. (2008). Biosensores amperométricos de tirosinasa para la determinación de compuestos fenólicos en medios acuosos y no acuosos. Tesis de doctorado publicada, Universidad Complutense de Madrid. España.
- Serra, A., Macià, A., Romero, M. P., Valls, J., Bladé, C y Arola, L. (2010). Bioavailability of procyanidin dimmers and trimers and food matrix effect in in vitro and in vivo models. *British Journal of Nutrition*, 103, 944-952.
- Srinivasan, V. (2001). Bioavailability of nutrients: a practical approach to in vitro demonstration of the availability of nutrients in multivitamin-mineral combination products. *Journal of Nutrition*, 131, 1349S-1350S.
- Stevenson, D., Wibisono, R., Jensen, J., Stanley, R y Cooney, J. (2006). Direct acylation of flavonoid glycosides with phenolic acids catalysed by *Candida antarctica* lipase B (Novozym 435®). *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 1236-1241.
- Taubert, D., Berkels, R., Roesen, R., y Klaus, W. (2003). Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension [5]. *Journal of the American Medical Association*, 290(8), 1029-1030.
- Tomás-Barberán, F., A. Espín., J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzyme as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 853-876.
- Tooru, N. (2005). Evolution and functions of anthocyanin transglycosylation enzyme. Specificity and universality of sugar transferase controlling flower color diversity. *Journal Kagaku to Seibusu*, 43(3), 142-145.
- Xiao, J.B., Kai, G.Y., Yamamoto, Ky Chen, X.Q. (2013). Advance in dietary polyphenols as α -glucosidases inhibitors: a review on structure-activity relationship aspect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 818-36.
- Yan, Q., Zhang, L., Zhang, X., Liu, X., Yuan, F., Hou, Z y Gao, Y. (2013) Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment. *Food Research International*, 50, 603-609.

- Yonekura-Sakakibara, K., Nakayama, T., Yamazaki, M., Saito, K. (2012). Modification and Stabilization of Anthocyanins in Anthocyanins. *Biomedical and Life Sciences*, 169-190.
- Young, J. F. et al. (2002). Green tea extract only affects markers of oxidative status postprandially: Lasting antioxidant effect of flavonoid-free diet. *British Journal of Nutrition*, 87(4), 343-355.
- Zhang, Y., Butelli, E., De Stefano, R., Schoonbeek, H., Magusin, A., Pagliarani, C., Wellner, N., Orzaez, D., Granell, A., Jones, J y Martin, C. (2013). Anthocyanins double the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold. *Current Biology*, 23(12), 1094-1100.

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

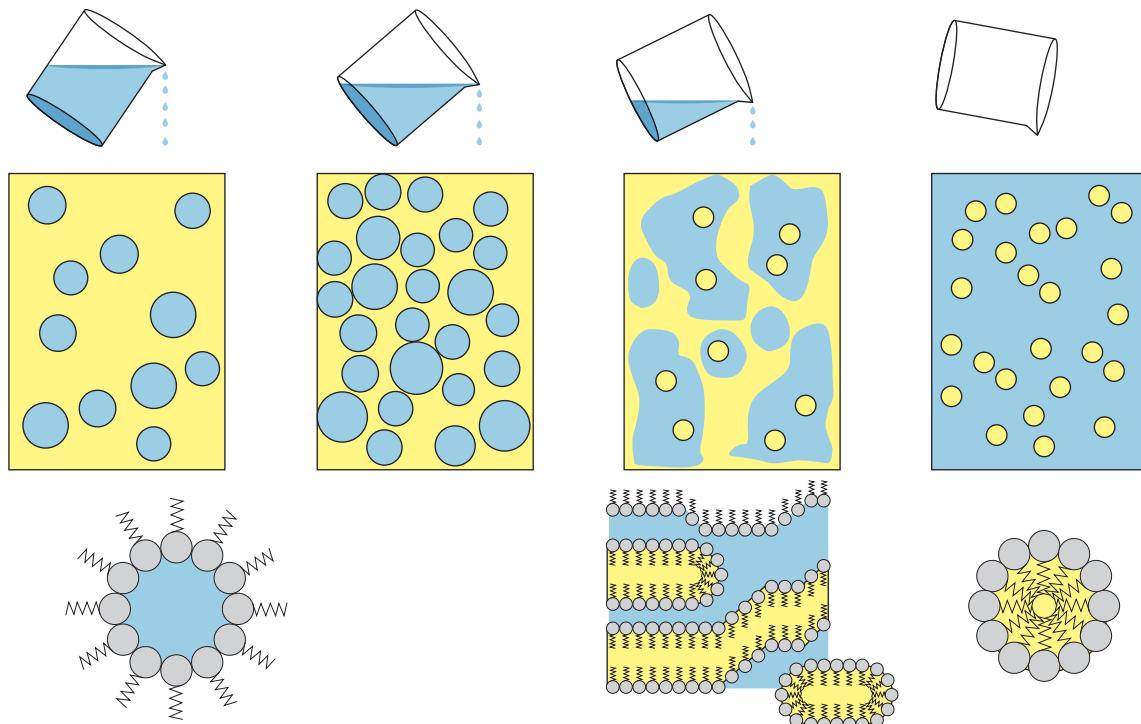


Fig. 1. Diagrama del proceso de emulsificación por inversión de fases (McClements, 2011).

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

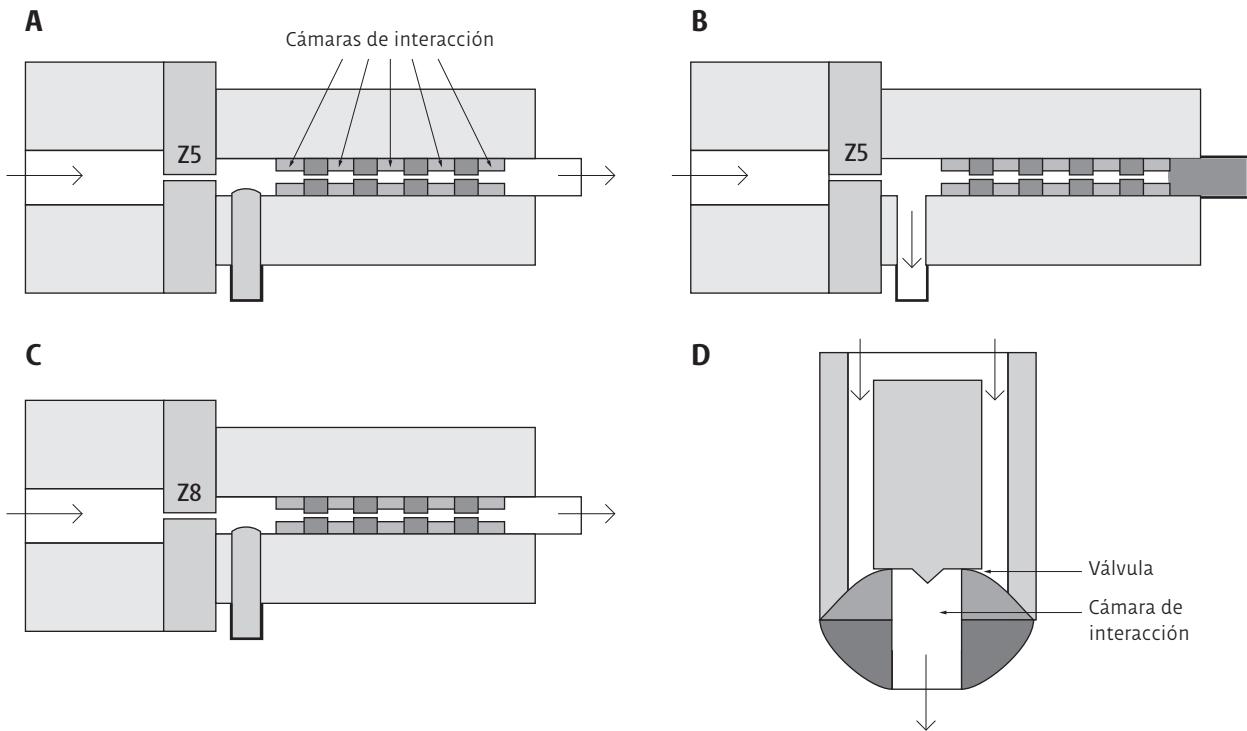


Fig. 2. Diagrama de las diferentes geometrías de las cámaras de homogeneización probadas en la formación de nanoemulsiones de aceite esencial de mostaza (Donsì, Sessa y Ferrari, 2012).

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.

Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas

A. Castañeda-Sánchez* y J.A. Guerrero-Beltrán

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

Las frutas y hortalizas de color rojo presentan un alto contenido de pigmentos, destacando las antocianinas. Los arándanos, frambuesas, fresas, cerezas, rábanos, cebollas rojas y algunas variedades de chile son fuentes ricas en estos productos naturales. Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas con gran diversidad estructural. También presentan actividad antioxidante, disminuyen el daño oxidativo causado por radicales libres y se relacionan con la actividad anticancerígena, antiinflamatoria y antitumoral. Las antocianinas son compuestos muy sensibles a la temperatura, el pH y la luz. El objetivo de este artículo es revisar las características, fuentes naturales, beneficios a la salud y estabilidad de estos compuestos.

Palabras clave: antocianinas, pigmentos rojos, frutas, hortalizas.

ABSTRACT

The red fruits and vegetables present a high content of pigments, the anthocyanins are the most important of them. Cranberries, raspberries, cherries, radishes, red onions and some varieties of chilies are rich sources from these natural products. The anthocyanin's are in the group of flavonoids and are glycosides from the anthocyanidin with high structural diversity. As well have antioxidant activity, decreasing the free radical damage. With anticancerigen, antiinflammatory and antitumor effects. The anthocyanin's are sensitive compounds to changes in temperature, pH or light. Therefore the objective of this article is to review their characteristic, natural sources, health benefits and stability from these compounds.

Keywords: anthocyanins, red pigments, fruits, vegetables.

Introducción

El hombre consume productos alimenticios para obtener la energía y los nutrientes necesarios para subsistir, entre los que se encuentran los productos de origen vegetal. Los cuales incluyen a las frutas y hortalizas. Las cuales por su riqueza en vitaminas, minerales y fibra, hacen que su consumo sea imprescindible para conseguir una alimentación sana y equilibrada. Sin embargo, la gran diversidad de especies vegetales existentes hace que su composición sea diferente entre sí.

No obstante, las frutas y hortalizas rojas tales como la uva, pitahaya, rábanos, cebolla roja y chile de árbol; comparten características en común, los flavonoides. Estos compuestos contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y entre los flavonoides se destacan las antocianinas, que son un grupo de pigmentos de color rojo responsables por una variedad de colores atractivos y brillantes en las frutas, flores y hojas. Siendo fuentes de antocianinas, los frutos rojos o frutos del bosque como los arándanos, cerezas, framboosas o fresas.

Las antocianinas presentan el inconveniente de ser muy inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento o el procesamiento. Además, son sensibles a factores externos como la luz, el pH y la temperatura. La importancia de las antocianinas radica en su actividad antioxidante. La actividad antioxidante es la capacidad total que tiene una sustancia para disminuir la presencia de los radicales libres y retrasando así el daño oxidativo.

Ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y anticancerígenos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. De tal forma el beneficio a la salud de las antocianinas es importante para el ser humano, especialmente cuando se encuentran en cantidades apreciables en alimentos de la dieta diaria. Por esta razón, en el presente artículo se hace una revisión de las características, fuentes, actividad antioxidante y estabilidad de las antocianinas.

1. Pigmentos naturales

Los pigmentos se definen como compuestos químicos que absorben luz en la longitud de onda de la región visible. Producir color depende de la estructura molecular específica, esta estructura captura energía y produce excitación electrónica. La energía se refleja o se refracta para ser capturada por el ojo humano y genera impulsos neuronales que se interpretan como color (Vargas, Jiménez y Paredes, 2000).

Los pigmentos se pueden clasificar por su origen como naturales o sintéticos. Los pigmentos naturales se producen por organismos vivos como las plantas, animales, hongos y microorganismos. Sin embargo, los pigmentos sintéticos se obtienen por síntesis química en laboratorio, basándose en las estructuras básicas de los pigmentos naturales, identificadas previamente mediante métodos instrumentales. Además pueden contener sales inorgánicas derivadas del titanio, oro, plata, entre otros (Vargas *et al.*, 2000).

Debido a las diferencias estructurales muy variadas, los colorantes naturales se pueden agrupar en distintas clases. Las tres más importantes son los tetrapirroles, tetraterpenoides y flavonoides (Aberoumand, 2011). Los tetrapirroles presentan un amplio intervalo de colores en tonalidades verdosas. Todos ellos están basados en la misma estructura, el tetrapirrol ya sea en su forma cíclica como clorofilas, o en su forma lineal como fitocromos. De los tetrapirroles biológicos, solamente la clorofila se encuentra en plantas terrestres. Los tetraterpenoides son el segundo grupo de pigmentos más abundantes. Incluyen a los carotenoides que se encuentran presentes en vegetales, bacterias e insectos. Tienen tonalidades que van del amarillo al rojo y pueden ser reactivos por la presencia de dobles enlaces conjugados (Cañizares, Leal, Ramírez, Noyola y Márquez, 1998). Los flavonoides son el tercer grupo de pigmentos, entre los cuales se encuentran las antocianinas.

2. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos químicos que comparten un esqueleto común de difenilpirano, compuesto por dos anillos de fenilos ligados a través de un anillo de pirano. En función a sus características estructurales se pueden clasificar en flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas. La Fig. 1 muestra la numeración de la estructura flavonoide y su clasificación (Martínez, González, Culebras y Tuñón, 2002).

Como se observa en la Figura 1, los anillos de fenilos se identifican con las letras A y B, mientras que el anillo de pirano se identifica con la letra C. Los átomos de carbono en los anillos Cy A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. Los flavonoles, como la catequina, poseen un grupo hidroxilo en la posición tres del anillo de carbono. Los flavonoles, como la quericina, poseen un grupo carbonilo en la posición cuatro y un grupo hidroxilo en la posición tres del anillo central. Las flavonas, como la diosmetina, poseen un grupo carbonilo en la posición cuatro del anillo central y carecen del grupo hidroxilo en posición del carbono tres. Las antocianidinas, tienen unido el grupo hidroxilo en posición tres pero además poseen un doble enlace entre los carbonos tres y cuatro del anillo central (Martínez *et al.*, 2002).

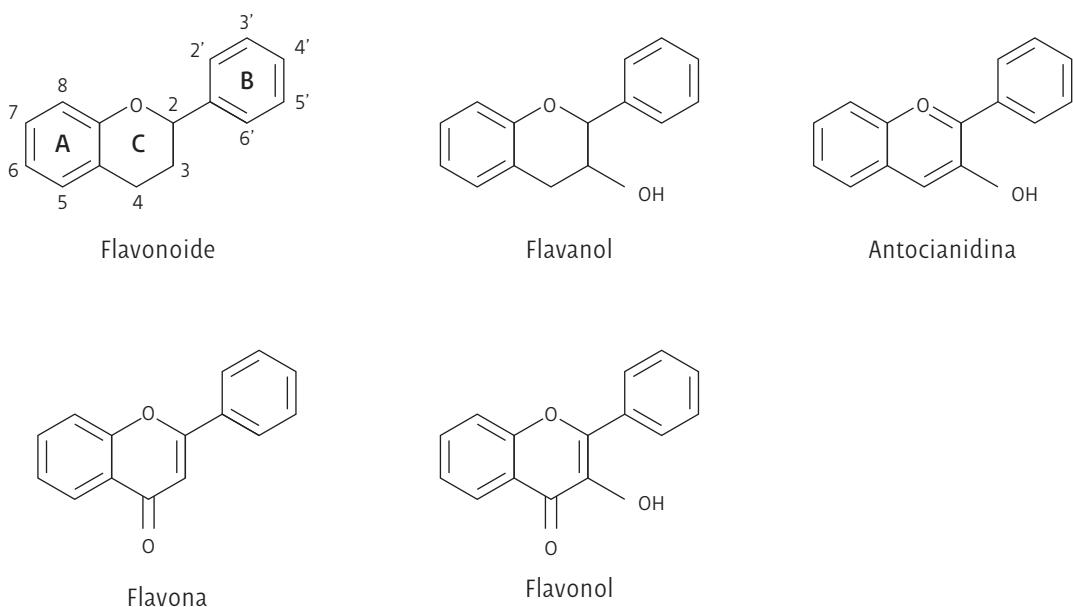


Fig. 1. Clasificación de flavonoides (Martínez et al., 2002)

Los flavonoides son pigmentos naturales que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul. Son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz UV o contra infecciones por organismos fitopatógenos (Cartaya y Reynaldo, 2001).

Se han elucidado más de 5,000 distintos flavonoides en vegetales. En la cereza (*Prunus cerasus L.*) destaca el ácido elágico. En los rábanos (*Raphanus sativus L.*) se encuentra el kaemferol. Por otra parte, las proantocianidinas son las responsables del color rojo en los arándanos (Escamilla, Cuevas y Guevara, 2009). Los flavonoides poseen propiedades benéficas para la salud. Los efectos antioxidantes han sido las propiedades biológicas de mayor interés, siendo las antocianinas blanco de un gran número de estudios (Pérez, 2003).

3. Antocianinas

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano. Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas. Están constituidas por una aglicona (antocianidina) unida a una azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, que normalmente funciona como un catión (Badui, 2006).

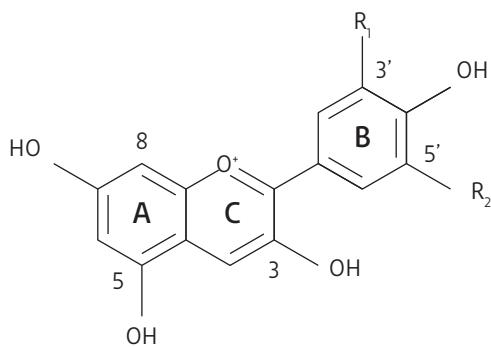
Las antocianinas se encuentran ampliamente en el reino vegetal y son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul. Las antocianinas están presentes en

diferentes órganos de las plantas; tales como frutas, flores, tallos, hojas y raíces. Estos pigmentos son normalmente disueltos uniformemente en la solución vacuolar de células epidérmicas. Sin embargo, en ciertas especies, las antocianinas son localizadas en regiones discretas llamadas antocianoplastos (Aguilera, Reza, Chew y Meza, 2011). Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta, contaminación viral y microbiana (Astrid, 2008).

3.1. Clasificación

La gran diversidad de antocianinas presentes en la naturaleza las convierte en un grupo muy complejo e interesante. Se han reportado alrededor de 635 antocianinas diferentes, con variadas estructuras base. Como se observa en la Fig. 2, las variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianinas más frecuentes en plantas superiores. Las cuales son la pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina y delfinidina. La pelargonidina tiene dos sustituyentes hidrógeno y es responsable del color rojo. La cianidina tiene un sustituyente hidroxilo y un hidrógeno, es la más común e imparte color magenta. La delfinidina tiene dos sustituyentes hidroxilo y es responsable del color azul. También son muy comunes tres metil éteres, la peonidina derivada de la cianidina, y petunidina y malvidina, basadas en la delfinidina (Estevez y Mosquera, 2009).

Las antocianinas rojas son derivados de la pelargonidina. Como la pelargonidina 3-glucósido antocianina roja mayor-



Antocianidinas

	R ₁	R ₂
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Pelargonidina	H	H
Petunidina	OMe	OH
Peonidina	OMe	H

Fig. 2. Antocianinas más comunes en la naturaleza (Estevez y Mosquera, 2009)

taria en la cáscara de pitahaya. Y la pelargonidina 3-rutinósido antocianina roja en las fresas. Otra antocianina roja común es la pelargonidina 3-soforósido-5-glucósido presente en el rábano rojo. La Fig. 3 muestra algunas antocianinas comunes de color rojo (Crozier, Jaganath y Cliffor, 2009).

La distribución promedio de antocianinas en vegetales es de cianidina en un 30%, delfinidina en un 22%, pelargonidina en un 18%, peonidina en un 7.5%, malvidina en un 7.5% y petunidina en un 5%. La diversidad de antocianinas puede incrementar en base a la naturaleza y al número de azúcares unidos a la antocianidina (Clifford, 2000).

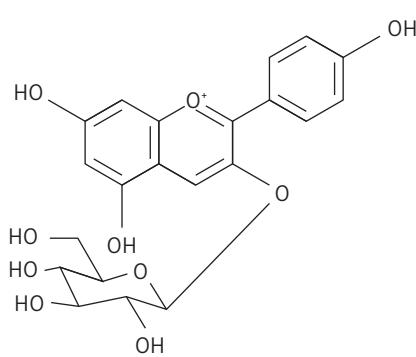
Por otra parte, las antocianinas presentan sustituyentes glucósidos. Moléculas adicionales de azúcar se pueden unir en las posiciones 5 y 7, y raramente en las posiciones 3' y 5'. Los derivados glucósidos más comunes en la naturaleza son los 3-monósidos, 3-bíosidos, 3,5 y 3,7-diglucósidos. Un 90% de las antocianinas contienen glucosa como única azúcar acompañante (Estevez y Mosquera, 2009).

Otra posible variación es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los derivados acilados se unen aún más a las azúcares, incluyendo los ácidos cinámicos como el cafeico, P-cumárico, ferúlico y sinápico. Así como los ácidos alifáticos como el acético, málico, malónico, oxálico y succínico (Castañeda, Pacheco, Paez, Rodriguez y Galan, 2009).

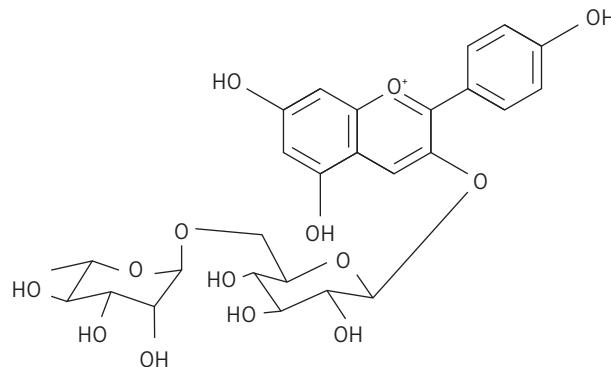
3.2. Fuentes naturales de antocianinas

Las antocianinas se encuentran ampliamente distribuidas en vegetales rojos. Como es el caso de los pigmentos rojos en rábanos, cebollas rojas, cerezas, fresas, arándanos, entre otros. La uva en ocasiones es considerada como un fruto más de color azul o morado.

Las cerezas (*Prunus cerasus L.*) son un fruto importante por su contenido de antocianinas. Gao y Mazza (1995) encontraron 19 miligramos, Wang *et al.* (1999) reportaron 18 miligramos y Kim, Heo, Kim, Yang y Lee (2005) encontraron 30.5, 42.4 y 49.1 miligramos de antocianinas por 100 gramos de material vegetal. En este último estudio se analizaron las variedades Balaton, Danubio y Sumandika, por lo que difiere de los primeros estudios en donde se analizó la variedad Kentish Red. En otros estudios, Šimunić, Kovač, Gašo-Sokač, Pfannhauser y Murković (2005) encontraron que la cianidina 3-glucosilrutinósido es la antocianina mayoritaria de la cereza.



Pelargonidina-3-glucósido



Pelargonidina-3-rutinósido

Fig. 3. Ejemplos de antocianinas de color rojo (Crozier, Jaganath y Cliffor, 2009)

Por otra parte, la cebolla roja (*Allium cepa L.*) es una especie rica en diferentes especies moleculares y compuestos antioxidantes. Gumrukcu, Ustun y Gultenkin (2008) encontraron 13.5 miligramos, Elhassaneen y Sanad (2009) reportaron 7.56 miligramos y Ashwini, Balaganesh, Balamurugan, Murugan y Sathishkumar (2013) obtuvieron 9.9 miligramos de antocianinas por 100 gramos de material vegetal. Las variaciones entre los tres estudios se deben a las diferentes procedencias de las cebollas; Egipcia, Turca e Hindú. Por otra parte, Ferreres, Gil y Tomas-Barberán (1996) identificaron a las antocianinas cianidina 3-glucósido, cianidina 3-arabinosido, cianidina 3-malonil-glucósido y cianidina 3-malonilarabinósido, siendo los derivados malónicos los predominantes en la cebolla roja.

En el caso de la frambuesa (*Rubus idaeus L.*), como en los demás vegetales, el contenido de antocianinas totales está influenciado por el ambiente de producción y la variedad. Ankos, Ibañez, Reglero y Cano (2000) reportaron 37.4 miligramos, Antonnen y Karjalinen (2005) reportaron 35 miligramos y Varela, Salinas y Ríos (2006) encontraron 40 miligramos de antocianinas por 100 gramos de fruto. Las similitudes en todos los casos se deben al análisis de la misma variedad de frambuesa roja. En otros estudios, García *et al.* (1998) encontraron como antocianinas mayoritarias a los derivados de la cianidina; las cuales fueron la cianidina 3-soforósido, cianidina 3-glucorutinósido, cianidina 3-glucósido y cianidina 3-rutinósido.

En cuanto al rábano rojo (*Raphanus sativus L.*) también ha sido muy estudiado con respecto a su contenido cuantitativo y cualitativo de antocianinas. En estudios realizados por Ishikura y Hayashi (1962) reportaron 110 miligramos, mientras que Giusti, Rodrigues, Baggett, Durst y Wrolstad. (1998) encontraron 112.5 miligramos y Wu *et al.* (2006) encontraron 100.1 miligramos de antocianinas por 100 gramos de rábano. En todos los estudios se emplearon semejantes condiciones de estudio y se analizó únicamente la piel del rábano, por tanto no existieron diferencias significativas entre sí. Por otra parte, Giusti *et al.* (1998) encontraron como antocianinas principales a los derivados de la pelargonidina 3-soforósido-5-glucósido con ácidos cinámicos unidos a las fracciones de glucosa.

Con respecto a la fresa (*Fragaria vesca L.*), esta es uno de los frutos más comunes en la dieta y también contiene antocianinas. Lopes, Pascual, Rivas y Santos (2002) encontraron un promedio de 40 miligramos, Debnath y Ricard (2009) reportaron 35.1 miligramos y Voca *et al.* (2014) encontraron 43.2 miligramos de antocianinas por 100 gramos de fresas. Voca *et al.* (2014) muestran un contenido de antocianinas promedio en fresas cultivadas en diversas estaciones del año a diferencia de

los otros análisis. Variaciones en el contenido de nutrientes se deben principalmente a los cambios de humedad, temperatura y radiación en las distintas estaciones. A mayor presencia de agua, temperaturas cálidas y buena irradiación solar se sintetizan más antocianinas en las fresas. En otros estudios, Lopes *et al.* (2002) identificaron a las antocianinas cianidina 3-rutinósido, cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-glucósido, pelargonidina 3-rutinósido y pelargonidina 3-acetylglucósido como las mayoritarias en el fruto.

Por otra parte, la fruta del dragón o pitahaya (*Hylocereus undatus L.*) es un recurso sustentable de antocianinas, aunque sea únicamente de su cáscara. Figueroa, Tamayo, González y Vargas (2011) encontraron 323.90 miligramos y Vargas, Tamayo, Sauri, Pech y Herrera (2013) reportaron un contenido promedio de 456.9 miligramos de antocianinas por 100 gramos de cáscara de pitahaya. En este último estudio evaluaron pitahaya cosechada en diferentes estaciones del año, por lo que difiere el contenido con respecto al primer mes en donde la fruta fue del mes de abril. Por otra parte, Vargas *et al.* (2013) identificaron a la pelargonidina 3-5-diglucósido y a la cianidina 3-glucósido como las anocianinas mayoritarias de la pitahaya.

En cuanto al chile, existen diferentes variedades de este que pueden ser fuentes de antocianinas. El fruto de chile de árbol y uvilla (*Capsicum annuum L.*) sintetizan y acumulan antocianinas en el pericarpio. Sadilova, Stintzing y Carle (2006) reportaron un valor de 32.15 miligramos y Arnnok, Ruangviyachai, Mahachai, Techawongstien y Chanthai (2012) obtuvieron 46 miligramos de antocianinas por 100 gramos de chiles. En el primer estudio se analizó el pericarpio del vegetal y en segundo estudio se analizó tanto el pericarpio como el endocarpio, por lo tanto los resultados muestran diferencias. En otros estudios, Aza y Ochoa (2012) encontraron que la delfinidina 3-cumaroilrutinósido-5-glucósido y la delfinidina 3-cumaroilrutinósido-5-glucósido son las antocianinas más importantes en el vegetal.

Por último, los arándanos (*Vaccinium myrtillus L.*) son una fuente potencial de antocianinas naturales antioxidantes. Deineka, Sorokopudov, Deineka, Shaposhnik y Koltsov (2005) reportaron 29 miligramos y Moldovan, David, Chisbora y Cimpoiu (2012) encontraron 35.6 miligramos de antocianinas por 100 gramos de arándanos. Los resultados varían porque los arándanos provienen de diferentes regiones de Europa, por lo tanto su composición puede variar debido a las diferentes condiciones como la humedad, tipo de suelo, clima, etc. Por otra parte, Deineka *et al.* (2005) identificaron a la peonidina 3-glucósido como la antocianina mayoritaria.

3.3. Potenciales beneficios a la salud

El interés en los pigmento antociánicos se ha intensificado recientemente debido no solamente por el color que confieren sino a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. La actividad antioxidante es la capacidad total que tiene una sustancia para disminuir la presencia de los radicales libres (Aguilera *et al.*, 2011).

Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino de uva roja han demostrado que las antocianinas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Ghiselli, Nardini, Baldi y Scaccini, 1998). Wang y Jiao (2000) mencionan que frutos rojos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno y contra los radicales peróxido, superóxido, hidroxilo y oxígeno singulete.

A las antocianinas también se les atribuye actividad anticancerígena. Kamei, Hashimoto y Koide (2008) reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino de uva roja. Así también, Tristan *et al.* (2005) realizaron bioensayos que demuestran que las antocianinas inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis. Por otra parte, Vuorela *et al.* (2005) encontraron efecto supresor de prostaglandina EG2, sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa.

El mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas ha sido reportado por Shukitt-Hale *et al.* (2005) donde han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio pueden mejorar a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas. Ohgami, Illieva y Yoshida (2005) suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, resultando en una reducción de la inflamación y aumento de la agudeza visual. Se han realizado diversos estudios que confirman los efectos benéficos de las antocianinas, sin embargo, a un existen muchos experimentos más por realizar.

3.4. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas presentan baja estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento. Diversos factores como pH, temperatura y luz afectan su estabilidad. Se degradan fácilmente a temperaturas superiores a los 40 °C. El efecto de la temperatura ocurre por dos mecanismos: por la hidrólisis del enlace glucosídico que da lugar a la formación de la aglicona o bien por la ruptura hidrolítica que origina la formación de chalconas. Por lo que a temperaturas superiores a los 40°C se degradan fácilmente (Timberlake, 2009).

Por otra parte, el pH también tiene efecto en la estructura de las antocianinas (Fig. 4), generando cambios en el color. Estas muestran mayor estabilidad en medios ácidos. A pH ácido la forma predominante es la del ión flavilio de color rojo. Si se incrementa el pH la pérdida de un protón genera la forma quinoidal de color azul (Suganya, Saravanakumar y Mohandas, 2012).

Mientras que a pH básico el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua. Generando inicialmente la pseudobase incolora carbinol y posteriormente la chalcona, amarilla (Suganya, Saravanakumar y Mohandas, 2012).

Otro factor la luz; acelera el proceso de degradación de antocianinas. Sin embargo también acelera la biosíntesis de éstas. Las antocianinas que presentan sustituyentes en el hidroxilo del carbono 5' son más susceptibles a la degradación por luz. Sin embargo, la copigmentación retraza la fotodegradación (Laleh, Frydoonfar, Heidary, Jameei y Zare 2006). Para contrarrestar la degradación de antocianinas se deben controlar las condiciones de tratamiento y almacenamiento de estos productos naturales. Además se pueden aplicar tecnologías de estabilización como la encapsulación (por aspersión o congelamiento), que protegen a las antocianinas de estos efectos externos. Sin embargo no se ampliará la información (Parra, 2010).

Conclusiones

Al finalizar con esta revisión se ha corroborado la importancia de las antocianinas. Existen numerosos estudios de los efectos benéficos de estos pigmentos, por lo que se debería fomentar el consumo de estos en la dieta. Destacando primordialmente su actividad antioxidante. Además se pueden obtener de diversos vegetales rojos comunes y es conveniente continuar analizando nuevas fuentes de antocianinas. Las antocianinas continuarán siendo unos de los pigmentos naturales más im-

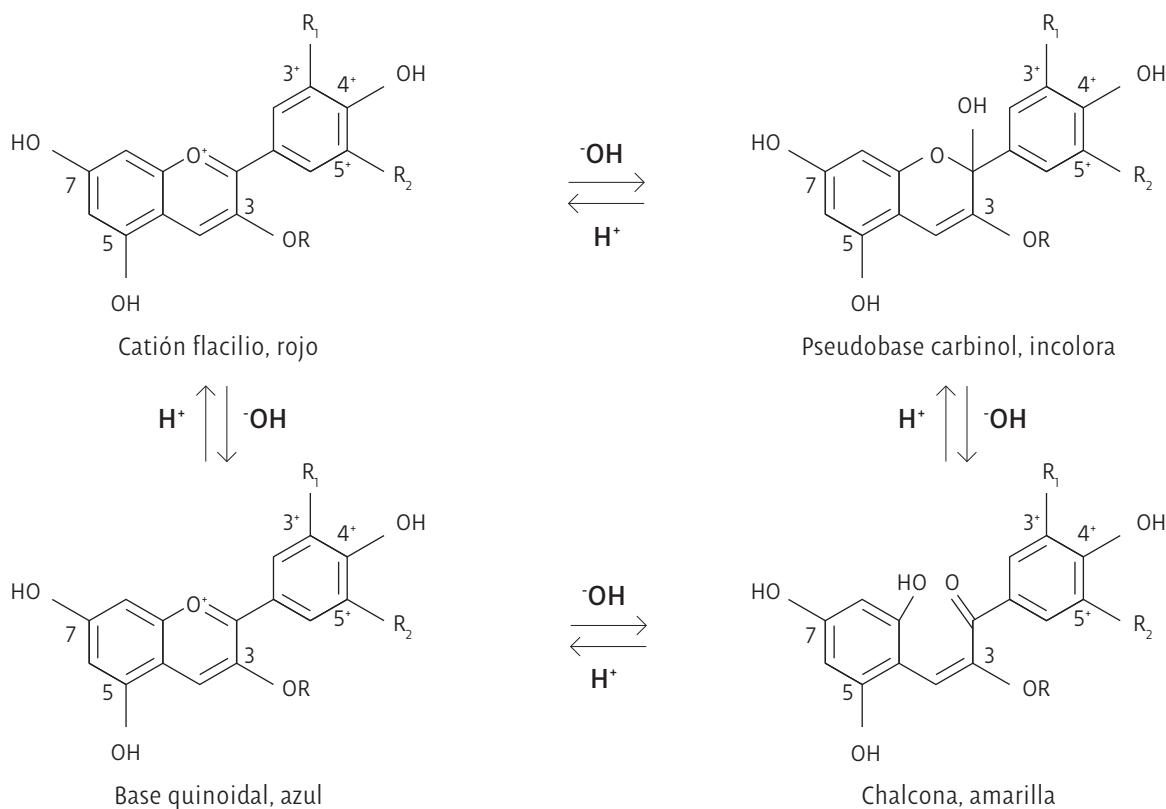


Fig. 4. Efecto del pH en las antocianinas (Suganya et al., 2012)

portantes para el hombre. Resulta importante continuar trabajando en la estabilización de las antocianinas, ya que representa un inconveniente para su aplicación. Protegiéndolas contra los factores adversos como el pH, la temperatura y la luz con tecnologías de protección como la microencapsulación. Se puede promover el consumo de antocianinas en busca de una vida saludable.

Agradecimientos

Castañeda Sánchez agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo en la beca doctoral.

Referencias

Aberoumand, A. (2011). A review article on edible pigments properties and sources as natural biolorants in foods-

tuff and food industry. *World Journal of Dairy and Food Science*, 6(1), 71-78.

Aguilera, M., Reza, M., Chew, R. y Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 13(2), 16-22.

Ancos, B., Ibañez, E., Reglero, G. y Cano, P. (2000). Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 873-879.

Anttonen, J. y Karjalainen, O. (2005). Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *Journal of Food Composition Analysis*, 18(8), 759-769.

Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S. y Chanthai, S. (2012). Determination of total phenolics and anthoyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (*Capsicum annuum L.*). *International Food Research Journal*, 19(1), 235-243.

Ashwini, M., Balaganesh, J., Balamurugan, S., Murugan, S. y Sathishkumar, R. (2013). Antioxidant activity in vivo and in vitro cultures of onion varieties. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 918-923.

- Astrid, G. (2008). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Aza, G. y Ochoa, A. (2012). Characterization of anthocyanins from fruits of two Mexican chili peppers. *Journal of Mexican Chemical Society*, 56(2), 149-151.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Editorial Pearson Educación.
- Cañizares, R., Leal, R., Ramírez, O., Noyola, P. y Márquez, F. (1998). Microbial pigments sources. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 40, 87-107.
- Cartaya, A. y Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.
- Castañeda, A., Pacheco, M., Paez, M., Rodriguez, J. y Galan, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113, 859-871.
- Clifford, M. (2000). Anthocyanins- nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1063-1072.
- Crozier, A., Jaganath, I., y Cliffor, M. (2009). Dietary phenolics, chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural products*, 26, 1001-1043.
- Debnath, S. y Ricard, E. (2009). ISSR, anthocyanin content and antioxidant activity analyses to characterize strawberry genotypes. *Journal of Applied Horticulture*, 11(2), 83-89.
- Deineka, V., Sorokopudov, V., Deineka, L., Shaposhnik, E. y Koltsov, S. (2005). Anthocyanins from fruit of some plants of the Caprifoliaceae family. *Chemistry of Natural Compounds*, 41, 162-164.
- Elhassaneen, Y. y Sanad, M. (2009). Phenolics, selenium, vitamin C, amino acids and pugency levels and antioxidant activities of two Egyptian onion varieties. *American Journal of Food Technology*, 4(6), 241-254.
- Escamilla, C., Cuevas, E. y Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 52(2), 73-75.
- Estevez, L. y Mosquera, R. (2009). Conformational and substitution effects on the electron distribution in a series of anthocyanidins. *Journal of Physical Chemistry*, 113, 9908-9919.
- Ferreres, F., Gil, M. y Tomás-Barberán, A. (1996). Anthocyanins and flavonoids from shredded red onion and changes during storage in perforated films. *Food Research International*, 29(3), 389-395.
- Figueroa, R., Tamayo, J., González, G. y Vargas, L. (2011). Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1), 44-50.
- Gao, L. y Mazza, G. (1995). Characterization, quantification and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 343-346.
- García, C., Zafrilla, P., Artes, F., Romero, F., Abellán, P. y Tomás-Barberán, F. (1998). Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 565-573.
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A. y Scaccini, C. (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 361-367.
- Giusti, M., Rodrigues, L., Baggett, G., Durst, R. y Wrolstad, (1998). Anthocyanin pigment composition of red radish cultivar as potential food colorants. *Journal of Food Science*, 63(2), 219-225.
- Gumrukcu, G., Ustun, M. y Gultenkin, C. (2008). Extraction of anthocyanin pigments from red onion (*Allium cepa L.*) and dyeing woolen fabrics. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 2891-2902.
- Ishikura, N. y Hayashi, K. (1962). Anthocyanins in red roots of a radish. *The Botanical Magazine Tokyo*, 75, 28-36.
- Kamei, H., Hashimoto, Y. y Koide, T. (2008). Antitumor effect of metanol extracts from red and white wines. *Cancer Biotherapy Radiopharmaceuticals*, 13(6), 447-452.
- Kim, D., Heo, H., Kim, Y., Yang, H. y Lee, C. (2005). Sweet and sour cherry phenolics and protective effects on neuronal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9921-9927.
- Laleh, G., Frydoonfar, R., Heidary, R., Jameei, R. y Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *Berberis* species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 90-92.
- Lopes, F., Pascual, S., Rivas, J. y Santos, C. (2002). Identification of anthocyanin pigments in strawberry by LC using DAD and ESI-MS detection. *European Food Research and Technology*, 214, 248-253.
- Martínez, S., González, J., Culebras, J. y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Moldovan, B., David, L., Chisbora, C. y Cimpoiu, C. (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules*, 17, 11655-11666.
- Ohgami, K., Illieva, L. y Yoshida, K. (2005). Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin induced uveitis.

- tis. *Journal of Biotechnology*, 46, 275-281.
- Parra, A. (2010). Food Microencapsulation: A Review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), 56669-684.
- Pérez, T. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 22(1), 48-57.
- Sadilova, E., Stintzing, F. y Carle, R. (2006). Anthocyanins, color and antioxidant properties for egg plant and violet pepper. *Journal of Biosciences*, 61, 527-535.
- Shukitt-Hale, B., Galli, R. L., Meterko, V., Carey, A., Bielinski, D. F y McGhie, T. (2005). Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and stress. *The Journal of American Aging Association*, 27(1), 49-57.
- Šimunić V., Kovač S., Gašo-Sokač D., Pfannhauser W. y Murković M. (2005). Determination of anthocyanins in four Croatian cultivars of sour cherries (*Prunus cerasus*). *European Food Research and Technology*, 220, 575-578.
- Suganya, D., Saravanan, M. y Mohandas, S. (2012). The effects of temperature and pH on stability of anthocyanins from red sorghum bran. *African Journal of Food Science*, 6(24), 567-573.
- Timberlake, F. (2009). Anthocyanins occurrence, extraction and chemistry. *Food Chemistry*, 120, 69-80.
- Tristan, F., Kraft, B., Schmidt, B., Yousef, G., Knigh, C. y Cuendet, M. (2005). Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. *Journal of Food Science*, 70(3), 159-166.
- Varela, P., Salinas, Y. y Ríos, R. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus L.*) con diferente grado de maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 159-163.
- Vargas, D., Jiménez, A. y Paredes, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
- Vargas, M., Tamayo, J., Sauri, E., Pech, L. y Herrera C. (2013). Extraction and stability of anthocyanins present in the skin of the dragon fruit (*Hylocereus undatus L.*). *Food and Nutrition Sciences*, 4, 12221-1228.
- Voća, S., Šic, J., Dobričević, N., Jakobek, L., Šeruga, M., Galić, A. y Pliestić, S. (2014). Variation in the bioactive compound content at three ripening stages of strawberry fruit. *Molecules*, 19, 10370-10385.
- Vuorela, S., Kreander, K., Karonen, M., Nieminen, R., Hamalainen, M. y Galkin, A. (2005). Preclinical evaluation of rapessed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5922-5931.
- Wang, H., Nair, M., Strasburg, G., Chang, Y., Booren, A., Gray, I. y DeWitt, D. (1999). Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62, 294-296.
- Wang, S. Y. y Jiao, H. (2000). Scavering capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5677-5684.
- Wu, X., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. y Prior, R. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 4069-4075.

Métodos para la determinación de la dosis de radiación ultravioleta de onda corta (uvc) en alimentos

O.T. Antonio-Gutiérrez*, A. López-Malo, E. Palou y N. Ramírez-Corona

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

La radiación ultravioleta de onda corta (uvc) ha sido aplicada ampliamente en la desinfección de superficies de diversos materiales y en la desinfección del agua. Investigaciones de los últimos años sugieren que esta tecnología tiene la capacidad de ser aplicada en alimentos sólidos y líquidos para su desinfección, ya que posee un potente efecto esterilizador sobre diferentes microorganismos. Sin embargo, es difícil determinar las condiciones de operación óptimas para cada tipo de alimento debido a la falta de estandarización de los parámetros de proceso, siendo el más importante la dosis de radiación. Existen diferentes técnicas para la determinación de esta dosis y se emplean de manera indiferente, lo que puede ocasionar confusión al momento de analizar los resultados. Es por ello que resulta interesante conocer los métodos más empleados en la determinación de la dosis y de esta manera analizar adecuadamente cada investigación.

Palabras clave: radiación ultravioleta de onda corta, desinfección de alimentos, dosis.

ABSTRACT

The short-wave ultraviolet radiation (uvc) has been applied widely to surface disinfection of various materials and also for the disinfection of water. Researches of the recent years suggest that this technology has the ability to be applied on solids and liquids foods for their disinfection, because it has a strong sterilizing effect on different microorganism. However, it is difficult to establish the optimum operating conditions for each type of food due to the lack of standardization of process parameters, mainly of the radiation dose. There are different techniques for the determination of this dose and they are used indifferently, which can cause confusion when analyzing the results. That is why it is interesting to know the methods most used in determining the dose and thus properly analyze each investigation.

Keywords: short-wave ultraviolet radiation, food disinfection, dose.

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

Introducción

La radiación ultravioleta de onda corta (UVC) es una radiación de alto nivel energético y de una longitud de onda más corta que las radiaciones UVA y UVB. Comprende la mayor parte del rango de radiación ultravioleta y posee un potente efecto esterilizante, siendo a los 254 nm el mayor efecto reportado. La radiación UVC avanza en dirección rectilínea y disminuye en intensidad al alejarse de la fuente de radiación (SterilAir Inc., 2015).

Esta tecnología ha sido aplicada para la desinfección de diferentes alimentos como frutas, verduras y jugos, debido a su efecto germicida sobre los microorganismos, ya que la radiación UVC, dotada de una gran cantidad de energía, causa un efecto fotoquímico en la timina del ADN, provocando la formación de enlaces entre las timinas y obteniéndose dímeros, los cuales inhiben la replicación correcta del ADN (Koutchma, 2014).

Existen diferentes parámetros que influyen en el procesamiento de alimentos con esta tecnología. Por ejemplo, en el procesamiento de alimentos sólidos, la morfología del alimento influye de manera importante en la capacidad de desinfección. En alimentos líquidos, los sólidos suspendidos pueden afectar la manera en que se distribuye la radiación dentro del equipo UVC.

Se sabe que la dosis es uno de los parámetros más importantes a considerar en el diseño de equipos. Es muy importante determinar el valor o identificar qué factores pueden afectar la determinación de la dosis.

En la actualidad, para determinar la dosis en alimentos sólidos se cuenta con métodos bien estandarizados, pero no se cuenta con un método establecido para determinar la dosis a la que se someten los alimentos líquidos en diferentes configuraciones de equipos UVC. Esto ha contribuido a que las aplicaciones de esta tecnología en alimentos líquidos sean limitadas. Recientemente, se han propuesto diferentes técnicas para la determinación de la dosis, pero aún queda camino por recorrer para obtener un método confiable, rápido y de uso común en la industria o investigación. Es por ello que resulta interesante conocer cuáles son los métodos para determinar dosis más empleados en el procesamiento de alimentos tanto para sólidos como para líquidos, con la finalidad de identificar qué factores pueden afectarla y además, de que en futuras investigaciones puedan analizar cada uno de estos métodos y determinar cuál puede ser utilizado o empleado rutinariamente.

Revisión bibliográfica

1. Radiación ultravioleta de onda corta

1.1. Generalidades

La radiación ultravioleta (UV) tiene una longitud de onda más corta que la luz visible, y produce quemaduras u otros efectos adversos en el ser humano. Para generar la radiación UV se emplean lámparas de mercurio de baja o mediana presión. Se puede clasificar en tres tipos de acuerdo a su longitud de onda: UVA, UVB y UVC las cuales abarcan las longitudes de onda de los 100 a los 400 nm (EPA, 2010).

La radiación ultravioleta de onda corta (UVC) es una radiación que se produce entre longitudes de onda de 200 y 280 nm del espectro electromagnético. Se sabe que a una longitud de onda de 254 nm esta radiación posee un efecto esterilizante e inactiva diversos microorganismos. En la Tabla I se observan diferentes microorganismos que han sido inactivados con esta radiación al ser aplicada en alimentos líquidos a diferentes dosis de radiación. Se observa que la dosis necesaria para lograr determinada reducción logarítmica de una población de microorganismos, depende de diversos factores como el tipo de alimento que se procesa o el tipo de microorganismo. Es por este motivo que el diseño de los equipos es muy complejo (Koutchma, 2014).

La UVC causa daños en el ADN de las células expuestas a la radiación, ya que promueve la formación de enlaces entre timinas en cadenas adyacentes del ADN. Estos dímeros de timina inhiben la replicación correcta del ADN durante la reproducción de la célula. El mecanismo fundamental de la desinfección UVC, como un método físico de control microbiano, es la dimerización fotoquímica de las bases timina, de tal manera que si se forman suficientes dímeros, el ADN no se podrá duplicar (Bolton y Cotton, 2011).

1.2. Estado actual de la radiación UVC

Esta tecnología ha tenido gran aplicación en alimentos, y actualmente la FDA ha autorizado su empleo en jugos de frutas, siempre y cuando el equipo UVC logre una reducción de cinco ciclos logarítmicos de la población microbiana (FDA, 2014). Para alimentos sólidos, existe en el mercado gran cantidad de empresas que ofrecen equipos para la desinfección de la superficie del alimento, esto se debe a los diferentes estudios que se han llevado a cabo al analizar el efecto de la radiación sobre diferentes microorganismos y a diferentes condiciones de operación. Además, se ha encontrado que la radiación UVC puede tener diversos efectos sobre los alimentos sólidos, como

Tabla I. Inactivación de diversos microorganismos a diferentes dosis UVC en alimentos líquidos.

Modo de administración	Microorganismo	Dosis UV, mJ/cm ²	Reducción logarítmica
Sidra de manzana	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	9-61	3.8
	<i>Cryptosporidium parvum</i> oocyst	14.32	5
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5.135	1.34
Jugo de naranja	Bacterias mesófilas aerobias	120-320 mg	2
	Levaduras, Mohos		3
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5.135	2.71
Néctar de mango	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5.135	2.71
	Bacterias mesófilas aerobias, Levaduras, Mohos		2.94
Jugo de guayaba	Levaduras	21.5	1.2
Jugo de piña	Mohos	21.5	1

Adaptado de Koutchma (2014).

el incremento de algunas vitaminas, lo que motiva seguir investigando a la radiación uvc aplicada a alimentos (McHugh, 2015; Basaran, 2009; Beaulieu, 2007; Fonseca y Rushing, 2006).

Sin embargo, la aplicación industrial de la uvc para alimentos líquidos es limitada. Actualmente, en EE.UU. se tiene solamente un producto en el mercado tratado con esta tecnología, el cual es un jugo de manzana. Esto se debe principalmente a que en el procesamiento de alimentos líquidos con radiación uvc los parámetros que influyen son muchos, ocasionando que el diseño de los equipos uvc sea complicado. Es por ello que la investigación de esta tecnología aplicada a alimentos líquidos continua, sobre todo para determinar las condiciones de operación óptimas para cada tipo de alimento líquido, lo que ayudará a establecer diseños más efectivos (Koutchma, 2014).

2. Parámetros importantes en el procesamiento de alimentos sólidos con radiación UVC

Una gran variedad de alimentos sólidos han sido tratados con radiación UVC entre los cuales destacan frutas, verduras, quesos y carnes (Basaran, 2009; Beaulieu, 2007; Fonseca y Rushing, 2006; Lyon, Fletcher y Berrang, 2007). Sablani *et al.* (2015), llevaron a cabo un estudio sobre la inactivación de *Penicillium expansum* en la superficie de diferentes frutas (manzana, fresa, cereza y frambuesa), concluyendo que existe una reducción significativa de este microorganismo. Lamikanra, Kueneman, Ukuku y Bett-Garber (2005) evaluaron los efectos de la radia-

ción uvc sobre rebanadas frescas de melón, encontrando que el aroma y la textura se mantenían con el tiempo y que además, existía una reducción significativa de diferentes microorganismos. Los estudios anteriores son útiles para indicar que la radiación uvc puede ser empleada tanto en alimentos sin procesar como en alimentos ya procesados listos para el consumo.

De la mayoría de las investigaciones consultadas, se puede concluir que los parámetros más importantes en el procesamiento de alimentos sólidos con radiación uvc son: la morfología del alimento, la distribución de la radiación, la distancia de la fuente de radiación al alimento y la dosis a la que es sometido. Otros factores como la presión, temperatura y composición del alimento, no tienen un efecto importante en la calidad final del alimento y en el diseño de equipos (Koutchma, 2014). Cada parámetro puede tener un efecto significativo en el producto final. La distribución de la radiación sobre el alimento, está relacionada con el diseño del equipo, y generalmente, el diseño es tal que cada punto del alimento recibe la misma radiación a nivel superficial. En cuanto a la distancia de la fuente de radiación al alimento, en equipos que procesan grandes cantidades de alimentación, no es posible mantener al alimento cerca de la lámpara, lo cual sería lo ideal, y los equipos se diseñan en base al diámetro y longitud del túnel donde circulará el alimento, tomando como base la dosis mínima de radiación para eliminar determinado microorganismo (Reyco Systems, 2015). Sin embargo, la distancia a la cual se encuentra el alimento puede variar, por distintos motivos,

desde una sobrealimentación al equipo o por el tamaño del propio alimento, por lo que es muy importante un diseño que considere estos problemas (uv Technology Inc., 2014).

Si la morfología del alimento es irregular, la radiación uvc no penetrará en espacios ocultos o que se encuentren cubiertos por sustancias extrañas, un buen ejemplo pueden ser las lechugas. Aunque todos los parámetros pueden tener un efecto significativo en el producto, la dosis es la que determina si un alimento fue desinfectado adecuadamente. Diferentes alimentos sólidos sometidos a tratamientos con radiación uvc requieren una dosis mínima necesaria para la inactivación de determinado microorganismo. Sin embargo; si esta dosis suministrada es mucho mayor a la recomendada, se pueden presentar diversos problemas como perdidas de vitaminas, cambios de color o textura (Haro-Maza y Guerrero-Beltrán, 2013).

3. Método para la determinación de la dosis UVC en el procesamiento de alimentos sólidos

Para determinar la dosis suministrada a alimentos sólidos, la mayoría de los autores emplean ecuaciones sencillas y los cálculos necesarios son bastante simples. La siguiente ecuación ha sido utilizada para determinar la dosis suministrada a una gran variedad de alimentos como frutas, verduras y carnes (Lyon et al., 2007).

$$D = I * t \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde: D es la dosis de radiación uvc por unidad de área y se expresa en J/cm^2 , I se refiere a la intensidad de la radiación medida a la misma distancia a la que se localiza el alimento y se expresa en W/cm^2 , mientras que t es el tiempo durante el cual el alimento es expuesto, en segundos.

Esta dosis permite diseñar adecuadamente los equipos, ya que al determinar un área aproximada total a procesar del alimento en cuestión y multiplicarse por la dosis, se puede determinar un número de lámparas necesario para suministrar la energía requerida o la velocidad de procesamiento (Reyco Systems, 2015).

Es importante mencionar que la intensidad de la fuente de radiación debe ser medida a la distancia a la cual los alimentos serán colocados, ya que pueden existir pérdidas de radiación por diversos motivos, como la funda de cuarzo o partículas suspendidas en el aire. En este punto, la medición de la intensidad es la que puede llevarse a cabo con distintos instrumentos, por ejemplo: radiómetros o semiconductores. Los radiómetros son dispositivos que detectan la radiación total que incide en un sensor. Pueden estar acoplados a un detector térmico, que

consiste en una superficie negra donde toda la radiación incidente es convertida a calor; lo cual produce una corriente proporcional a la radiación incidente. También pueden emplear un detector fotónico, que consiste en una photocelda con un catodo sensible a la radiación uv que convierte el flujo de fotones incidente en corriente. Estos tipos de detectores son muy sensibles, pero su sensibilidad varía con la longitud de onda, si la radiación incidente es monocromática, la conversión es muy fácil. Sin embargo, si la fuente emite en un amplio rango, es necesario conocer la distribución espectral de la fuente y la sensibilidad espectral del detector para convertir las lecturas del radiómetro en radiación (Bolton y Cotton, 2011).

Ciertos semiconductores absorben sólo en la región uv, por ejemplo el diamante (190-230 nm), SiC (210-380 nm) y GaN (250-370 nm) que además son insensibles a la luz visible. Estos semiconductores pueden ser incorporados al circuito electrónico y de esta forma servir como sensores de luz en los reactores uv. No obstante, los circuitos basados en sensores uv tienden a decaer con el tiempo, por lo que es necesario calibrarlos periódicamente (Bolton y Cotton, 2011).

4. Parámetros importantes en el procesamiento de alimentos líquidos con radiación uvc

Diversos estudios se han llevado a cabo para la aplicación de la radiación uvc en alimentos líquidos, principalmente para la inactivación de diferentes microorganismos (Rossito et al., 2012; Gang, Chaolin, y Peng, 2011; Koutchma, Parisi y Patazca, 2007). La irradiación de leche por Rossito et al. (2012), logró la reducción de microorganismos coliformes, mesófilos y psicrótrofos en más de cinco ciclos logarítmicos; sin embargo, los autores detectaron un sabor desagradable en la leche, siendo las dosis altas las que posiblemente afectaron el sabor de la leche, lo cual lo relacionaron con una oxidación lipídica promovida por una exposición prolongada a la radiación uvc. En estudios llevados a cabo sobre jugos de uva, piña, manzana, entre otros; se ha encontrado que diversos factores afectan la inactivación microbiana, como sólidos suspendidos, turbidez y transmisión (Koutchma, 2014; Usaga, Worobo, Moraru y Padilla-Zakour, 2015). Adicionalmente, los sólidos insolubles, la viscosidad, densidad y la dosis, son otros factores que también pueden afectar la inactivación (Koutchma, 2014). Mientras que otros factores como la temperatura, pH y °Bx no tienen un efecto significativo en la efectividad de esta tecnología (López-Díaz, López-Malo y Palou, 2013).

Cada uno de estos parámetros puede afectar los resultados principalmente de la inactivación microbiana. Por ejemplo, los efectos de los sólidos insolubles sobre la inactivación de

E.coli fueron estudiados por Usaga *et al.* (2015). De sus resultados los autores concluyen que si existe un efecto negativo en la inactivación de *E. coli* inoculada en jugo de manzana ya que la inactivación fue menor en comparación con un jugo clarificado, lo cual puede evitarse al incrementar la dosis de radiación. Otro estudio llevado a cabo por Antonio-Gutiérrez, López-Malo, Ramírez-Corona y Palou (2014), encontró que la dosis de radiación uvc afecta negativamente en el color de los jugos, al estudiar la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* en jugo de uva. El estudio anterior muestra que la dosis es el parámetro más importante a considerar al procesar alimentos líquidos con radiación uvc. Las altas dosis se recomiendan para una total inactivación; sin embargo, esto puede afectar en las cualidades sensoriales de los alimentos como el color o sabor, por lo tanto encontrar la dosis adecuada para cada alimento es vital.

5. Métodos para la determinación de la dosis UVC en el procesamiento de alimentos líquidos

Existen diferentes métodos para la determinación de la dosis aplicada a alimentos líquidos, siendo el método de biodosimetría el más empleado (Li, Qiang, Wang, Bolton y Lian, 2013). Los diferentes métodos cuentan con principios bien fundamentados y se abordan los más empleados en alimentos líquidos.

5.1. Actinometría

Un actinómetro es un compuesto químico sensible a la radiación uvc, el cual es expuesto a la longitud de onda de interés y los cambios fotoquímicos resultantes son determinados analíticamente. El proceso de actinometría se puede definir como un sistema químico por el cual el número de fotones absorbidos de un haz de luz en un espacio definido de un reactor químico se determina al transcurrir determinado tiempo. Este sistema químico que puede ser líquido, sólido o gas produce una reacción inducida por la radiación de determinada longitud de onda para la cual el rendimiento cuántico es conocido. La medición de la velocidad de reacción permite el cálculo del flujo de fotones absorbidos. El rendimiento cuántico se define como la relación entre el número de eventos (por ejemplo: moléculas formadas o destruidas) y el número de fotones absorbidos de la longitud de onda en estudio (IUPAC, 2005).

En la determinación, una celda que contiene un producto químico, se inserta en el reactor y se expone a la radiación UV. El cambio químico genera otro producto durante el tiempo de exposición. A partir del nuevo producto y de la cantidad producida se puede determinar el total de fotones incidentes en la muestra. Diferentes requisitos son necesarios para que una

sustancia sea estable y pueda ser útil en el sistema, por ejemplo; la fotorreacción debe ser reproducible bajo condiciones experimentales fácilmente controlables, los componentes químicos deben ser térmicamente estables, el actinómetro debe ser fácil de obtener y de preferencia debe ser comercial y además, los métodos analíticos deben ser simples (IUPAC, 2005).

Se observa que este método depende principalmente del actinómetro o sistema fotoquímico, y los más utilizados son ferrioxalato y yoduro/yodato, los cuales son sustancias que al ser expuestas a la radiación experimentan una fotodescomposición. Sin embargo, la temperatura, las propiedades ópticas del líquido y la absorbancia por diferentes sustancias, pueden ocasionar errores en la determinación de la dosis y son precisamente estos problemas los que hacen que este método no sea tan empleado en alimentos líquidos, a pesar de ser un método exacto y reproducible. Un estudio llevado a cabo por Adhikari, Koutchma y Bowden (2005), para evaluar al 4, 4', 4"-tris-di-Bhidroxietil amino trifenil acetonitrilo como actinómetro en el procesamiento de jugo de manzana con uvc, demostró que la absorbancia y turbidez del jugo afectaron en la determinación de la dosis; sin embargo, los autores concluyen que este actinómetro puede ser usado rutinariamente. El actinómetro no se ha probado con otros jugos, por lo que es necesario llevar a cabo más estudios en otros alimentos líquidos y con otras sustancias que puedan ser empleadas como actinómetros.

5.2. Biodosimetría

Este método es el más empleado para determinar la dosis en la desinfección de agua pura, y al igual que el anterior, presenta ventajas y desventajas. La biodosimetría es un método práctico y utiliza microorganismos no patógenos para la determinación de la dosis en un intervalo amplio de condiciones de operación (Li *et al.*, 2013).

En este método, un líquido es inoculado con un microorganismo y bombeado al equipo uvc. La inactivación del microorganismo se analiza con técnicas de recuento comunes de microbiología y se determina al comparar los microorganismos viables en la muestra a la entrada y salida del equipo uvc. En general, este método se divide en dos partes, en la primera parte se determina una curva para relacionar la dosis y las reducciones logarítmicas del microorganismo objetivo en un sistema estático y sirve para determinar un promedio de la dosis. Una vez determinada esta curva se procede a analizar el sistema en estado continuo, y al determinar el número de microorganismos supervivientes se relaciona la dosis promedio para obtener una dosis equivalente de reducción (Koutchma, 2014).

Este método fue empleado por Koutchma y Parisi (2004),

para calcular la dosis suministrada a jugo de manzana en reactores de tubos concéntricos. Encontraron que las propiedades ópticas de los jugos generan variaciones de la dosis, lo cual afecta la desinfección del jugo. Esta es una posible desventaja de este método ya que todos los alimentos líquidos presentan este problema. Otra posible desventaja es que se requiere hacer los análisis para cada condición de operación como velocidad de flujo o microorganismo en cuestión (EPA, 2010).

5.3. Otros

Los métodos descritos anteriormente para la determinación de la dosis en el procesamiento de alimentos líquidos, brindan resultados muy confiables y reproducibles; sin embargo, para su empleo requieren de mucho tiempo y pueden producir subproductos contaminantes. Es por ello, que algunos autores han propuesto otras formas más prácticas de determinar la dosis. Un ejemplo de método rápido para la determinación de la dosis fue desarrollado por Keyser, Müller, Cilliers, Nel y Gouws (2008). Los autores proponen que la dosis puede ser calculada por unidad de volumen del líquido a procesar para expresar la dosis en J/L. En realidad, el cálculo es muy sencillo y solo se toma en cuenta la velocidad de flujo y la potencia de la lámpara, lo que se observa en la siguiente ecuación:

$$D = P/q \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde: P , es la potencia máxima de la lámpara en Watts, y q , el gasto volumétrico de la muestra líquida en L/s. Por lo tanto, la dosis (D) se expresa en J/L.

De acuerdo a los autores, la dosis calculada por este método ofrece un margen de error pequeño y es posible utilizarse siempre y cuando los tiempos de procesamiento sean cortos, es decir, de algunos minutos.

Otro método, el cual es relativamente sencillo, ha sido empleado por Orlowska, Koutchma, Kostrzynska, Tang y Defelic (2014), el cual considera que la penetración de la radiación es limitada, ya que disminuye conforme el grosor de la película de líquido a tratar aumenta. Para utilizar las siguientes ecuaciones es necesario considerar que el líquido dentro del equipo está completamente mezclado y que sus propiedades son constantes a lo largo del sistema, por lo que el coeficiente de absorción o la turbidez no cambian. Las siguientes ecuaciones describen los cálculos necesarios para encontrar la dosis tomando en cuenta las consideraciones anteriores:

$$I = \left(\frac{I_0}{(\alpha^*d)} \right) (1 - \exp(-\alpha^*d)) \quad (\text{Ec. 3})$$

$$E = I * t \quad (\text{Ec. 4})$$

$$t = v/q \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde: I , es la intensidad de la radiación medida en la superficie de la funda de cuarzo; α , es el coeficiente de absorción del líquido; d , es el grosor de la película de líquido a irradiar; I , la intensidad real de procesamiento; E , la dosis tomada en cuenta la intensidad real (I) y el tiempo de residencia (t). El tiempo de residencia se calcula al dividir el volumen del equipo (v) sobre la velocidad de flujo (q). Esta manera de determinar la dosis conlleva menores errores en los cálculos debido a que se asemeja a la situación real del equipo en cuanto a las pérdidas por radiación. Sin embargo, las pérdidas solo se determinan al incluir el coeficiente de absorción del líquido y no incluye las perdidas por otros parámetros como partículas suspendidas.

Conclusión

La radiación ultravioleta de onda corta ya es una tecnología que se emplea a nivel industrial, sobre todo para el procesamiento de alimentos sólidos. En el caso de alimentos líquidos, si bien su aplicación es limitada, ya se conocen los distintos parámetros de procesamiento que deben ser evaluados para diseñar equipos uvc efectivos. La dosis es el factor más importante a considerar en el diseño, y sobre todo es necesario conocer los métodos más empleados para su determinación. Los resultados obtenidos hasta ahora hacen que la radiación uvc sea una tecnología muy prometedora para la industria alimentaria.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo y financiamiento.

Referencias

Adhikari, C., Koutchma, T. y Bowden, T. (2005). Evaluation of HHEVC (4, 4', 4"-tris-di-B-hydroxyethyl aminotripheny-

- lacetonitrile) dye as a chemical actinometer in model buffers for UV treatment of apple juice and cider. *Food Science and Technology*, 38(7), 717-725.
- Antonio-Gutiérrez, O., López-Malo, A., Ramírez-Corona, N. y Palou, E. (2014). Reactor design and its effect on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in grape juice. Cartel. *IFT Annual Meeting*. New Orleans, EE.UU.
- Basaran, P. (2009). Reduction of *Aspergillus parasiticus* on hazelnut surface by UV-C treatment. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(9), 1857-1863.
- Beaulieu, C. (2007). Effect of UV irradiation on cut cantaloupe: terpenoids and esters. *Journal of Food Science*, 72(4), 272-281.
- Bolton, J. y Cotton, C. (2011). *The ultraviolet disinfection handbook*. Colorado: American Water Works Association.
- EPA (Environmental Protection Agency). (6 de mayo del 2010). Radiación Ultravioleta. Obtenido de <http://www.epa.gov/sunwise/es/radiacionuv.html>.
- FDA (Food and Drug Administration). (16 de diciembre del 2014). The Juice HACCP Regulation. Obtenido de <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/Juice/ucm072981.htm>
- Fonseca, M. y Rushing, J. (2006). Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 40(3), 256-261.
- Gang, L., Chaolin, L. y Peng L. (2011). UV inactivation of milk related microorganisms with a novel electrodeless lamp apparatus. *Journal European Food Research and Technology*, 233, 79-87.
- Haro-Maza, J. y Guerrero-Beltrán, J. (2013). Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 68-77.
- IUPAC. (2005). Chemical actinometry. Technical Report. International union of pure and applied chemistry organic and biomolecular chemistry división. *Pure Applied Chemistry*, 76(12), 2105-2146.
- Keyser, M., Müller, A., Cilliers, F., Nel, W. y Gouws, A. (2008). Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 348-354.
- Koutchma, T. (2014). *Preservation and Shelf Life Extension - UV Applications for Fluid Foods*. Londres: Academic Press.
- Koutchma, T., Parisi, B. y Patazca, E. (2007). Validation of UV coiled tube reactor for fresh juices. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 6(3), 319-328.
- Koutchma, T. y Parisi, B. (2004). Biodosimetry of *E. coli* UV inactivation in model juices with regard to dose and RTD distribution in annular UV reactor. *Journal of Food Science*, 69(1), 14-22.
- Lamikanra, O., Kueneman, D., Ukuku, D. y Bett-Garber, K. (2005). Effect of processing under ultraviolet light on the shelf life of fresh-cut cantaloupe melón. *Journal of Food Science*, 70(9), 535-539.
- Li, M., Qiang, Z., Wang, C., Bolton, J. y Lian, J. (2013). Development of monitored tunable biodosimetry for fluence validation in an ultraviolet disinfection reactor. *Separation and Purification Technology*, 117, 12-17.
- López-Díaz, A., López-Malo, A. y Palou, E. (2013). Modeling inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* subjected to various treatments with shortwave ultraviolet irradiation (UVC). Cartel. *IFT Annual Meeting*. Chicago, EE.UU.
- Lyon, S., Fletcher, D. y Berrang, M. (2007). Germicidal ultraviolet light to lower numbers of *Listeria monocytogenes* on broiler breast fillets. *Poultry Science*, 86, 964-967.
- McHugh, T. (2015). UV processing of mushrooms enhances vitamin D content. *Food Technology*, 69(3), 74-76.
- Orlowska, M., Koutchma, T., Kostrzynska, M., Tang, J. y Defelic, C. (2014). Evaluation of mixing flow conditions to inactivate *Escherichia coli* in opaque liquids using pilot-scale Taylor-Couette UV unit. *Journal of Food Engineering*, 120, 100-109.
- Reyco Systems. (07 de abril del 2015). UVC light applied within the Tumbling Drum. Obtenido de <http://www.reycosystems.com/solutions/uv-drum/>
- Rossitto, P., Cullor, S., Crook, J., Parko, J., Sechi, P. y Cenci-Goga, S. (2012). Effects of UV irradiation in a continuous turbulent flow UV reactor on microbiological and sensory characteristics of cow's milk. *Journal of Food Protection*, 75(12), 2197-2207.
- Sablani, S., Syamaladevi, R., Adhikari, A., Lupien, S., Dugan, F., Bhunia, K. y Khingra, A. (2015). Ultraviolet-C light inactivation of *Penicillium expansum* on fruit surfaces. *Food Control*, 50, 297-303.
- SterilAir Inc. (24 de febrero del 2015). Teoría Básica de la Radiación UVC. Obtenido de <http://www.sterilair.com/es/competencia/competencia/basicos-uv.html>
- Usaga, J., Worobo, R., Moraru, C. y Padilla-Zakour, O. (2015). Time after apple pressing and insoluble solids influence the efficiency of the UV treatment of cloudy apple juice. *Food Science and Technology*, 62(1), 218-224.
- UV Technology Inc. (24 de febrero del 2014). Surface disinfection. Obtenido de <http://www.uvtechnology.co/air.html>.

Películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras

A.S. López-Díaz*, A. López-Malo y E. Palou

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

Recientemente, ha surgido el interés de elaborar películas y recubrimientos comestibles para alimentos a partir de nuevos ingredientes que permitan mejorar sus propiedades, así como la calidad sensorial del producto en el que se utilicen. Una opción interesante son los purés de frutas y vegetales, debido a que contienen sustancias pécticas y celulósicas, que ayudarían a la formación de la película. De acuerdo a investigaciones recientes, las películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras tienen el potencial para ser empleadas en alimentos, no solo por sus favorables características sensoriales, sino también para el control de transferencia de masa, mejora de la calidad del producto y aumento de su vida útil. El presente artículo tiene como objetivo proveer información sobre películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras, haciendo énfasis en sus propiedades mecánicas, de barrera y sus aplicaciones en alimentos. Además, se presentará información sobre la adición de agentes antimicrobianos a este tipo de películas.

Palabras clave: películas comestibles, vida útil, alimentos, puré.

ABSTRACT

Recently, the interest for edible films formulated with new ingredients, which allow improving its properties as well as the sensory quality of those products where these are applied, has increased. Interesting options are fruit and vegetable purees, which contains pectic and cellulosic substances, which may help to film formation. According to recent investigations, fruit and vegetable based edible films may be used in foods extend shelf-life. The aim of this article is to provide information about fruit and vegetable based edible films, emphasizing in its mechanical and barrier properties as well as food applications. In addition, it will be presented information about antimicrobial addition to these films.

Keywords: edible films, shelf life, foods, puree.

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

Introducción

Las películas comestibles se han utilizado para mantener la calidad y extender la vida de anaquel de los alimentos debido a que actúan como barreras a la humedad y al oxígeno. Además, permiten incorporar ingredientes activos, tales como antioxidantes o agentes antimicrobianos. Una variedad de materiales comestibles, incluyendo lípidos, polisacáridos, y proteínas, solos o en combinaciones, se han utilizado para elaborar películas comestibles. Sin embargo, ha surgido el interés de elaborar películas comestibles con nuevos ingredientes que permitan mejorar su calidad sensorial y propiedades fisicoquímicas. Una opción interesante es la elaboración de películas comestibles a base de frutas y vegetales, debido a que estos alimentos contienen sustancias pécticas y celulósicas, que ayudan a la formación de la película. En el caso de las frutas, los azúcares presentes actúan como plastificantes, otorgando flexibilidad a la película.

McHugh, Huxsoll y Krochta (1996) desarrollaron las primeras películas comestibles a base de purés de frutas, las cuales presentaron buenas propiedades de barrera contra el vapor de agua y el oxígeno. A partir de entonces, se han realizado diversas investigaciones en las que se elaboran películas a base de frutas y verduras, con la incorporación de otros ingredientes que mejoran la funcionalidad de la película. En algunas investigaciones han incorporado aceites esenciales a las películas de frutas y verduras, logrando aumentar la vida útil del producto recubierto y reducir el riesgo de crecimiento microbiano (Rojas-Graü *et al.*, 2006; Du, Olsen, Avena-Bustillos, McHugh, Levin, Mandrell y Friedman, 2009b). También se han adicionado lípidos a este tipo de películas, a fin de disminuir la transferencia al vapor de agua entre el producto y el ambiente (McHugh y Senesi, 2000). Las propiedades mecánicas (fuerza y elasticidad) de las películas de frutas y verduras también han sido estudiadas ampliamente, debido a que están directamente relacionadas con la calidad del producto final (Rojas-Graü *et al.*, 2006; Du, Olsen, Avena-Bustillos, Friedman y McHugh, 2011).

Las películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras parecen ser una alternativa para la conservación de alimentos, ya que además de las ventajas mencionadas anteriormente, presentan un sabor agradable. El presente artículo tiene como objetivo proveer información sobre películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras, haciendo énfasis en sus propiedades mecánicas, de barrera y sus aplicaciones en alimentos. También se presentará información sobre la incorporación de agentes antimicrobianos a este tipo de películas.

Revisión bibliográfica

1. Generalidades de las películas comestibles

Una película comestible se define como una o varias capas delgadas de un material que puede ser consumido por los humanos y que también actúa como barrera a la transferencia de agua y gases (Krochta, Baldwin y Nisperos-Carriedo, 1994; McHugh *et al.*, 1996). Los componentes principales de las películas comestibles se dividen en tres grupos: proteínas, polisacáridos y lípidos. Las proteínas comúnmente usadas en películas comestibles son gluten de trigo, colágeno, zeína de maíz, soya, caseína y proteínas del suero. Alginato, dextrina, pectina y derivados de celulosa son usados en películas elaboradas a base de polisacáridos. Entre los lípidos más utilizados se encuentran las ceras, acilgliceroles y ácidos grasos (Park, Testin, Park, Vergano y Weller, 1994; Cagri, Ustunol y Ryser, 2004). Algunos otros compuestos como plastificantes y emulsificantes pueden ser adicionados a las películas comestibles para mejorar sus propiedades mecánicas y formar emulsiones estables cuando se combinan lípidos e hidrocoloides (Valencia-Chamorro, Palou, Del Río y Pérez-Gago, 2011).

Las películas comestibles pueden ser utilizadas como recubrimientos en alimentos, presentando múltiples ventajas. Proporcionan una barrera contra la pérdida de humedad en la superficie del producto, lo cual ayuda a mantener su textura, sabor y apariencia. También proporcionan una barrera a los gases, retardando la respiración y el proceso de deterioro, así como la oxidación enzimática. Restringen el intercambio de compuestos volátiles entre el producto fresco y el ambiente que lo rodea, previniendo la pérdida de sabor, olor y la adquisición de sabores extraños. Además, las películas comestibles sirven como aclaradores de otros ingredientes funcionales, tales como agentes antimicrobianos, antioxidantes, colorantes y saborizantes (Rojas-Graü, Tapia, Rodríguez, Carmona y Martín-Belloso, 2007; Falguera, Quintero, Jiménez, Muñoz e Ibarz, 2011; Valencia-Chamorro *et al.*, 2011; Ruelas-Chacón, *et al.*, 2013).

2. Películas comestibles elaboradas con frutas y verduras

En los últimos años, se ha incrementado el interés en la elaboración de películas comestibles a base de frutas y verduras. Los purés de frutas y verduras (como durazno, mango, manzana, pera, tomate, zanahoria, entre otros) han sido usados para formar las películas (McHugh y Olsen, 2004; Sothornvit y Pitak, 2007). Por sí solas, estas películas han mostrado buenas propiedades mecánicas y de barrera, sin embargo, la adición de otros ingredientes (aceites esenciales, lípidos, pectinas) permite au-

mentar la funcionalidad de la película (McHugh y Senesi, 2000; Mancini y McHugh, 2000; Cagri *et al.*, 2004; Pranoto, Salokhe y Rakshit, 2005; Rojas-Graü *et al.*, 2006; Rojas-Graü *et al.*, 2007).

2.1 Formulación de películas a base de frutas y verduras

La formulación de este tipo de películas involucra la formación de una solución que contenga puré de fruta o verdura, agua destilada (opcional), plastificante, cloruro de calcio y otros ingredientes (polisacáridos, lípidos, pectinas, agentes antimicrobianos y/o inhibidores de oscurecimiento). El agua destilada se utiliza para diluir el puré, mientras que el plastificante, generalmente glicerol o sorbitol, sirve para dar flexibilidad a la película. Para la formación de las películas a base de frutas también se pueden agregar polisacáridos. Rojas-Graü *et al.* (2007) formularon películas agregando 26% (p/p) de puré de manzana y 2% (p/p) de alginato de sodio. Sin embargo, también se ha reportado la elaboración de películas comestibles a base de purés de frutas (manzana, pera, durazno y albaricoque) o verduras (zanahoria y tomate) sin la adición de polisacáridos (McHugh *et al.*, 1996; Du *et al.*, 2009b; Ravishankar *et al.*, 2012). El cloruro de calcio es el ingrediente más utilizado para inducir la reticulación de las cadenas de los polisacáridos presentes en la formulación, esto es, la formación de una red tridimensional. También se pueden incorporar pectinas para aumentar la resistencia de las películas (Rojas-Graü *et al.*, 2006; Du *et al.*, 2009a; Du *et al.*, 2012; Ravishankar *et al.*, 2012). Rojas-Graü *et al.* (2006) prepararon películas con 26% (p/p) de puré de manzana y agregaron 3% de pectina de alto metoxilo. De forma similar, Du *et al.*, 2012 utilizaron 30% de puré de tomate y 3% de pectina de alto metoxilo. Adicionalmente, se pueden agregar lípidos para mejorar las propiedades de barrera de las películas. McHugh y Senesi (2000) incluyeron 5% ó 10% de lípidos (aceite vegetal, cera de abeja, ácido palmitico, ácido mirístico, ácido láurico, entre otros) en la elaboración de películas a base de puré de manzana. Estudios recientes mencionan la adición de aceites esenciales a las películas con el fin de generar un efecto antimicrobiano (Cagri *et al.*, 2004; Pranoto *et al.*, 2005; Rojas-Graü *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2009b). También se ha reportado la adición de agentes inhibidores del oscurecimiento enzimático (ácidos ascórbico y cítrico) en las películas comestibles (Rojas-Graü *et al.*, 2006; Du *et al.*, 2009a).

2.2 Métodos de formación de películas

Los métodos de formación de películas reportados por diversos autores son similares, sin embargo, pueden tener variaciones respecto al momento en el que se incorporan los ingredientes

en la solución formadora de película. Los pasos principales en el proceso de formación de películas son los siguientes: preparación de la solución formadora de película, eliminación de burbujas de aire, colocación de la solución en moldes para formar las películas, secado y remoción de la película (McHugh *et al.*, 1996; Rojas-Graü *et al.*, 2006; Rojas-Graü *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2011). Para la elaboración de la solución formadora de película, algunos autores mencionan que primero disuelven el alginato de sodio en agua destilada, calentando la solución a 70°C (temperatura a la cual se disuelve el alginato) para posteriormente incorporar el puré junto con otros ingredientes, tales como aceites esenciales, pectinas, inhibidores de oscurecimiento, cloruro de calcio, plastificante, entre otros (Rojas-Graü *et al.*, 2006). Rojas-Graü *et al.* (2006) disolvieron alginato de sodio en agua destilada para preparar una solución al 2% (p/p), la cual fue mezclada con puré de manzana, pectina y ácido cítrico. Otros autores optan por mezclar todos los ingredientes y después calentar la solución (Du *et al.*, 2011). Posteriormente sigue la homogeneización, que puede ser durante 3 minutos a 12500 rpm (Rojas-Graü *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2009a; Du *et al.*, 2011) o en dos periodos, 1 min a 10,000 rpm y 2 min a 15,000 rpm (McHugh y Senesi, 2000). Después de la homogeneización, generalmente se encuentran burbujas de aire dentro de la solución, por lo cual, se aplica vacío durante 15 minutos para removerlas (Du *et al.*, 2009a; Du *et al.*, 2011). Cabe mencionar que no siempre es necesario aplicar vacío, esto depende de las características de cada solución; generalmente, las soluciones más viscosas presentan mayor cantidad de burbujas de aire. A continuación se realiza la formación de las películas, esta consiste en colocar cierta cantidad de solución en moldes o cajas Petri. Estos moldes se colocan en un secador a 35°C durante 4 - 6 horas, en una estufa a 60°C durante 6 horas o se pueden secar a temperatura ambiente durante 24 horas (Wang, Sun, Liu, Li y Ma, 2011; Otoni *et al.*, 2014). El cloruro de calcio, necesario para inducir la reticulación, puede incorporarse junto con todos los ingredientes en la solución formadora de película o al final del proceso de secado. En este caso, después del secado se rocían las películas con una solución de cloruro de calcio y se secan nuevamente durante 15 minutos (Benavides, Villalobos-Carbaljal y Reyes, 2012). Finalmente, se retiran las películas de los moldes y se procede a realizar los análisis correspondientes (McHugh *et al.*, 1996; Rojas-Graü *et al.*, 2006).

2.3 Propiedades de las películas elaboradas con frutas

La medición de las propiedades mecánicas y de barrera de las películas comestibles es de suma importancia, ya que de esta

forma se puede saber si una película es flexible, resistente al manejo, quebradiza o si permite el paso de oxígeno o de vapor de agua. Esto es útil para hacer comparaciones entre diversas formulaciones de películas comestibles y así seleccionar la más adecuada para cada aplicación. Los valores de las propiedades mecánicas y de barrera de películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras con antimicrobianos se presentan en las Tablas I y II, respectivamente. En los siguientes apartados se explicarán más a detalle los resultados de las diversas investigaciones realizadas.

2.3.1 Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua es una medida de la capacidad de un material para permitir el paso de agua (Cagri, Ustunol y Ryser, 2001). La permeabilidad de una película depende de su estructura química y arreglo tridimensional, naturaleza del permeante, temperatura ambiente y humedad relativa. La transferencia al vapor de agua (TVA) generalmente ocurre a través de la parte hidrofílica de la película y depende de la relación hidrofílica-hidrofóbica de sus componentes (McHugh, Aujard y Krochta, 1994). Una función importante de las películas comestibles es reducir el intercambio de agua entre el producto recubierto y el ambiente, por lo tanto la pérdida de agua debe ser minimizada.

Mc Hugh *et al.* (1996) estudiaron las propiedades de permeabilidad de películas elaboradas con puré de durazno, pera, albaricoque o manzana. Las películas de durazno y albaricoque presentaron menores valores de permeabilidad, mientras que las películas de pera presentaron los valores más altos. Debido a que las películas de durazno fueron las menos permeables, se les adicionó cloruro de calcio y se observó que la TVA aumentó al aumentar la concentración de calcio. De acuerdo a los autores, esto es resultado de un incremento en la fuerza iónica y coeficientes de solubilidad de las películas, lo cual ha sido observado en otras investigaciones (Gontard, Guilbert y Cuq, 1992; McHugh *et al.*, 1994). En esta misma investigación también se estudió la relación entre humedad relativa (HR), temperatura y TVA. Se observó un ligero decremento en los valores de TVA al aumentar la temperatura. En el caso de las películas de durazno, se encontró que la exposición a una HR de 50% aumentó exponencialmente la TVA, debido a la naturaleza hidrofílica de estas películas.

La concentración del plastificante es un factor que influye en la TVA. Wang *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la concentración de glicerol sobre la TVA de películas elaboradas a base de puré de zanahoria. Se observó que el glicerol favoreció la TVA debido a su naturaleza hidrofílica y al incrementar la difu-

sión de agua dentro de la película (Tabla I). Generalmente, la TVA depende de la difusividad y solubilidad de las moléculas de agua en la matriz de la película. La adición de glicerol aumenta el espacio entre las cadenas de polímeros, lo cual promueve la difusividad del vapor de agua a través de la película, por lo tanto acelera la transferencia al vapor de agua.

En otro estudio se elaboraron películas a base de puré de manzana adicionadas con polifenoles en polvo obtenidos de piel de manzana. Como resultados encontraron que la incorporación de 1.5% a 3% (p/p) de polifenoles no afectó significativamente la TVA de las películas. Sin embargo, se observó una disminución en la TVA cuando se agregó de 4.5% a 6% (p/p) de polifenoles. La baja permeabilidad de las películas incorporadas con polifenoles puede deberse a que estos compuestos forman puentes de hidrógeno y enlaces covalentes con grupos polares (por ejemplo, grupos amino e hidroxilo) de los polipéptidos de la superficie, resultando en un complejo polifénol-proteína menos hidrofílico (Du *et al.*, 2011).

Para mejorar las propiedades de barrera de las películas comestibles, se pueden incorporar lípidos (Mc Hugh y Krotcha, 1994). McHugh y Senesi (2000) elaboraron películas con puré de manzana adicionadas con diferentes lípidos. La adición de aceite vegetal a las películas de manzana disminuyó la TVA, y así como aumentaba la concentración de lípido en la película, la TVA disminuía. Sin embargo, el aumento de la concentración de ácido láurico o ácido mirístico no influenció significativamente los valores de permeabilidad. La cera de abeja fue más resistente a la transmisión de humedad que el alcohol estearílico o el ácido esteárico, de hecho, este último fue el menos resistente. Los autores indican que los lípidos con bajos puntos de fusión, tales como aceite vegetal, ácido oléico y alcohol mirístico, presentan mejores propiedades de barrera, probablemente debido a que presentan una estructura no rugosa, por lo tanto no existen canales a través de los cuales el agua pueda migrar fácilmente. Aun así, las películas elaboradas con puré de manzana parecen ser más afectadas por la estructura del lípido que las películas elaboradas a base de proteínas y polisacáridos, según Koelsch (1994) y McHugh y Kotcha (1994). Sin embargo, se necesita mayor investigación para soportar esta hipótesis.

Existen diversas investigaciones que estudian el efecto de la adición de aceites esenciales sobre la permeabilidad al vapor de agua. Du *et al.* (2009b) elaboraron películas a base de puré de tomate y compararon la permeabilidad al vapor de agua de las películas adicionadas con diferentes concentraciones de aceites esenciales. Se observó que la TVA no fue afectada significativamente por la incorporación de aceites esenciales (orégano,

Tabla I. Propiedades mecánicas y de barrera de películas elaboradas a base de frutas y vegetales

Tipo de película	Propiedades mecánicas			Propiedades de barrera		Referencia
	Fuerza Tensil (MPa)	Módulo elástico (MPa)	Elongación (%)	Transferencia al vapor de agua (g mm/m ² kPa h)	Permeabilidad al oxígeno (cm ³ m/m ² kPa h)	
Puré de mango	1.20	8.30	18.50	8.88	1.72	Sothornvit y Rodsamran, 2008
Puré de manzana	0.70	4.40	11.80			McHugh y Olsen, 2004
Puré de durazno	1.80	5.90	23.00			McHugh y Olsen, 2004
Puré de zanahoria	5.30	208.90	7.30			McHugh y Olsen, 2004
Puré de brocoli	7.10	421.50	4.10			McHugh y Olsen, 2004
Puré de manzana				5.84		McHugh et al., 1996
Puré de albaricoque				4.29		McHugh et al., 1996
Puré de durazno				4.18		McHugh et al., 1996
Puré de pera				7.78		McHugh et al., 1996
Puré de manzana - Alginato	2.90	7.10	51.10	4.95	0.43	Rojas-Graü et al., 2007
Puré de manzana - PAM	0.60	5.10	25.40	7.04	0.94	Rojas-Graü et al., 2006
Puré de tomate - PAM	11.40	248.10	11.20	2.44		Du et al., 2009b
Puré de arándano - PAM - Sorbitol	3.10		39.00			Park y Zhao, 2006
Puré de arándano - PAM - Glicerol	1.00		47.70			Park y Zhao, 2006
Puré de arándano - PBM - Sorbitol	4.20		20.10			Park y Zhao, 2006
Puré de arándano - PBM - Glicerol	4.50		16.60			Park y Zhao, 2006
Puré de zanahoria - 2.52% Glicerol	10.39		17.90	8.31	4.95x10 ⁻⁷	Wang et al., 2011
Puré de zanahoria - 5.04% Glicerol	4.34		22.35	17.59	6.51x10 ⁻⁷	Wang et al., 2011

PAM, Pectina de alto metoxilo; PBM, Pectina de bajo metoxilo

ajo o pimienta) en las películas (Tabla II). En otro estudio, los mismos autores encontraron que la adición de aceite esencial de pimienta, canela o clavo tampoco afectó significativamente la TVA de películas elaboradas a base de puré de manzana (Du et al., 2009a). Por el contrario, Rojas-Graü et al. (2006) reportaron una disminución en la TVA en películas de manzana formuladas con pectina y aceite de canela. Ravishankar, Zhu, Olsen, McHugh y Friedman (2009) encontraron una diferencia significativa en la permeabilidad de películas de manzana adicionadas con carvacrol o cinamaldehído. Las películas que contenían cinamaldehído presentaron mejores propiedades de barrera que las películas que contenían carvacrol (Tabla II).

2.3.2 Permeabilidad al oxígeno

El oxígeno es un factor que puede causar oxidación, el cual inicia algunos cambios en los alimentos tales como olor, color, sabor y deterioro de nutrientes. La obtención de películas comestibles con buenas propiedades de barrera al oxígeno puede ayudar a mejorar la calidad de los alimentos y extender su vida útil (Sothornvit y Pitak, 2007). Rojas-Graü et al. (2006) elaboraron películas a base de puré de manzana adicionadas con antimicrobianos. Por sí solas, estas películas presentaron buenas propiedades de barrera contra el oxígeno. Sin embargo, al aumentar la concentración del aceite esencial en las películas, la permeabilidad al oxígeno también aumentó (Tabla II).

Tabla II. Propiedades mecánicas y de barrera de películas elaboradas a base de frutas y vegetales adicionadas con antimicrobianos

Tipo de película	Agente antimicrobiano	Concentración (% p/p)	Propiedades mecánicas		Propiedades de barrera		Referencia	
			Fuerza Tensil (MPa)	Módulo elástico (MPa)	Elongación (%)	Transferencia al vapor de agua (g mm/m ² kPa h)		
Puré de manzana - Alginato	Aceite de orégano	0.10	2.50	5.80	57.00	5.25	11.00	Rojas-Graü et al., 2007
	Carvacrol	0.10	2.60	6.00	58.30	5.02	10.90	
	Aceite de hierba limón	0.50	2.60	6.00	56.00	4.91	9.40	
	Citral	0.50	2.50	6.50	57.40	5.12	9.90	
	Aceite de canela	0.50	2.80	6.90	57.90	4.90	10.50	
	Cinamaldehído	0.50	2.80	6.80	55.50	4.37	11.00	
Puré de manzana - PAM	Aceite de orégano	0.10	0.60	4.70	26.50	6.17	38.10	Rojas-Graü et al., 2006
	Aceite de hierba limón	0.50	0.60	4.50	24.80	6.62	30.30	
	Aceite de canela	0.50	0.60	4.00	22.60	6.82	32.30	
	Aceite de orégano	0.50	8.78	68.70	30.30	2.56		Du et al., 2009b
Puré de tomate - PAM		1.00	7.91	57.60	29.80	2.46		
		1.50	8.04	57.70	29.50	2.63		
		3.00	6.61	44.80	29.40	2.35		
	Aceite de pimienta	0.50	8.59	62.30	31.70	2.60		
		1.00	8.14	61.00	30.00	2.50		
		1.50	8.24	59.40	30.80	2.59		
		3.00	7.13	53.00	30.30	2.42		
	Aceite de ajo	0.50	8.98	68.40	29.50	2.52		
		1.00	9.16	67.80	30.80	2.45		
		1.50	8.97	62.80	32.20	2.45		
		3.00	7.79	54.10	31.60	2.58		
Puré de manzana	Carvacrol	0.50	3.51	4.87	47.94			Ravishankar et al., 2009
		1.50	3.13	4.76	47.47			
		3.00	2.96	4.15	48.86			
	Cinamaldehído	0.50	3.69	5.28	48.88			
		1.50	3.51	5.05	49.10			
		3.00	3.19	4.72	49.88			
Puré de manzana	Aceite de pimienta	0.50	3.63	4.80	52.30	3.80		Du et al., 2009a
		1.50	3.31	4.57	52.60	3.43		
		3.00	2.98	3.78	53.50	3.51		
	Aceite de canela	0.50	3.61	4.95	51.50	3.50		
		1.50	3.36	4.30	52.60	3.62		
		3.00	3.05	4.03	54.00	3.83		
	Aceite de clavo	0.50	3.33	4.61	49.70	3.49		
		1.50	3.19	4.16	50.50	3.83		
		3.00	2.85	3.66	52.70	3.73		

PAM, Pectina de alto metoxilo

McHugh *et al.* (1996) evaluaron la permeabilidad al oxígeno en películas comestibles elaboradas con puré de durazno. Las películas de durazno presentaron buenas propiedades de barrera al oxígeno, especialmente a humedades relativas bajas. La permeabilidad al oxígeno de estas películas fue menor que la permeabilidad de las películas elaboradas con metilcelulosa y otros polisacáridos, lo cual puede deberse a las diferencias en la porosidad. Resultados similares fueron reportados por Sothornvit y Rodsamran (2008). Estos autores elaboraron películas a base de puré de mango y compararon la permeabilidad al oxígeno de estas películas con películas elaboradas con proteínas del suero de leche, polietileno de alta y baja densidad y puré de durazno adicionado con cloruro de calcio. Los resultados indicaron que las películas de mango presentaron los valores más bajos de permeabilidad al oxígeno (Tabla I). Por lo tanto, estas películas pueden ser aplicadas para recubrir productos secos, los cuales son susceptibles a la oxidación. De forma similar, Wang *et al.*, 2011 encontraron que las películas elaboradas a base de puré de zanahoria presentaron buenas propiedades de barrera al oxígeno independientemente de la concentración de glicerol utilizada (Tabla I). Estas películas pueden retardar el proceso de respiración de frutas y verduras, con lo cual se lograría extender su vida útil.

2.3.3. Propiedades tensiles

La fuerza tensil representa el máximo estrés tensil que la película puede sostener. El porcentaje de elongación indica la habilidad de una película para estirarse, es el máximo cambio en longitud antes del rompimiento. El módulo elástico es una medida de la rigidez de la película (Park y Zhao, 2004; Srinivasa, Ramesh y Tharanathan, 2007).

Wang *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la concentración de glicerol sobre las propiedades mecánicas de películas elaboradas a base de puré de zanahoria. Se observó que al aumentar la concentración de glicerol, aumentó la elongación y disminuyó la fuerza de tensión de las películas (Tabla I). Esto se debe a que los plastificantes incrementan la movilidad de las cadenas poliméricas y por lo tanto, disminuyen las fuerzas intermoleculares. Sothornvit y Rodsamran (2008) demostraron que las películas comestibles elaboradas con puré de mango sin la adición de glicerol como plastificante, presentaron valores mayores de módulo elástico, pero baja fuerza tensil y elongación, comparadas con películas elaboradas con almidones de frutas y glicerol. El puré de fruta puede formar películas sin la adición de plastificantes, mientras que el almidón de frutas requiere cierta cantidad de plastificante para formar películas flexibles. Esto puede deberse a la diferencia en composición

de los purés y almidones de frutas. De acuerdo a los autores, los carbohidratos presentes en los purés de frutas, tales como azúcares totales, fructosa y sacarosa, imparten flexibilidad a la película, pero menos fuerza y elongación.

Rojas-Graü *et al.* (2006) estudiaron las propiedades tensiles de películas comestibles elaboradas a base de puré de manzana adicionadas con aceites esenciales de canela, orégano o hierba limón. Las películas adicionadas con aceite de hierba limón y canela tuvieron diferentes efectos sobre la fuerza tensil de las películas. Al incrementar la concentración del aceite de hierba limón desde 0.05% hasta 0.1% (p/p) se observó una reducción en la fuerza tensil. Por el contrario, al adicionar la misma cantidad de aceite de canela, la fuerza tensil incrementó (Tabla II). Los autores comentan que esta diferencia puede deberse a la diferencia en polaridades de los compuestos activos presentes en los aceites esenciales adicionados. Respecto a la elongación, la presencia de aceites esenciales en bajas concentraciones no afectó significativamente este parámetro. Sin embargo, a una concentración mayor a 0.5% (p/p) el aceite de canela disminuyó significativamente la elongación de las películas. Por otra parte, no se observaron diferencias en el módulo elástico entre las películas con o sin orégano o aceite de hierba limón, pero un incremento en el módulo elástico de la película fue observado a una concentración de 0.075% (p/p) de aceite de canela. Ravishankar *et al.* (2009) concluyeron que la adición de carvacrol o cinamaldehído a las películas elaboradas con puré de manzana no afectó significativamente la fuerza tensil, módulo elástico y elongación (Tabla II).

Du *et al.* (2009b) observaron que la incorporación de aceites esenciales de pimienta, orégano y ajo en las películas de tomate causó una significativa reducción en la fuerza tensil. Este efecto fue mayor en películas que contenían aceite esencial de orégano. La adición de aceites esenciales no afectó la elongación de las películas. El módulo elástico solo fue reducido por la adición de aceite de orégano (Tabla II). Otros estudios indican que en general, la adición de aceites esenciales a películas de manzana, resultan en una significativa reducción de la fuerza tensil y módulo elástico y una alta elongación de la película (Rojas-Graü *et al.*, 2006; Du *et al.*, 2009a). La adición de lípidos induce el desarrollo de una estructura heterogénea de la película, con discontinuidades. Esto último puede afectar la capacidad de estiramiento de la película y es dependiente de las características de los lípidos añadidos.

Posteriormente, Du *et al.* (2011) estudiaron las propiedades tensiles de películas de manzana pero adicionadas con polifenoles. De acuerdo a los resultados obtenidos, la fuerza tensil y la elongación de las películas no cambiaron significa-

tivamente al aumentar la concentración de polifenol de 0% a 3%, pero el incremento de 4.5% a 6% causó un incremento en la fuerza tensil, módulo elástico y elongación. El efecto de la incorporación de polifenoles puede ser atribuido a la interacción entre la matriz de la película de manzana y los polifenoles, lo cual cambia la estructura y espesor de las películas. El espesor de las películas de manzana incrementó al aumentar la concentración de polifenoles. Cambios similares en las propiedades tensiles de las películas adicionadas con compuestos polifenólicos fueron observados en otras películas elaboradas a base de purés de frutas y biopolímeros (Orliac, Rouilli, Silvestre y Rigal, 2002; Gómez-Estaca, Gimnez, Montero y Gómez-Guillén, 2009).

Por otra parte, Park y Zhao (2006) elaboraron películas comestibles a base de puré de arándano, las cuales fueron adicionadas con pectina de alto metoxilo (PAM) o pectina de bajo metoxilo (PBM) y glicerol o sorbitol como plastificante. Los resultados obtenidos mostraron que al utilizar una misma concentración de pectina, las películas adicionadas con sorbitol presentaron mayor fuerza tensil que aquellas adicionadas con glicerol. Sin embargo, la elongación no fue afectada por el tipo de plastificante. En general, al combinar PBM (0.75%) y sorbitol, se obtienen películas más quebradizas y menos elásticas, mientras que la combinación de PAM (0.5%) y glicerol, generó películas más elásticas (Tabla I). Ofori-Kwakye y Fell (2001) recomiendan utilizar PAM para la formación de las películas a base de puré de fruta, ya que este tipo de pectina funciona como agente de unión entre moléculas e incrementa la fuerza y cohesividad de las películas.

2.4 Películas comestibles a base de frutas y verduras adicionadas con antimicrobianos

Las películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras, adicionadas con aceites esenciales, han sido efectivas para controlar el crecimiento microbiano. Los datos referentes a la actividad antimicrobiana de películas de frutas y verduras adicionadas con antimicrobianos se presentan en la Tabla III. En un estudio realizado por Du *et al.* (2008), se prepararon películas comestibles con puré de tomate, las cuales contenían 0.75% de carvacrol (ingrediente activo del aceite de orégano). Los análisis realizados por HPLC indicaron que la concentración de carvacrol y actividad bactericida de las películas no cambió durante un periodo de almacenamiento de 98 días a 5 o 25°C. Otros autores elaboraron películas a base de puré de manzana, las cuales contenían aceite esencial de orégano, canela o hierba limón. Los resultados obtenidos indicaron que la actividad antimicrobiana de las películas que contenían aceite

esencial de orégano fue mayor que en las películas adicionadas con aceite esencial de canela o hierba limón (Rojas-Graü *et al.*, 2006). Resultados similares fueron reportados en una investigación posterior realizada por los mismos autores, ellos recubrieron manzanas con películas elaboradas a base de alginato y puré de manzana. De acuerdo a los resultados obtenidos, las películas que contenían 0.5% de aceite esencial de orégano, 1% ó 1.5% de aceite esencial de hierba limón presentaron la mayor actividad antimicrobiana contra *Listeria innocua* (4 ciclos logarítmicos de reducción) (Rojas-Graü *et al.*, 2007).

Du *et al.* (2009a) evaluaron los efectos de aceite esencial de pimienta, canela o clavo incorporados en películas comestibles elaboradas a base de puré de manzana. Los resultados indicaron que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela fue significativamente mayor contra *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* (Tabla III). La incorporación de aceites esenciales en las películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras, proveen nuevas formas de mejorar la seguridad microbiana y vida útil de los alimentos. Además, los aceites esenciales que han sido incorporados en las películas presentan propiedades antioxidantes y buena calidad sensorial (Bakkali, Averbeck, Averbeck e Idamar, 2008; Du *et al.*, 2012). Por lo cual, estas películas comestibles, tienen el potencial para proveer múltiples beneficios a los consumidores.

4. Aplicaciones de las películas de frutas y verduras en alimentos

4.1. Actividad antimicrobiana

Diversas investigaciones han evaluado la efectividad de películas comestibles adicionadas con antimicrobianos sobre algunos alimentos inoculados con diferentes microorganismos patógenos. Estas películas han sido efectivas para inhibir microorganismos a ciertas concentraciones de agentes antimicrobianos, lo cual puede observarse claramente en la Tabla III.

En un estudio realizado por Mild *et al.* (2011) se elaboraron películas de manzana adicionadas con carvacrol y cinnamaldehído (ingrediente activo del aceite de canela) para evaluar su efecto sobre *Campylobacter jejuni* inoculado en pechugas de pollo. Los resultados mostraron que ambos antimicrobianos lograron reducir la población de *C. jejuni*, pero el cinnamaldehído presentó mejor actividad antimicrobiana. Ravishankar *et al.* (2009) también elaboraron películas de manzana adicionadas con carvacrol y cinnamaldehído, pero evaluaron su efectividad contra *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* O157:H7 en pechugas de pollo y *Listeria monocytogenes* en jamón. Los

Tabla III. Actividad antimicrobiana de películas elaboradas a base de frutas y vegetales

Tipo de película	Agente antimicrobiano	*	Alimento/Medio	Microorganismo objetivo	Inóculo inicial	**	Referencia
Puré de manzana	Aceite de pimienta	0.50	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>	10^5 UFC/mL	-	Du <i>et al.</i> , 2009a
	Aceite de canela	0.50	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>		-	
	Aceite de clavo	0.50	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>		-	
	Aceite de pimienta	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>	10^5 UFC/mL	+	
	Aceite de canela	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>		+	
	Aceite de clavo	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>		+	
Puré de manzana - PAM	Aceite de orégano	0.10	Agar Mac Conkey con sorbitol	<i>E. coli</i> O157:H7	10^5 UFC/mL	+	Rojas-Graüet <i>et al.</i> , 2006
	Aceite de canela	0.50	Agar Mac Conkey con sorbitol	<i>E. coli</i> O157:H7		+	
	Aceite de hierba limón	0.50	Agar Mac Conkey con sorbitol	<i>E. coli</i> O157:H7		+	
Puré de tomate	Aceite de orégano	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>	10^5 UFC/mL	+	Du <i>et al.</i> , 2009b
	Aceite de pimienta	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. enterica</i> y <i>L. monocytogenes</i>		+	
	Aceite de ajo	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>E. coli</i> O157:H7 y <i>S. enterica</i>		-	
	Aceite de ajo	3.00	Agar soya tripticaseína	<i>L. monocytogenes</i>		+	
Puré de zanahoria	Carvacrol	3.00	Jamón	<i>L. monocytogenes</i>	10^6 UFC/mL	+	Ravishankar <i>et al.</i> , 2012
	Cinamaldehído	3.00	Jamón	<i>L. monocytogenes</i>		+	
	Carvacrol	3.00	Boloña			+	
	Cinamaldehído	3.00	Boloña			+	
	Carvacrol	3.00	Jamón			+	
	Cinamaldehído	3.00	Jamón			+	
Puré de manzana	Carvacrol	3.00	Pechuga de pollo	<i>E. coli</i> O157:H7 y <i>S. enterica</i>	10^6 UFC/mL	+	Ravishankar <i>et al.</i> , 2009
	Cinamaldehído	3.00	Pechuga de pollo			+	
	Carvacrol	3.00	Jamón	<i>L. monocytogenes</i>		+	
	Cinamaldehído	3.00	Jamón			+	
	Carvacrol	3.00	Pechuga de pollo	<i>Campylobacter jejuni</i> A24a, D28a, H2a	10^7 UFC/mL	+	Mild <i>et al.</i> , 2011
	Cinamaldehído	3.00	Pechuga de pollo	<i>Campylobacter jejuni</i> A24a, D28a		+	
Puré de manzana	Carvacrol	3.00	Pechuga de pollo	<i>Campylobacter jejuni</i> H2a		+	

PAM, Pectina de alto metoxilo

* Concentración (% p/p)

**Actividad antimicrobiana: + inhibición; - no inhibición

resultados de este estudio mostraron que el carvacrol presentó mayor actividad antimicrobiana contra todos los microorganismos. En otro estudio se elaboraron películas comestibles a base de puré de manzana y zanahoria, las cuales fueron adicionadas con carvacrol o cinamaldehído. Los resultados obtenidos muestran que las películas que contenían carvacrol presentaron mayor actividad antimicrobiana que las películas con cinamaldehído. Además, las películas elaboradas con puré de manzana y zanahoria, que contenían 3% de carvacrol lograron 3 reducciones logarítmicas de *L. monocytogenes* en jamón (Tabla III) (Ravishankar *et al.*, 2012).

Posteriormente, Ravishankar *et al.* (2012) investigaron el efecto de la incorporación de antimicrobianos en películas comestibles elaboradas con puré de zanahoria o manzana para recubrir jamón y boloña contaminados con *L. monocytogenes*. Los resultados mostraron que las películas adicionadas con carvacrol presentaron mejor actividad antimicrobiana contra *L. monocytogenes* que aquellas que contenían cinamaldehído. También observaron que la inactivación con películas de manzana fue mayor que con las películas de zanahoria. En otros estudios emplearon las películas de puré de manzana para recubrir pechugas de pollo y jamón. Las películas también fueron adicionadas con cinamaldehído o carvacrol para evaluar el efecto sobre microrganismos patógenos como *S. enterica*, *C. jejuni*, *E. coli* y *L. monocytogenes*. Los resultados mostraron que estos antimicrobianos fueron efectivos para inhibir estos microorganismos (Tabla III) (Ravishankar *et al.*, 2009; Mild *et al.*, 2011).

4.2. Vida útil

Las películas comestibles elaboradas con frutas y verduras se han aplicado a diversos alimentos con el fin de extender su vida útil y mejorar su calidad. En un estudio realizado por Du *et al.* (2012) se elaboraron películas comestibles a base de puré de manzana y tomate adicionadas con carvacrol o cinamaldehído para recubrir pollo horneado. Los resultados de la evaluación sensorial indicaron que no se encontró diferencia significativa entre el pollo recubierto con películas de tomate o manzana adicionadas con 0.5% de carvacrol o cinamaldehído y el pollo recubierto con películas comestibles sin antimicrobianos. Sin embargo, se presentó una preferencia hacia el pollo recubierto con películas de tomate y con carvacrol. Por lo tanto, las películas que contienen compuestos antimicrobianos derivados de aceites esenciales pueden ser empleados para proteger piezas de pollo contra contaminación bacteriológica y aumentar su vida útil sin afectar las preferencias de los consumidores.

Rojas-Graü *et al.* (2007) estudiaron el efecto de la incorporación de aceite de hierba limón, orégano o vainillina en

películas comestibles a base de alginato y puré de manzana sobre la vida útil de manzanas. La aplicación de las películas comestibles en las manzanas disminuyó el intercambio de O₂ y CO₂ entre la fruta recubierta y el medio ambiente, disminuyendo su metabolismo al disminuir la concentración interna de O₂ y aumentar la concentración de CO₂. Por otra parte, la producción de etileno en las manzanas recubiertas permaneció por debajo de 50 µL/L, mientras que la producción de este gas incrementó continuamente en las manzanas sin recubrir y en aquellas recubiertas pero sin aceite esencial. Adicionalmente, la incorporación de cloruro de calcio y N-acetilcisteína ayudaron a mantener la firmeza y color de las manzanas.

Sothornvit y Rodsamran (2008) evaluaron el efecto de la aplicación de una película comestible a base de mango para recubrir mangos enteros y cortados. Las películas de mango presentaron buenas propiedades de barrera al oxígeno y propiedades mecánicas que permitieron recubrir y adherirse al mango entero y mínimamente procesado. La aplicación de la película disminuyó la pérdida de peso y extendió el periodo de maduración del mango entero, lo cual se pudo observar mediante análisis de textura. Los resultados de la evaluación sensorial indicaron que la vida útil de los mangos mínimamente procesados mantenidos en bolsas de celofán a 30°C y en refrigeración a 5°C fue de 2 y 4 días, respectivamente; mientras que la vida útil de los mangos mínimamente procesados recubiertos con películas comestibles fue de 5 y 6 días bajo las mismas condiciones de almacenamiento.

McHugh y Senesi (2000) desarrollaron un método para extender la vida útil y mejorar la calidad de productos recién cortados. Elaboraron películas comestibles con puré de manzana y varias concentraciones de ácidos grasos, alcoholes grasos, cera de abeja y aceite vegetal. Las piezas de manzanas se recubrieron con una solución formadora de película o se enrollaron en películas formadas previamente. La aplicación de películas comestibles disminuyó la pérdida de humedad y el oscurecimiento de las manzanas. El color se mantuvo constante durante 12 días a 5°C. Sin embargo, se obtuvieron mejores resultados al enrollar los trozos de manzana con las películas preformadas. Este método podría ser aplicado a otros alimentos con el fin de aumentar la efectividad de las películas.

Conclusión

Las películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras pueden ser empleadas como un método de conservación de

alimentos, debido a sus favorables características sensoriales. Estas películas comestibles son compatibles con antimicrobianos naturales, los cuales tienen la capacidad de inhibir el crecimiento microbiano. Además, en su formulación se pueden incluir otros aditivos que mejoran sus propiedades mecánicas y de barrera. Los estudios mencionados en este artículo proveen información científica para la potencial aplicación comercial de películas comestibles a base de frutas y verduras con el fin de mejorar la calidad y seguridad alimentaria.

Agradecimientos

A la Universidad de las Américas Puebla y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por la beca otorgada a la autora A. S. López-Díaz para los estudios de doctorado.

Referencias

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. e Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R. y Reyes, J. E. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 232-239.
- Cagri, A., Ustunol, Z. y Ryser, E. (2001). Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acids. *Journal of Food Science*, 66(6), 865-870.
- Cagri, A., Ustunol, Z. y Ryser, E. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67(4), 833-848.
- Du, W., Avena-Bustillos, R., Woods, R., Breksa, A., McHugh, T., Friedman, M., Levin, C. y Mandrell, R. (2012). Sensory evaluation of baked chicken wrapped with antimicrobial apple and tomato edible films formulated with cinamaldehyde and carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 7799-7804.
- Du, W., Olsen, C., Avena-Bustillos, R., Friedman, M. y McHugh, T. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76(2), M149-M155.
- Du, W., Olsen, C., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., Levin, C. y Friedman, M. (2008). Antibacterial activity against *E. coli* O157:H7, physical properties, and storage stability of novel carvacrol-containing edible tomato films. *Journal of Food Science*, 73(7), M378-M383.
- Du, W., Olsen, C., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., Levin, C. y Friedman, M. (2009a). Effects of allspice, cinnamon and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *Journal of Food Science*, 74(7), M372-M378.
- Du, W., Olsen, C., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., Levin, C., Mandrell, R. y Friedman, M. (2009b). Antibacterial effects of allspice, garlic and oregano essential oils in tomato films determined by overlay and vapor-phase methods. *Journal of Food Science*, 74(7), M390-M397.
- Falguera V., Quintero, P., Jiménez A., Muñoz J. e Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: structures, active function and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 292-303.
- Gómez-Estaca, J., Gimnez, B., Montero, P. y Gómez-Guillén, M. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92, 78-85.
- Gontard, N., Guilbert, S. y Cuq, J. (1992). Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 57: 190-195.
- Koelsch, C. (1994). Edible water vapor barriers: properties and promise. *Trends in Food Science y Technology*, 5(3), 76-81.
- Krochta, J. M., Baldwin, E. A. y Nisperos-Carriedo, M. (1994). *Edible coatings and films to improve food quality*. Basilea: Lancaster.
- Mancini, F. y McHugh, T. H. (2000). Fruit alginate interactions in novel restructured products. *Food/Nahrung*, 44(3), 152-157.
- McHugh, T. H., Aujard, J. y Krochta, J. (1994). Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. *Journal of Food Science*, 59(2), 416-419.
- McHugh, T. H., Huxsoll, C. C. y Krochta, J. M. (1996). Permeabilities properties of fruit puree edible films. *Journal of Food Science*, 61 (1), 88-91.
- McHugh, T. H. y Krochta, J. M. (1994). Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 841-845.
- McHugh, T. H. y Olsen, C. W. (2004). Tensile properties of fruit

- and vegetable edible films. U.S.-Jpn. Cooper. Program Nat. Res., 104-108.
- McHugh, T. H. y Senesi, E. (2000). Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3), 480-485.
- Mild, R., Joens, L., Friedman, M., Olsen, C., McHugh, T., Law, B. y Ravishankar, S. (2011). Antimicrobial edible apple films inactivate antibiotic resistant and susceptible *Campylobacter jejuni* strains on chicken breast. *Journal of Food Science*, 76(3), M163-M168.
- Ofori-Kwakye, K. y Fell, J. T. (2001). Biphasic drug release: the permeability of films containing pectin, chitosan and HPMC. *International journal of pharmaceutics*, 226(1), 139-145.
- Orliac, O., Rouilly, A., Silvestre, F. y Rigal, L. (2002). Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. *Polymer Journal*, 43, 5417-5425.
- Otoni, C. G., De Moura, M. R., Aouada, F. A., Camilloto, G. P., Cruz, R. S., Lorevice, M. V. y Mattoso, L. H. (2014). Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, 41, 188-194.
- Park, J., Testin, R., Park, H., Vergano, P. y Weller, C. (1994). Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation and water vapor permeability of laminated edible films. *Journal of Food Science*, 59, 916-919.
- Park, S. y Zhao, Y. (2004). Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1933-1939.
- Park, S. y Zhao, Y. (2006). Development and characterization of edible films from cranberry pomace extracts. *Journal of Food Science*, 71(2), E95-E101.
- Pranoto, Y., Salokhe, V. y Rakshit, K. S. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research International*, 38, 267-272.
- Ravishankar, S., Jaroni, D., Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T. y Friedman, M. (2012). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectin-based apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde. *Journal of Food Science*, 77(7), M377-M382.
- Ravishankar, S., Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T. y Friedman, M. (2009). Edible apple film wraps containing plant antimicrobials inactivate foodborne pathogens on meat and poultry products. *Journal of Food Science*, 74(8), M440-M445.
- Rojas-Graü, M., Avena-Bustillos, R., Friedman, M., Henika, P., Martín-Belloso, O. y McHugh T. (2006). Mechanical, barrier and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9262-9267.
- Rojas-Graü, M., Tapia, M., Rodríguez, F., Carmona, A. y Martín-Belloso, O. (2007). Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21, 118-127.
- Ruelas-Chacón, X., Reyes-Vega, M., Valdivia-Urdiales, B., Contreras-Esquível, J., Montañez-Saenz, J., Aguilera-Carbó, A., y Peralta-Rodríguez, R. (2013). Conservación de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas con recubrimientos comestibles. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(9), 31-37.
- Sothornvit, R. y Pitak, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International*, 40(3), 365-370.
- Sothornvit, R. y Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 407-415.
- Srinivasa, P., Ramesh, M. y Tharanathan, R. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1113-1122.
- Valencia-Chamorro, S., Palou, L., Del Río, M. y Pérez-Gago, M. (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 872-900.
- Wang, X., Sun, X., Liu, H., Li, M. y Ma, Z. (2011). Barrier and mechanical properties of carrot puree films. *Food and Bioproducts Processing*, 89(2), 149-156.

Artículos de Revisión

Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos

L.R. Castro-López*, A.E. Ortega-Regules y J.D. Lozada-Ramírez

Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones

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

Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas

A. Castañeda-Sánchez* y J.A. Guerrero-Beltrán

Métodos para la determinación de la dosis de radiación ultravioleta de onda corta (uvc) en alimentos

O.T. Antonio-Gutiérrez*, A. López-Malo, E. Palou y N. Ramírez-Corona

Películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras

A.S. López-Díaz*, A. López-Malo y E. Palou

UDLAP[®]

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