Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Agroindustria Alimentaria

Ingeniería en Agroindustria Alimentaria

Proyecto Especial de Graduación

Determinación de capacidad antioxidante de emulsiones tipo Pickering de aceite esencial de cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.)

Estudiantes

Eddy Eliú Toj Solval

Pablo Luis Enrique Hun Ax

Asesores

Luis Fernando Maldonado, Ph.D.

Jorge Cardona, Ph.D

Honduras, agosto 2024

Autoridades

SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA ACOSTA MARCHETTI

Directora de departamento de Agroindustria Alimentaria

JULIO NAVARRO

Secretario General

Contenido

Introducción 10

Materiales y Métodos 12

Ubicación 12

Origen de la Muestra 12

Materiales 12

Preparación de la Muestra 13

Extracción del Aceite Esencial de Cardamomo 13

Realización de la Emulsión Pickering 14

Capacidad Captadora de Radicales 15

Actividad Antioxidante 16

Actividad de Agua (a_w) 16

Solubilidad 16

Tamaño de Partícula 17

Estabilidad en el Tiempo 17

Diseño Experimental y Tratamientos 18

Resultados y Discusión 19

Análisis Físico-químicos 19

Extracción de Aceite Esencial 19

Actividad de Agua (a_w) 20

Solubilidad 21

Tamaño de Partícula 22

Estabilidad en el Tiempo 24

Actividad Antioxidante 26

Capacidad Captadora de Radicales 27

Conclusiones 30

Recomendaciones 31

Referencias 32

Anexos 37

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Formulación de los tratamientos de emulsiones tipo Pickering. 15

Cuadro 2 Extracción de aceite esencial de cardamomo 19

Cuadro 3 Actividad de agua y porcentaje de solubilidad de emulsiones tipo Pickering con diferentes formulaciones. 22

Cuadro 4 Tamaño de partícula de emulsiones tipo Pickering. 23

Cuadro 5 Actividad antioxidante y capacidad captadora de radicales de emulsiones tipo Pickering. 29

Índice de Figuras

Figura 1 Estabilidad en el tiempo de emulsiones tipo Pickering con Tween 20® en la formulación (T1, T2 y T3)..... 25

Figura 2 Estabilidad en el tiempo de emulsiones tipo Pickering con Span 20® en la formulación (T4, T5 y T6)..... 25

Índice de Anexos

Anexo A Resultados de extracción de aceite esencial 37

Anexo B Resultados de tamaño de partícula T1R3, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 38

Anexo C Resultados de tamaño de partícula T2R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 39

Anexo D Resultados de tamaño de partícula T3R3, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 40

Anexo E Resultados de tamaño de partícula T4R2, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 41

Anexo F Resultados de tamaño de partícula T5R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 42

Anexo G Resultados de tamaño de partícula T6R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11 43

Resumen

Las emulsiones tipo Pickering son un método de encapsulación que ha adquirido importancia en los últimos años, ya que, permite aislar compuestos bioactivos de manera eficaz. En este estudio se determinó la capacidad antioxidante de emulsiones tipo Pickering de aceite esencial de cardamomo, realizadas con diferentes formulaciones, utilizando tres porcentajes de solución goma/agua y dos tipos de emulsificantes (Tween 20® y Span 20®). Además, se establecieron las características fisicoquímicas de las emulsiones, como actividad de agua, solubilidad, tamaño de partícula y estabilidad en el tiempo. Se utilizó un DCA con separación de medias Duncan y nivel de significancia del 95% ($P<0.05$). La actividad antioxidante del radical DPPH se determinó mediante un espectrofotómetro, en donde el T3 (GX: T20:AE) (70:10:20) presentó la mayor capacidad captadora de radicales (16.85%) y actividad antioxidante (9.88 mM EAG g^{-1}), esto asociado a una cantidad de 20% de aceite esencial de la formulación de la emulsión. La menor actividad de agua (0.77) y mayor solubilidad (99.82%) la presentó T1 (GX: T20:AE) (70:10:20). El tamaño de partícula fue en un rango de 12.70 a 21.22 µm, siendo T1 el de menor tamaño de partícula. Las emulsiones con Tween 20® presentaron alta estabilidad en el tiempo, en comparación a las emulsiones con Span 20®. Las emulsiones presentaron mayor actividad antioxidante en comparación al aceite sin emulsión, lo que indica que las emulsiones son efectivas para conservar esta característica. Se recomienda utilizar aceite esencial de grado comercial y estandarizado para futuras investigaciones.

Palabras clave: emulsificantes, DPPH, radical libre, tamaño de partícula.

Abstract

Pickering emulsions are a method of encapsulation that has gained importance in recent years, since it allows the effective isolation of bioactive compounds. In this study, the antioxidant capacity of cardamom essential oil Pickering emulsions made with different formulations was determined, using three percentages of gum/water solution and two types of emulsifiers (Tween 20® and Span 20®). In addition, the physicochemical characteristics of the emulsions were established, such as water activity, solubility, particle size and stability over time. A CRD with Duncan mean separation and significance level of 95% ($P<0.05$) was used. The antioxidant activity of the DPPH radical was determined by spectrophotometer, where T3 (GX: T20:AE) (70:10:20) presented the highest radical scavenging capacity (16.85%) and antioxidant activity (9.88 mM EAG g^{-1}). The lowest water activity (0.77) and highest solubility (99.82%) was presented by T1 (GX: T20:AE) (70:10:20). The particle size ranged from 12.70 to 21.22 µm, with T1 having the smallest particle size. The emulsions with the emulsifier Tween 20® showed high stability over time, compared to the emulsions with Span 20®. The emulsions presented higher antioxidant activity compared to the oil without emulsion, indicating that the emulsions are effective in preserving this characteristic. The use of commercial grade and standardized essential oil is recommended for future research.

Key words: DPPH, emulsifiers, free radical, particle size.

Introducción

Los radicales libres y el estrés oxidativo están involucrados en la etiopatogenia de diversas enfermedades. La recomendación de un estilo de vida sano con ejercicio regular y una dieta basada en productos ricos en antioxidantes parece eficaz para prolongar la supervivencia y reducir ciertas enfermedades (Rodríguez Graña et al., 2015). Los aceites esenciales y sus componentes químicos tienen efectos beneficiosos para la salud de las personas, especialmente, los últimos años se ha producido evidencia de su potencial antioxidante y antimicrobiano. (Jiménez et al., 2022).

El cardamomo *(Elettaria cardamomum* L.) pertenece al igual que el jengibre a la familia de las Zingiberáceas. Es el fruto de una planta herbácea perenne, que puede alcanzar los cuatro metros de altura; originaria de la India y llevada después a Europa y posteriormente a América (Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación [MAGA], 2014). Según lo establecido por Masoumi-Ardakani et al. (2016), se han relacionado con esta planta diversas propiedades farmacológicas, como efectos antiinflamatorios, analgésicos, antioxidantes y antimicrobianos. Los aceites esenciales son productos en los que se hallan concentrados sabores y aromas característicos, constituidos por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos no volátiles (Montti et al., 2013). Los compuestos volátiles responsables del aroma y el sabor del cardamomo forman parte de una mezcla de aceites volátiles, como el acetato de α-terpenilo, 1,8-cineol, α-tepinilo, limoneno, sabineno y pineno, entre otros (Villada Ramírez et al., 2017). Actualmente, la tendencia ha sido aislar estos compuestos bioactivos y adicionarlos a los alimentos industrializados, lo que aumenta su costo y por lo tanto limita su consumo (Silva et al., 2016).

La encapsulación es la aplicación de técnicas que permiten la protección de fitoquímicos mediante su incorporación en una matriz protectora, preservando las propiedades funcionales de estas sustancias (Nájera Mejía y Castillo Martínez, 2022). La encapsulación en emulsión se considera una de las técnicas más prometedoras para la protección y administración de polifenoles, debido a su alta eficacia de encapsulación, mantenimiento de la estabilidad química y liberación controlada (Lu et

al., 2016). Las emulsiones tipo Pickering son un método de encapsulación que ha adquirido importancia en los últimos años, ya que, permite aislar compuestos bioactivos de manera eficaz. La estabilización de las gotas en una emulsión se logra generalmente por la adición de surfactantes o emulsificantes, los cuales actúan por disminución de la tensión interfacial, por impedimento estérico y/o mediante repulsión electrostática entre las gotas (Rasia et al., 2019).

Las emulsiones tipo Pickering se estabilizan mediante partículas sólidas coloidales (Berton-Carabin y Schroën, 2015). Según lo establecido por Lozano et al. (2018) comparados con las emulsiones convencionales, en las que solo se utilizan surfactantes como estabilizadores, las emulsiones Pickering poseen muchas ventajas sobre estabilidad, así como en coalescencia. Las partículas sólidas empleadas, como sílice coloidal, nanopartículas de polisacáridos o proteínas, pueden interactuar con la fase acuosa u oleosa, lo que permite un fuerte anclaje de estas partículas en la interfase aceite-agua (Santafosta Cerdá, 2018).

El objetivo de la investigación fue determinar la capacidad antioxidante de emulsiones tipo Pickering elaboradas con aceite de cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.), utilizando tres proporciones de solución Goma/agua y dos tipos de emulsificantes, para lo cual se establecieron los siguientes objetivos específicos:

Evaluar el efecto de diferentes emulsificantes y proporciones de goma/agua en la elaboración de emulsiones tipo Pickering a base de aceite esencial de cardamomo.

Evaluar la capacidad antioxidante de emulsiones tipo Pickering formuladas con aceite esencial de cardamomo, con el fin de analizar su funcionalidad.

Establecer características físico químicas de emulsiones tipo Pickering de aceite esencial de cardamomo.

Materiales y Métodos

Ubicación

El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, localizada en el Km 30, carretera de Tegucigalpa a Danlí, Valle del Yeguare, municipio de San Antonio de Oriente, departamento Francisco Morazán, Honduras. La extracción del aceite esencial, la preparación de las emulsiones tipo Pickering de aceite esencial de cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.) y la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas se realizó dentro del Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), en el Departamento de Agroindustria Alimentaria.

Origen de la Muestra

La muestra de cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.) se obtuvo del Beneficio de Granos "Don Tulio" con coordenadas latitud 14° 34' 51.7'' N y longitud 91°27' 11.0'' W GTM en el municipio de Samayac, departamento de Suchitepéquez, Guatemala. Esta muestra fue transportada en un envase de plástico hermético desde el lugar de origen hasta su posterior manejo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ). Para el estudio se utilizó el aceite esencial extraído del grano en oro.

Materiales

La materia prima que se utilizó para la realización de la emulsión tipo Pickering fue semilla de cardamomo en oro. Además, se utilizaron los siguientes insumos: Tween 20® (Sigma-Aldrich, EE.UU.), Span 20® (Sigma-Aldrich, EE.UU.), Goma Xanthan (Bob's Red Mill, EE.UU.), y equipos como el rotovaporador para la extracción del aceite a esencial (AE) y un agitador de alta velocidad MXBAOHENG para la homogenización de la emulsión (Modelo FSH-2A, China).

Los materiales utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante consistieron en: la emulsión de aceite esencial de cardamomo, radical estable DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil, Sigma-Aldrich, EE.UU.), solución de ácido gálico y el equipo espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.).

Preparación de la Muestra

Dada la granulometría del grano de cardamomo en oro, se dificultaría la extracción del aceite esencial de cardamomo a partir de este, por ello, el grano fue molido utilizando un molino convencional, lo cual permitió una mejor homogenización de la muestra al aumentar el área superficial de las partículas que estuvieron en contacto con el agua que actuó como el solvente en el proceso de extracción.

Extracción del Aceite Esencial de Cardamomo

Para la obtención del aceite esencial del grano de cardamomo se empleó una metodología similar a la de hidrodestilación, en donde se consideraron cada uno de los factores que son necesarios en el proceso de obtención de aceites esenciales en general. La hidrodestilación consiste en la extracción de aceites esenciales donde el material está sumergido en agua en ebullición, su característica principal es el contacto directo del agua y el material del cual se extraerá el aceite esencial (Díaz Álvarez et al., 2023).

La extracción del aceite esencial se realizó en el rotovaporador (R-100 Rotavapor, BUCHI, Suiza) del Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ), que permitió mantener constantes los factores de presión y temperatura de ebullición del solvente, importantes en la extracción, ya que, el no estandarizar las condiciones de extracción podría influir en la composición del aceite esencial luego de varias repeticiones.

El proceso inició con el pesaje de la muestra para posteriormente realizar una solución con una relación 1:7, es decir, 1 gramo de grano de cardamomo molido por cada 7 mililitros de agua destilada. Cada extracción realizada fue de 71.42 gramos de grano de cardamomo molido mezclado con aproximadamente 500 mililitros de agua destilada; la mezcla se incorporó dentro de un balón o matraz de evaporación, para luego establecer los parámetros de temperatura de ebulición de 40 °C, presión de 71 mbar, temperatura de condensación de 10 °C y una histéresis de 3 mbar. Por último, se colocó el matraz de evaporación en el rotovaporador y procedió a iniciar la extracción, la cual en

promedio presentó una duración de 1 hora y 40 minutos, para extraer la mayor cantidad de aceite esencial el cual se encontraba en solución con el solvente. El principio de este proceso se basó en que dada la evaporación del agua que se usó como el agente acarreador de los aceites, se obtuvieron los aceites al final del proceso (Casado Villaverde, 2018).

Una vez obtenida la solución agua:aceite esencial, esta fue colocada en un embudo de separación en donde por separación de fases (densidades), el aceite se encontraba en la superficie y el agua en el fondo, decantando la solución después de una hora de reposo.

El aceite esencial de cardamomo obtenido fue almacenado en viales color ámbar y en refrigeración a una temperatura de 2 - 4 °C.

Realización de la Emulsión Pickering

Las emulsiones de tipo Pickering se caracterizan por la dispersión isotrópica de una fase inmiscible (aceite) en otra fase inmiscible (agua) aprovechando que el conjunto de emulsionantes (surfactante, polímero y partículas coloidales) se localizan en la interfase y le atribuyen estabilización al sistema en general (T. Sharma et al., 2015).

Se preparó la solución madre con el polímero utilizado (Goma Xanthan) en agua destilada, en una relación 1:40, agregando 1 g de polímero en 40 mL de agua destilada. La solución se homogenizó mediante un proceso de agitación continua en un agitador de alta velocidad MXBAOHENG (MXBAOHENGus Instrument Co., China), a 10,000 rpm durante 2 minutos.

Una vez lista la solución madre, se adicionó emulsificante y aceite esencial de Cardamomo según las proporciones necesarias. Posteriormente, se homogenizaron los componentes mediante un proceso de agitación continua en un agitador de alta velocidad MXBAOHENG (MXBAOHENGus Instrument Co.), aumentando la velocidad a 12,000 rpm durante 2 minutos, ya que con el aumento de la velocidad se obtendrá una emulsión uniforme (T. Sharma et al., 2015).

En el Cuadro 1 se detalla la composición de cada una de las formulaciones, indicando el componente y el porcentaje que representa cada material en la formulación. Todas las formulaciones fueron elaboradas a partir de 3 compuestos, que fueron: Solución Goma/agua, aceite esencial de cardamomo y emulsificante.

Cuadro 1

Formulación de los tratamientos de emulsiones tipo Pickering.

no	Material	Porcentaje (%)	Abreviatura
Tratamiento 1	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Tween 20®	75 20 5	GX:T20:AE
Tratamiento 2	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Tween 20®	72.5 20 7.5	GX:T20:AE
Tratamiento 3	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Tween 20®	70 20 10	GX:T20:AE
Tratamiento 4	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Span 20®	75 20 5	GX:S20:AE
Tratamiento 5	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Span 20®	72.5 20 7.5	GX:S20:AE
Tratamiento 6	Solución Goma/Agua Aceite esencial de cardamomo Span 20®	70 20 10	GX:S20:AE

Nota. GX= Goma Xanthan®, T20= Tween 20®, S20= Span 20®, AE= Aceite esencial.

Capacidad Captadora de Radicales

La capacidad captadora de radicales de las emulsiones tipo Pickering se determinó a través del porcentaje de inhibición del radical libre sobre el valor inicial de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo). Siguiendo la metodología de Yap et al. (2020) con leves modificaciones, se preparó una solución madre metanólica de DPPH (0.004%, p/v), se mantuvo en refrigeración durante 1 hora antes de su uso. Posteriormente, se añadieron 50 µL de emulsión a 2.95 mL de solución metanólica de DPPH y se agitaron vigorosamente. Se dejó incubar por 30 minutos a 27 °C. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.) a una longitud de onda de 517 nm.

La actividad antioxidante por barrido de radicales se expresó como porcentaje de inhibición y se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%inhibición\ DPPH = \frac{Ao - As}{Ao} * 100 \qquad [1]$$

Donde:

Ao = Absorbancia inicial de DPPH en tiempo de 0 minutos

As = Absorbancia final de la muestra a los 30 minutos

Actividad Antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante de la emulsión tipo Pickering utilizando una curva estándar (R^2=0.9949), en donde se utilizaron diferentes concentraciones: 0.18, 0.35, 0.53 y 0.70 mM de ácido gálico como referencia, para luego analizarlas mediante el espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.) a una longitud de onda de 517 nm.

Actividad de Agua (a_w)

La medición de actividad de agua se realizó a través del método AOAC 978.18 en el equipo Aqualab Serie 3 (Decagon Devices, WA, EE.UU.). Se utilizó una muestra significativa de la emulsión tipo Pickering colocada dentro de la copa plástica del equipo. La muestra se dejó hasta que el equipo indicó el equilibrio, posteriormente se registró la lectura de la actividad de agua y temperatura.

Solubilidad

La solubilidad de las emulsiones tipo Pickering fue determinada siguiendo la metodología utilizada por Wainwright Baquedano (2022) con leves modificaciones. Se le agregó 1 g de muestra a 24 mL de agua desionizada, esto se repitió para cada una de las repeticiones de los tratamientos. Posteriormente, se agitaron en un Vortex (Fisherbrand, EE. UU.) a 2,500 rpm durante 5 minutos. Se llevaron a baño maría a una temperatura de 30 °C durante 30 min. Una vez transcurrido el tiempo, se

centrifugaron (VWR modelo Symphony 4417R, EE.UU.), durante 20 minutos a 6,000 rpm. Se extrajo el sobrenadante, el cual fue colocado en un plato Petri. Posteriormente, se llevó al horno a 105 °C durante 18 horas. La solubilidad fue calculada por medio de la Ecuación 2 propuesta por (Yap et al., 2020).

$$\%Solubilidad = \frac{(MS)}{(PM)} * 100 \qquad [2]$$

En donde:

MS: Material soluble (g)

PM: Peso inicial de la muestra (g)

Tamaño de Partícula

Para la determinación del tamaño de partícula se midió un valor promedio de 10 partículas por cada repetición de cada tratamiento para identificar el tamaño de cada uno de ellos. Se utilizó un microscopio invertido de marca Mshot MI11, con un aumento de 1000x, al que se le agregó una cámara Dino-Eye AM-423X para poder observar las imágenes en la pantalla. Estas imágenes se pudieron observar y medir mediante el programa de Dino Capture versión 2.0, a una escala de micrómetros (µm) para obtener el tamaño de las partículas promedio.

Estabilidad en el Tiempo

La estabilidad en el tiempo fue evaluada a través de la observación visual, en donde se caracterizó la no disociación de las partículas de la emulsión en un periodo de 7 días, para validar la observación se tomaron fotografías de la emulsión tipo Pickering realizada en el día cero (0), para compararlas con la emulsión al día siete (7). Obteniendo así el comportamiento de la emulsión en una situación controlada de temperatura. Según lo establecido por Guntero et al. (2021), una emulsión se considera estable cuando no existe cambio físico en un periodo de tiempo prolongado, y es inestable cuando se observa separación de fases o sedimentación después de pocos minutos.

Diseño Experimental y Tratamientos

Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA), para la evaluación de seis tratamientos y un control, los cuales, fueron en diferentes relaciones de emulsificantes y solución goma/agua. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 21 unidades experimentales. Además, se utilizó el programa SAS® (Sistema de Análisis Estadístico, versión 9.4) realizando un ANDEVA y una separación de medias Duncan a un nivel de significancia de 95% ($P<0.05$).

Resultados y Discusión

Análisis Físico-químicos

Extracción de Aceite Esencial

En el Cuadro 2, se observan los resultados de la extracción de aceite esencial de cardamomo, empleando la metodología de hidrodestilación, mediante el uso de un rotaevaporador. Las extracciones presentaron valores de rendimiento en un rango de 0.80 a 1.44 %.

Cuadro 2

Extracción de aceite esencial de cardamomo

#Extracción	Peso de muestra (g)	Aceite extraído (g)	Rendimiento (%)
1	71.43	0.57	0.80
2	71.42	0.57	0.80
3	71.43	0.57	0.80
4	71.43	0.62	0.87
5	71.42	1.03	1.44
6	71.43	0.61	0.86
7	71.43	0.65	0.91
8	71.03	0.65	0.91
9	71.06	0.65	0.91
10	71.43	0.66	0.93
11	71.09	0.60	0.84
12	71.43	0.60	0.84
13	71.43	0.60	0.84
14	71.43	1.01	1.41
15	71.43	1.01	1.41
16	71.42	1.01	1.41
17	71.42	0.63	0.89
18	71.42	0.63	0.89
19	71.42	0.63	0.89
20	71.42	0.70	0.99
21	71.43	0.70	0.99
22	71.43	0.70	0.99

Los resultados fueron similares a los obtenidos por Joshi et al. (2013), en donde se obtuvieron rangos de extracción por hidrodestilación de 0.98 a 1.95 %, respectivamente. Sin embargo, Abdullah

et al. (2022) mencionaron rendimientos de varios estudios en donde se aplica la misma metodología de extracción y se obtuvieron valores en un rango de 0.98 a 4.5 %.

La variación en cuanto al rendimiento de extracción se asocia a lo establecido por Gil y Sáez (2000), en donde menciona que la cantidad y composición del aceite varia de una especie a otra, y dentro de los mismos géneros de la planta.

Actividad de Agua (a_w)

En el Cuadro 3, se observan los resultados de actividad de agua (a_w) de las emulsiones tipo Pickering realizadas con diferentes formulaciones. Se muestra un valor-P (0.0330) que indica diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Los tratamientos presentaron valores en un rango de 0.77 a 0.81 a_w. El Tratamiento 1, con 75 % de la solución goma/agua, 20 % de aceite esencial y 5 % Tween 20®, fue estadísticamente diferente al resto de tratamientos, presentando el menor valor de actividad de agua.

Según lo establecido por Cardona (2019), la actividad de agua de los alimentos es un parámetro determinante en su vida útil, ya que es indicativo del agua disponible para el crecimiento de microorganismos y la actividad enzimática durante la conservación del alimento. Tomando en cuenta que este tipo de emulsiones Pickering están enfocadas a la adición en alimentos, es de mayor beneficio una menor actividad de agua, con el objetivo de reducir posible riesgo de actividad microbiana y enzimática en el alimento.

Acorde con Pastor Navarro y González Martínez (2018), la actividad de agua en alimentos puede ser disminuida por diferentes tipos de interacciones del agua. Por ejemplo, se puede deprimir la a_w fomentando las interacciones del agua con los solutos disueltos. La reducción de actividad de agua del Tratamiento 1 (GX:T20:AE; 75:5:20) se relaciona con la mezcla realizada con partículas sólidas (Goma Xanthan) y con la función realizada por el emulsificante Tween 20®, ya que, al ser este un emulsificante utilizado para emulsiones O/W, crea una mejor atracción entre la fase acuosa y la fase oleosa, reduciendo la cantidad de agua libre y por ende la actividad de agua. Los resultados se asimilan

a los obtenidos en un estudio realizado por Gómez y Fernández (1992), en donde se obtuvo una media de 0.95 a_w de una mayonesa, siendo esta una emulsión alimenticia (O/W), cuyas características son similares a las emulsiones tipo Pickering elaboradas.

Solubilidad

La solubilidad es una de las características más importantes en estas emulsiones aceite en agua, en donde la fase continua es el agua y la fase dispersa el aceite, debido a que, son elaboradas con el objetivo de adicionarlas a un alimento con alto contenido de agu*a.* La única partícula solida utilizada fue Goma Xanthan, la cual tuvo influencia en la solubilidad de las emulsiones. Según Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016), la Goma Xanthan es un polisacárido natural de alto peso molecular, soluble en agua e insoluble en etanol. Su peso molecular se encuentra en el rango de 2×10^6 a 20×10^6 Da (Palaniraj y Jayaraman, 2011).

En el Cuadro 3, se observan los resultados obtenidos del porcentaje de solubilidad de las emulsiones tipo Pickering. Se muestra un valor-P (<0.0001) que indica diferencias significativas entre los tratamientos establecidos, siendo T1 (GX:T20:AE; 75:5:20), T2 (GX:T20:AE; 72.5:7.5:20) y T4 (GX:S20:AE; 75:5:20) los que presentaron los valores más altos en un rango de 99.76-99.82 %. Por otra parte, los tratamientos T3 (GX:T20:AE; 70:10:20), T5 (GX:S20:AE; 72.5:7.5:20) y T6 (GX:S20:AE; 70:10:20) evidenciaron los valores más bajos de solubilidad, sin embargo, todos los tratamientos presentaron un porcentaje de solubilidad mayor a 99 %, considerándose altamente soluble, que comparados con un estudio realizado por Xu et al. (2022), en donde se encapsuló el aceite de té con partículas sólidas de maltodextrina y goma xanthan, se obtuvo un aumento de solubilidad llegando hasta un 87 %, dado los efectos sinérgicos entre la maltodextrina y nanopartículas de goma xanthan, con ello se puede establecer que el uso de partículas sólidas aumentan la solubilidad de las emulsiones.

Cuadro 3

Actividad de agua y porcentaje de solubilidad de emulsiones tipo Pickering con diferentes formulaciones.

Tratamiento	Abreviatura	Porcentaje (%)	a_w Media ± DE	Solubilidad de emulsión (%) Media ± DE
T1	GX+T20+AE	75:5:20	0.773 ± 0.022 [b]	99.817 ± 0.037 [a]
T2	GX+T20+AE	72.5:7.5:20	0.799 ± 0.008 [a]	99.766 ± 0.047 [ab]
T3	GX+T20+AE	70:10:20	0.805 ± 0.007 [a]	99.640 ± 0.021 [d]
T4	GX+S20+AE	75:5:20	0.807 ± 0.008 [a]	99.756 ± 0.012 [b]
T5	GX+S20+AE	72.5:7.5:20	0.801 ± 0.010 [a]	99.697 ± 0.034 [c]
T6	GX+S20+AE	70:10:20	0.805 ± 0.004 [a]	99.649 ± 0.005 [cd]
CV (%)			1.42	0.02
Valor-P			0.0330	<0.0001

Nota. a_w: Actividad de agua; DE: Desviación estándar; CV (%): coeficiente de variación; GX= Goma Xanthan®; T20= Tween 20®; S20= Span 20®; AE= Aceite esencial.; a-d: medias seguidas de letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Tamaño de Partícula

El tamaño de partícula y la distribución de las partículas de las emulsiones Pickering (EP) afectan la uniformidad, la estabilidad y la aplicación posterior del sistema de emulsión. Las partículas de tamaño más pequeño son las preferidas en las EP (Krishnan et al., 2023). Un menor tamaño de partícula se ve relacionado con una mejor estabilidad de la emulsión. En un estudio realizado por Li y Montell (2021), se menciona que para los seres humanos una de las características físicas clave de los alimentos es el tamaño de partículas, el cual al ser mayor de 50 µm confiere una percepción de granulosidad.

En el Cuadro 4, se observan los resultados del tamaño de partícula (µm). Se obtuvo un valor-P (0.0003) menor a 0.05, lo que indica que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que, el tamaño de partícula difiere entre al menos uno de ellos. Los tratamientos presentaron valores de tamaños de partícula en un rango de 12.70-21.22 µm, considerándose no perceptibles sensorialmente, al ser menor a 50 µm. Así mismo, los valores más bajos los presentaron los tratamientos con Tween 20® en la formulación (T1 y T2); por otra parte, los valores más altos fueron

observados en tratamientos con presencia de Span 20®, asociándose a la posible coalescencia ocasionada por este emulsificante, al tener un valor de HLB de 8.6 y ser de carácter lipofílico. Desde el punto de vista de estabilidad, los tratamientos con mayor porcentaje de Tween 20® en la formulación (T1 y T2) mostraron los mejores resultados, asociando un menor tamaño de partícula a una mejor estabilidad y conservación de propiedades funcionales; esto posiblemente debido a la correcta interacción entre la fase dispersa y las partículas sólidas, evitando la coalescencia de las gotas en emulsión. Los resultados se asemejan a los obtenidos por Ye et al. (2013) en donde utilizaron 12,000 rpm para homogenizar la emulsión y obtuvieron un rango de tamaño de partícula de 2-24 µm.

La no uniformidad en el tamaño de partícula de las emulsiones se asocia a lo establecido por Matos (2013), mencionando que los procesos de fabricación convencionales utilizados para producir estas emulsiones, como homogeneizadores de alta presión, sistemas rotor-estator, molinos coloidales, ultrasonidos y microfluidizadores, no permiten obtener emulsiones con un tamaño de gota uniforme, debido a que, estas técnicas se basan en la aplicación de un alto esfuerzo cortante que deforma una interfaz generando distribuciones de tamaño de gotas.

Cuadro 4

Tamaño de partícula de emulsiones tipo Pickering.

Tratamiento	Abreviatura	Porcentaje (%)	Tamaño de partícula (µm) Media ± DE
T1	GX+T20+AE	75:5:20	12.70 ± 0.53 [c]
T2	GX+T20+AE	72.5:7.5:20	12.94 ± 1.43 [c]
T3	GX+T20+AE	70:10:20	16.23 ± 2.03 [b]
T4	GX+S20+AE	75:5:20	16.31 ± 1.60 [b]
T5	GX+S20+AE	72.5:7.5:20	18.36 ± 0.66 [b]
T6	GX+S20+AE	70:10:20	21.22 ± 1.92 [a]
CV (%)			9.12
Valor-P			0.0003

Nota. DE: Desviación estándar; CV (%): coeficiente de variación; GX= Goma Xanthan®; T20= Tween 20®; S20= Span 20®; AE= Aceite esencial.

a- c: medias seguidas de letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Estabilidad en el Tiempo

Las emulsiones Pickering son caracterizadas por su alta estabilidad, como indica Matos et al. (2020) la razón de su mayor estabilidad se debe a que las partículas impiden la interacción interfacial por exclusión de volumen, es decir, las partículas crean una barrera física impidiendo el contacto entre gotas, esta estabilidad depende a su vez del tamaño de gota y de la afinidad del agente estabilizante por las dos fases.

En la Figura 1a se muestra una imagen representativa del comportamiento de las emulsiones Pickering de los tratamientos con presencia de Tween 20® en la formulación (T1, T2 y T3), mostrando un comportamiento similar, en las cuales, no se observó separación de fases, lo que se establece como alta estabilidad; de la misma forma, en la Figura 1b, se observa el comportamiento de estos tratamientos en el día 7, en donde tampoco se observó separación de fases. La alta estabilidad fue relacionada al uso de Tween 20® en la formulación de estos tratamientos y al valor de HLB (16.7) de este emulsificante, ya que, como establece Sanz (2017), cuanto más elevado es su valor mayor es el carácter hidrofílico y menor el lipófilo. Además, en función del HLB se determina para que tipo de emulsiones es más adecuada un tensioactivo: un valor entre 4 y 6 es apropiado para formar emulsiones W/O y entre 8 y 18 para emulsiones O/W (Sanz, 2017). Los resultados concuerdan con lo establecido por Sapei et al. (2017), quien menciona que en emulsiones O/W, la estabilización aumenta con el incremento del emulsificante Tween 20®.

En la Figura 2 se observa el comportamiento de las emulsiones tipo Pickering con emulsificante Span 20® en la formulación (T4, T5 y T6). En el día 0, fue posible observar una ligera separación de fases, de la misma manera, el comportamiento de las emulsiones en el día 7, incrementó dicha separación de fases. Este comportamiento inestable se atribuyó al uso de Span 20® en la formulación de estas emulsiones, relacionándolo a lo que establece Sanz (2017), que los ésteres de sorbitán, grupo al que pertenece el Span 20®, son lipófilos y se suelen utilizar como emulsificantes primarios en las formulaciones de fase externa oleosa debido a su HLB de 8.6.

Figura 1

Estabilidad en el tiempo de emulsiones tipo Pickering con Tween 20® en la formulación (T1, T2 y T3)

a) Dia 0 *b) Dia 7*

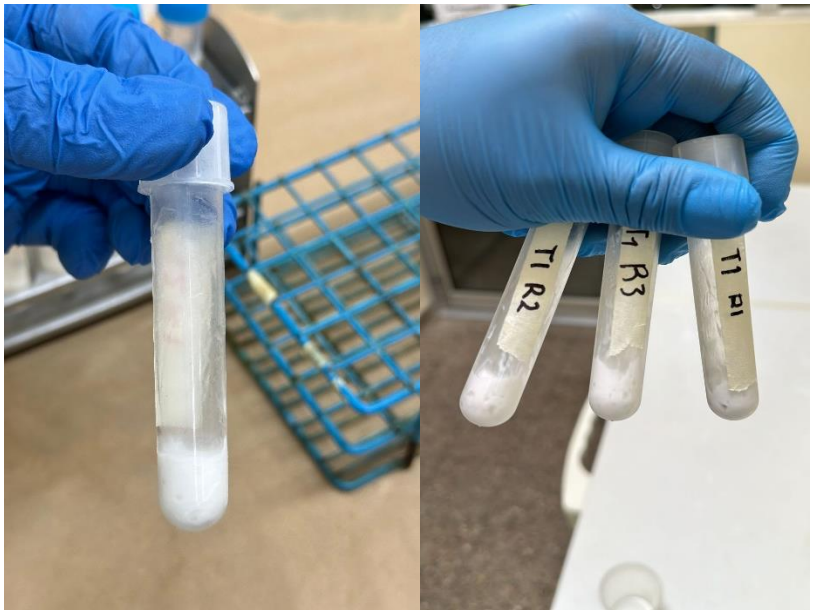
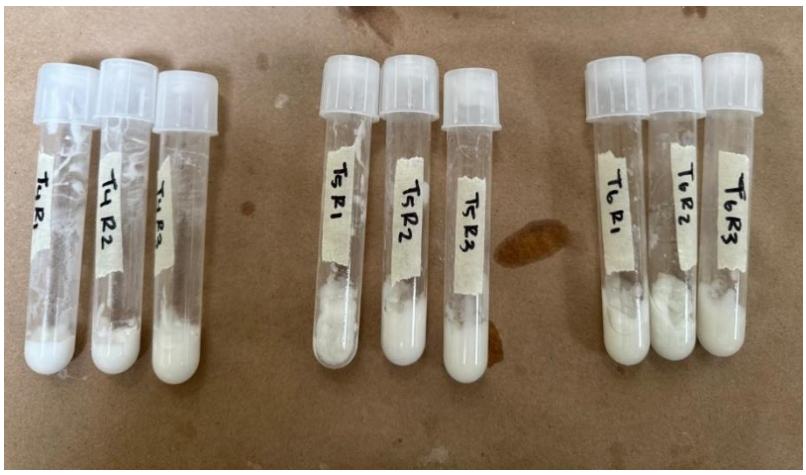
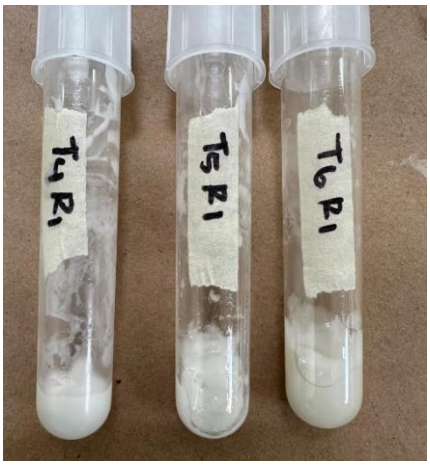


Figura 2

Estabilidad en el tiempo de emulsiones tipo Pickering con Span 20® en la formulación (T4, T5 y T6)

a) Dia 0 b) Dia 7





Actividad Antioxidante

Investigaciones recientes establecen que los aceites esenciales poseen propiedades beneficiosas, debido a esto, se ha generado un auge por su uso y el de otros compuestos dentro de la industria de alimentos como establece Marín-Muñoz (2015), la cual ha dado un giro a la producción de alimentos funcionales que es dada por la capacidad de los componentes de actuar como receptores de neurotransmisores, activadores o inhibidores enzimáticos, estimuladores de enzimas digestivas o moduladores de la expresión de mediadores leucocitarios (Casanovas, 2019). El cardamomo presenta diversas funciones biológicas, incluidas las actividades antioxidantes, antidiabéticas, antibacterianas, anticancerígenas, gastro protectoras e insecticidas (Ashokkumar et al., 2020). La actividad antioxidante se define como la capacidad que presenta un compuesto de inhibir o evitar la degradación oxidativa en especial de los radicales libres producto de la oxidación (Londoño, 2012).

En el Cuadro 5 se pueden observar los resultados obtenidos de la actividad antioxidante, en donde se presentó una diferencia significativa entre los tratamientos con un valor-P (< 0.0001). Dentro del estudio se expone a los tratamientos con presencia del emulsificante Tween 20® en diferentes porcentajes (5, 7.5 y 10) siendo estos el (T1, T2 y T3), como los tratamientos más representativos, mostrando los valores más altos de acuerdo con la concentración de compuestos para la actividad antioxidante con una media de 9.62, 9.80 y 9.88 mM EAG.g^{-1} de aceite esencial de cardamomo. Los valores más bajos los presentaron el tratamiento 4 (GX+S20+AE; 75:5:20) y el control que comprendía únicamente el aceite esencial (AE:100), con medias de 6.25 y 5.97 mM EAG.g^{-1} de aceite esencial de cardamomo. En este caso, todas las muestras presentaron actividad antioxidante con valores de mM EAG.g^{-1} de aceite esencial de cardamomo representativos que indican que las concentraciones obtenidas absorben cierta concentración de radicales, las cuales están dadas por la reducción del átomo de hidrógeno del DPPH al recibir uno de los átomos de hidrógeno de las muestras, como lo indica (Montealegre, 2021). La capacidad antioxidante no se sobre limita al potencial de acción del aceite esencial, ya que este como tal cumple las funciones antioxidantes como lo específica (Ivanović et al., 2021). Al comparar el comportamiento de las emulsiones tipo Pickering de aceite esencial de

cardamomo, con emulsiones tipo Pickering realizadas por Santafosta Cerdá (2018), se observa una diferencia significativa entre la emulsión con el aceite esencial sin encapsular, dado que los valores de reducción del 50 % de radicales libres de las emulsiones presentan valores de 13.1 mg/mL para las emulsiones y 3.98 mg/mL para el aceite esencial, este comportamiento se asemeja a lo presentado en esta investigación, en donde el aceite esencial no refleja una actividad antioxidante similar al de la emulsión, los valores de diferencia son considerados al asumir que los componentes de la emulsión potencializan la actividad antioxidante, dado que compuestos como el emulsificante Tween 20® posee una parte hidrofílica considerable para donar hidrógenos a los radicales libres como establece (Salager, 2002). De igual forma, los puentes de hidrógeno presentes en la goma Xanthan brindan estabilización en las soluciones, generando así enlaces o unión entre partículas las cuales puedan presentar disponibilidad en la cantidad de hidrógenos necesarios para prevenir la oxidación (Carmona Gallego, 2015).

Sin embargo, los valores difieren en valores mínimos de concentración, que pudo deberse al proceso de homogenización en donde se aplicó un cizallamiento alto que conforme a los reportes de Matos (2013), indica que dada la composición de las emulsiones, la fase dispersa no tiene un tamaño uniforme, lo que influye en las propiedades funcionales y aplicabilidad de la emulsión. Asimismo, Nowacka et al. (2018) refiere que los tratamientos de homogeneización para producir la emulsión generan un deterioro importante en la actividad antioxidante de los extractos.

Capacidad Captadora de Radicales

Los radicales libres son un tipo de molécula inestable que se elabora durante el metabolismo normal de las células y en ocasiones se acumulan en las células dañando otras moléculas, como el ADN, lípidos y proteínas (National Cancer Institute, 2024). Estas reacciones pueden considerarse altamente patológicas causando diversos cambios funcionales en el organismo (Maldonado et al., 2010).

En cuanto a la capacidad captadora de radicales, expresada como porcentaje de inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), en el cuadro 5 se puede observar que existe una diferencia entre los tratamientos dado el ($P < 0.0001$). Asimismo, los porcentajes de inhibición se encuentran en un rango de 7.48-16.85%, en donde el tratamiento 3 (GX+T20+AE) presentó un valor de 16.85 % siendo este el más alto, en comparación con el tratamiento 4 (GX+S20+AE) y el control, con porcentajes de 8.15 y 7.48 %, respectivamente. Los valores de porcentaje de inhibición difirieron en valores amplios de casi el 10 %, esto pudo deberse a factores los cuales van más allá de la capacidad del aceite esencial para captar radicales libres, ya que, al definir si este capta radicales o no, dados los valores porcentuales de porcentaje de inhibición, sí presenta está propiedad, pero no más del 16.85 % utilizando aceite esencial de cardamomo con los procedimientos presentados. Los resultados presentaron una similitud con los datos obtenidos por Ponce Cobos (2019), en donde se reportaron porcentajes de inhibición de aceites esenciales en un rango de 6.74-15.61 % para concentraciones entre 0.8-2.0 % de la muestra de aceite esencial.

Sharma et al. (2016) menciona que la capacidad de un compuesto para eliminar, neutralizar o inhibir los radicales libres está dada por la disponibilidad de donar un hidrógeno, la cual se asocia a la formulación de cada uno de los tratamientos, los cuales presentan 20 % de aceite esencial de cardamomo. La diferencia entre cada uno de los tratamientos se debió a la extracción de aceite esencial, como lo menciona Recio Cazares (2023) al no utilizar un aceite comercial estandarizado se ve afectada la pureza del aceite esencial, así como la presencia de derivados de oxígeno y la capacidad de los compuestos oxidantes para reducir los diferentes compuestos. Asimismo, los cambios en los porcentajes evaluados se prevén dada la composición de cada una de las formulaciones, en donde dado el cambio en los porcentajes de emulsificante y goma xanthan utilizada son atribuidos como factores de diferencia, como lo menciona Tafurt et al. (2005) que estos pueden influenciar la localización y la acción de las sustancias protectoras presentes en el aceite esencial.

Cuadro 5

Actividad antioxidante y capacidad captadora de radicales de emulsiones tipo Pickering.

Tratamiento	Abreviatura	Porcentaje (%)	Actividad antioxidante (mM EAG/g AE) ± DE	Capacidad captadora de radicales (%) ± DE
T1	GX+T20+AE	75:5:20	9.62 ± 0.58 [a]	16.24 ± 1.38 [a]
T2	GX+T20+AE	72.5:7.5:20	9.80 ± 0.05 [a]	16.66 ± 0.12 [a]
T3	GX+T20+AE	70:10:20	9.88 ± 0.30 [a]	16.85 ± 0.73 [a]
T4	GX+S20+AE	75:5:20	6.25 ± 0.30 [c]	8.15 ± 0.72 [c]
T5	GX+S20+AE	72.5:7.5:20	6.94 ± 0.46 [b]	9.81 ± 1.09 [b]
T6	GX+S20+AE	70:10:20	7.51 ± 0.49 [b]	11.19 ± 1.19 [b]
Control	AE	100	5.97 ± 0.36 [c]	7.48 ± 0.86 [c]
CV (%)			4.42	6.88
Valor-P			< 0.0001	< 0.0001

Nota. GX: Goma Xanthan; T20: Tween 20®; S20: Span 20®; DE: Desviación estándar; mM: mili Molar; EAG: Equivalentes de ácido gálico; AE: Aceite esencial; CV (%): coeficiente de variación; a-c-: medias seguidas de letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Conclusiones

El uso de goma Xanthan y emulsificantes permitieron la elaboración de emulsiones tipo Pickering a partir de aceite esencial de cardamomo. El Tween 20® permitió la formación de emulsiones más estables, lo cual pudo estar asociado a su alto valor HLB.

Se evaluó la capacidad antioxidante de las emulsiones tipo Pickering, en donde, las formulaciones con Tween 20® presentaron valores más altos en comparación al aceite esencial sin emulsión, además, los valores más bajos fueron de las emulsiones con presencia del emulsificante Span 20® en la formulación.

Se establecieron características fisicoquímicas para las emulsiones tipo Pickering, resaltando una actividad de agua intermedia, tamaño de partícula menor a 25 µm y con alta solubilidad en agua.

Recomendaciones

Para futuras investigaciones, utilizar aceite esencial de grado comercial y estandarizado para evitar la variabilidad en los componentes presentes.

Evaluar la incorporación y efectividad de la emulsión tipo Pickering en alimentos o bebidas para el desarrollo de nuevos productos.

Realizar un estudio de biodisponibilidad del aceite esencial de cardamomo para determinar el comportamiento de sus principales componentes.

Evaluar el tamaño de partícula tomando en cuenta el ángulo de contacto del tensioactivo a utilizar.

Realizar estudios utilizando otro tipo de material vegetal que posea propiedades beneficiosas para la salud y su comportamiento en emulsiones tipo Pickering.

Referencias

Abdullah, Ahmad, N., Tian, W., Zengliu, S., Zou, Y., Farooq, S., Huang, Q. y Xiao, J. (2022). Recent advances in the extraction, chemical composition, therapeutic potential, and delivery of cardamom phytochemicals. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 1024820. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1024820

Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M. K. y Warkentin, T. D. (2020). Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom Elettaria cardamomum (L.) Maton - A critical review. *Journal of Ethnopharmacology*, *246*, 112244. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112244

Berton-Carabin, C. C. y Schroën, K. (2015). Pickering emulsions for food applications: Background, trends, and challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, *6*, 263–297. https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110822

Cardona, F. (2019). *Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones* [Tesis]. Universidad Politecnica de Valencia, España. http://hdl.handle.net/10251/121948

Carmona Gallego, J. A. (2015). *Reología de dispersiones acuosas de goma xantana de prestaciones avanzadas* [Tesis doctoral]. Universidad de Sevilla, Sevilla, España. https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/33201/tesis%20.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Casado Villaverde, I. (2018). *Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor* (49669) [Tesis]. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf

Casanovas, R. (2019). Aceites esenciales y el estado de ánimo. *Revista De Fitoterapia*, *18*(2), 101–136. https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/159478/1/697665.pdf

Díaz Álvarez, L., Martínez Estrada, A., Pérez León, K. y Vera Triana, M. (2023). *Extracción del aceite esencial por hidrodestilación de las partes aéreas de Kalanchoe pinnata y evaluación de su actividad antifúngica y antibacteriana.* Fundación Universitaria Juan N. Corpas. https://repositorio.juanncorpas.edu.co/handle/001/209

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). *Xanthan Gum*. https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/a09d321b-3fc1-4bb1-b9ef-d3e1e1bd94b5/content

Gil, E. y Sáez, A. (2000). Obtención de aceite esencial de cardamomo. *Universidad EAFIT*, *36*(118), 15–21. https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/1031

Gómez, R. y Fernández, J. (1992). Water activity and chemical composition of some food emulsions. *Food Chemistry*, *45*(2), 91–93. https://doi.org/10.1016/0308-8146(92)90015-T

Guntero, V., Valle, F., Bresso, R., Macagno, M. y Ferreti, C. (2021). Encapsulación del acetato de vitamina E. *AJEA*(1), 241–244. https://doi.org/10.33414/ajea.1.871.2021

Ivanović, M., Makoter, K. y Islamčević Razboršek, M. (2021). Comparative Study of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Crude Extracts of Four Characteristic Zingiberaceae Herbs. *Plants*, *10*(3), 501. https://doi.org/10.3390/plants10030501

Jiménez, W. J., Zamora, J. A., Campoverde, J. R. y Mariscal, W. E. (2022). Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de citrus sinenis, citrus paradisis y citrus reticulata. *RECIAMUC*, *6*(3), 399–407. https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.399-407

Joshi, R., Sharma, P., Sharma, V., Prasad, R., Sud, R. K. y Gulati, A. (2013). Analysis of the essential oil of large cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) growing in different agro-climatic zones of Himachal Pradesh, India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(6), 1303–1309. https://doi.org/10.1002/jsfa.5886

Krishnan, R., Mohan, K., Ragavan, K. V. y Nisha, P. (2023). Insights into headway in essential oil-based Pickering emulsions for food applications. *Sustainable Food Technology*, *1*(3), 363–376. https://doi.org/10.1039/D2FB00060A

Li, Q. y Montell, C. (2021). Mechanism for food texture preference based on grittiness. *Current Biology : CB*, *31*(9), 1850-1861.e6. https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.02.007

Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad.* Corporación Universitaria Lasallista. https://repository.unilasallista.edu.co/server/api/core/bitstreams/e9829b4f-5db4-4bfd-b166-98d8b7c969d3/content

Lozano, R. A., Farías Cepeda, L., Ramos González, R., Rubio Ríos, A. y Rosales Marines, L. (2018). Síntesis de partículas híbridas mediante polimerización en emulsión Pickering. *Ciencia Acierta*(54). http://www.cienciacierta.uadec.mx/articulos/cc54/EmulsionPickering.pdf

Lu, W., Kelly, A. L. y Miao, S. (2016). Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols. *Trends in Food Science & Technology*, *47*, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.015

Maldonado, O., Jiménez, E., Ceballos, G., Guapillo, M. y Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica De La Universidad Veracruzana*, *10*(2), Artículo 32-39. https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf

Marín-Muñoz, I. (2015). *Actividad antioxidante y antibacteriana de aceite esenciales ecoloógicos de hinojo, perejil y lavanda [*Tesis]. Universidad Miguel Hernández, Alicante, España. https://dspace.umh.es/bitstream/11000/5385/1/TFM%20%20Mar%C3%ADn%20Mu%C3%B1oz%2C%20Irene.pdf

Masoumi-Ardakani, Y., Mandegary, A., Esmaeilpour, K., Najafipour, H., Sharififar, F., Pakravanan, M. y Ghazvini, H. (2016). Chemical Composition, Anticonvulsant Activity, and Toxicity of Essential Oil and Methanolic Extract of Elettaria cardamomum. *Planta Medica*, *82*(17), 1482–1486. https://doi.org/10.1055/s-0042-106971

Matos, M. (2013). *Production of emulsions with controlled droplet size containing bioactive compounds using membranes* [Tesis de doctorado]. Universidad de Oviedo, España. http://hdl.handle.net/10651/21893

Matos, M., Luque, S. y Gutiérrez, G. (2020). Formulación y estabilidad de emulsiones para encapsulación de biocompuestos. *Anales De Quimica*, *116*(2), 69–80. https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8109259.pdf

Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación. (2014). *Perfil Comercial Cardamomo*. https://www.maga.gob.gt/download/Perfil%20cardamomo.pdf

Montealegre, O. (2021). *Métodos analíticos para la determinación de capacidad antioxidante de aceites esenciales* (1) [Tesis, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Ibagué, Tolima, Colombia.]. repository.unad.edu.co. https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/41776/oemontealegrec.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Montti, M., Visciglio, S., Raviol, F., Sobovich, G. y Munitz, M. (2013). Incidencia de la carga inicial de pesticidas en fruta sobre los niveles residuales en aceites esenciales cítricos. *Ciencias Exactas Y Naturales*, *24*(47), 187–218. http://www.scielo.org.ar/pdf/cdyt/n47/n47a08.pdf

Nájera Mejía, E. A. y Castillo Martínez, U. R. (2022). *Cuantificación de compuestos bioactivos del extracto etanólico de chipilín (Crotalaria longirostata Hook. & Arn.) encapsulados con maltodextrina, goma guar y gelatina* [Proyecto Especial de Graduación]. Escuela Agricola Panamericana, Zamorano, Honduras. https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/d0e96fb7-aaa8-4043-8652-1199a00a3fc0/content

National Cancer Institute. (2024). *Free radical Definition.* U.S. Department of Health and Human Services. https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/radical-libre

Nowacka, M., Fijalkowska, A., Dadan, M., Rybak, K., Wiktor, A. y Witrowa-Rajchert, D. (2018). Effect of ultrasound treatment during osmotic dehydration on bioactive compounds of cranberries. *Ultrasonics*, *83*, 18–25. https://doi.org/10.1016/j.ultras.2017.06.022

Palaniraj, A. y Jayaraman, V. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by Xanthomonas campestris. *Journal of Food Engineering*, *106*(1), 1–12. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.035

Pastor Navarro, C. y González Martínez, C. (2018). *Disminución de la actividad de agua de un alimento con alto contenido en humedad mediante la adición de solutos electrolitos* [Tesis]. Universidad Politecnica de Valencia, España. https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/102416/Pastor%3bGonz%c3%a1lez%20-%20Disminuci%c3%b3n%20de%20la%20actividad%20de%20agua%20de%20un%20alimento%20con%20alto%20contenido%20en%20humeda…pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ponce Cobos, J. J. (2019). *Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de Peperomia galioides Kunth y actividad fotoprotectora in vitro en una emulsión dermocosmética* [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. https://core.ac.uk/download/pdf/323349765.pdf

Rasia, M., Castagnini, J. M., Pereyra, F., Capodoglio, D. L., Gerard, J. A., San Miguel, S. y Pagani, C. I. (2019). Estudio de emulsiones Pickering para la microencapsulación de aceites esenciales cítricos y su estabilización por liofilización. *Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento*, *9*(9). https://pcient.uner.edu.ar/index.php/Scdyt/article/view/661

Recio Cazares, S. L. (2023). *Extracción del Aceite Esencial de Lippia (Aloysia citriodora) y evaluación de su actividad antimicrobiana en sistema modelo y alimentos* [Tesis de doctorado]. Universidad de las Amércias Puebla, Puebla, México. http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/dcl/recio_cazares_sl/etd_4063035025381.pdf

Rodríguez Graña, T., Peña González, M., Gómez Trujillo, N., Santisteban Lozano, Y. y Hernández Tamayo, M. (2015). Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. *Correo Científico Médico*, *19*(4), 690–705. http://scielo.sld.cu/pdf/ccm/v19n4/ccm09415.pdf

Salager, J. (2002). *Surfactantes, Tipos y Usos* [Cuaderno FIRP S300-A, Módulo de enseñanza en fenómenos interfaciales]. Cuaderno FIRP 300 A. https://es.firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/06/S300A.pdf

Santafosta Cerdá, E. (2018). *Encapsulación de aceite de café tostado mediante emulsiones de Pickering estabilizadas con partículas de quitosano* [Tesis]. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/106997/SANTAFOSTA%20-%20Encapsulaci%c3%b3n%20de%20aceite%20de%20caf%c3%a9%20tostado%20mediante%20emulsiones%20de%20Pickering%20estabilizad…pdf?sequence=1&isAllowed=y

Sanz, S. (2017). *Emulsiones (I).* COFBi. https://botplusweb.farmaceuticos.com/documentos/2017/4/11/114468.pdf

Sapei, L., Sandy, I., Suputra, I. y Ray, M. (2017). The effect of different concentrations of tween-20 combined with rice husk silica on the stability of o/w emulsion: A kinetic study. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *273*, 12023. https://doi.org/10.1088/1757-899X/245/1/012023

Sharma, T., Kumar, G. S. y Sangwai, J. S. (2015). Comparative effectiveness of production performance of Pickering emulsion stabilized by nanoparticle–surfactant–polymerover surfactant–polymer (SP) flooding for enhanced oil recoveryfor Brownfield reservoir. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, *129*, 221–232. https://doi.org/10.1016/j.petrol.2015.03.015

Sharma, U. K., Sharma, A. K. y Pandey, A. K. (2016). Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *16*(1), 156. https://doi.org/10.1186/s12906-016-1147-4

Silva, P., Pinheiro, A., Rodríguez, L., Figueroa, V. y Baginsky, C. (2016). Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, *66*(1), 17–24. https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222016000100002&script=sci_arttext

Tafurt, G., Martínez, J. y Stashenko, E. (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista Colombiana De Química*, *34*(1), 43–55. http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v34n1/v34n1a04.pdf

Villada Ramírez, M. E., Millán Cardona, L. d. J., Peláez Jaramillo, C. A., González Hurtado, M. I., Gil Garzón, M. A. y Arroyave Quinceno, C. (2017). Caracterización del aceite microencapsulado de cardamomo (*Elettaria cardamomum*) extraído por fluidos supercríticos a escala semi-industrial. *Brazilian Journal of Food Technology*, *20*. https://www.scielo.br/j/bjft/a/LyPd9BjCFhwWVdTvZmfNZyc/?lang=es&format=pdf

Wainwright Baquedano, K. N. (2022). *Encapsulación del extracto etanólico de cáscara de pitaya (Hylocereus costaricensis) utilizando maltodextrina como agente encapsulante* [Proyecto Especial de Graduación]. Escuela Agricola Panamericana, Zamorano, Honduras. https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/1c11f155-9572-4900-9d73-493e9aeab93a/content

Xu, W., Sun, H., Li, H., Li, Z., Zheng, S., Luo, D., Ning, Y., Wang, Y. y Shah, B. R. (2022). Preparation and characterization of tea oil powder with high water solubility using Pickering emulsion template and vacuum freeze-drying. *LWT*, *160*, 113330. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113330

Yap, J. Y., Hii, C. L., Ong, S. P., Lim, K. H., Abas, F. y Pin, K. Y. (2020). Effects of drying on total polyphenols content and antioxidant properties of Carica papaya leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(7), 2932–2937. https://doi.org/10.1002/jsfa.10320

Ye, A., Zhu, X. y Singh, H. (2013). Oil-in-water emulsion system stabilized by protein-coated nanoemulsion droplets. *Langmuir : The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, *29*(47), 14403–14410. https://doi.org/10.1021/la403493y

Anexos

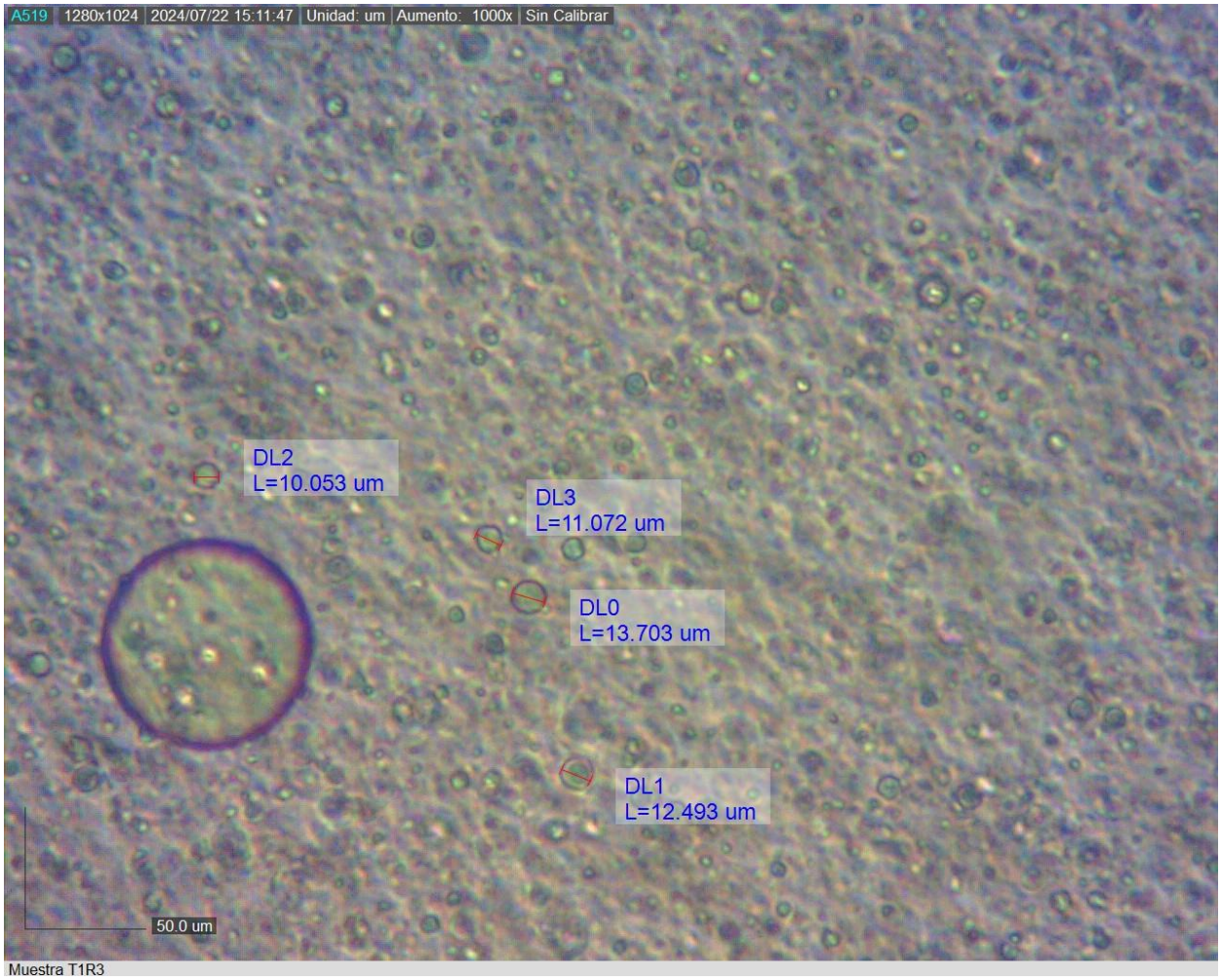
Anexo A

Resultados de extracción de aceite esencial

#Extracción	Peso de muestra (g)	Aceite extraído (g)	Rendimiento (%)
1	71.43	0.57	0.80
2	71.42	0.57	0.80
3	71.43	0.57	0.80
4	71.43	0.62	0.87
5	71.42	1.03	1.44
6	71.43	0.61	0.86
7	71.43	0.65	0.91
8	71.03	0.65	0.91
9	71.06	0.65	0.91
10	71.43	0.66	0.93
11	71.09	0.60	0.84
12	71.43	0.60	0.84
13	71.43	0.60	0.84
14	71.43	1.01	1.41
15	71.43	1.01	1.41
16	71.42	1.01	1.41
17	71.42	0.63	0.89
18	71.42	0.63	0.89
19	71.42	0.63	0.89
20	71.42	0.70	0.99
21	71.43	0.70	0.99
22	71.43	0.70	0.99

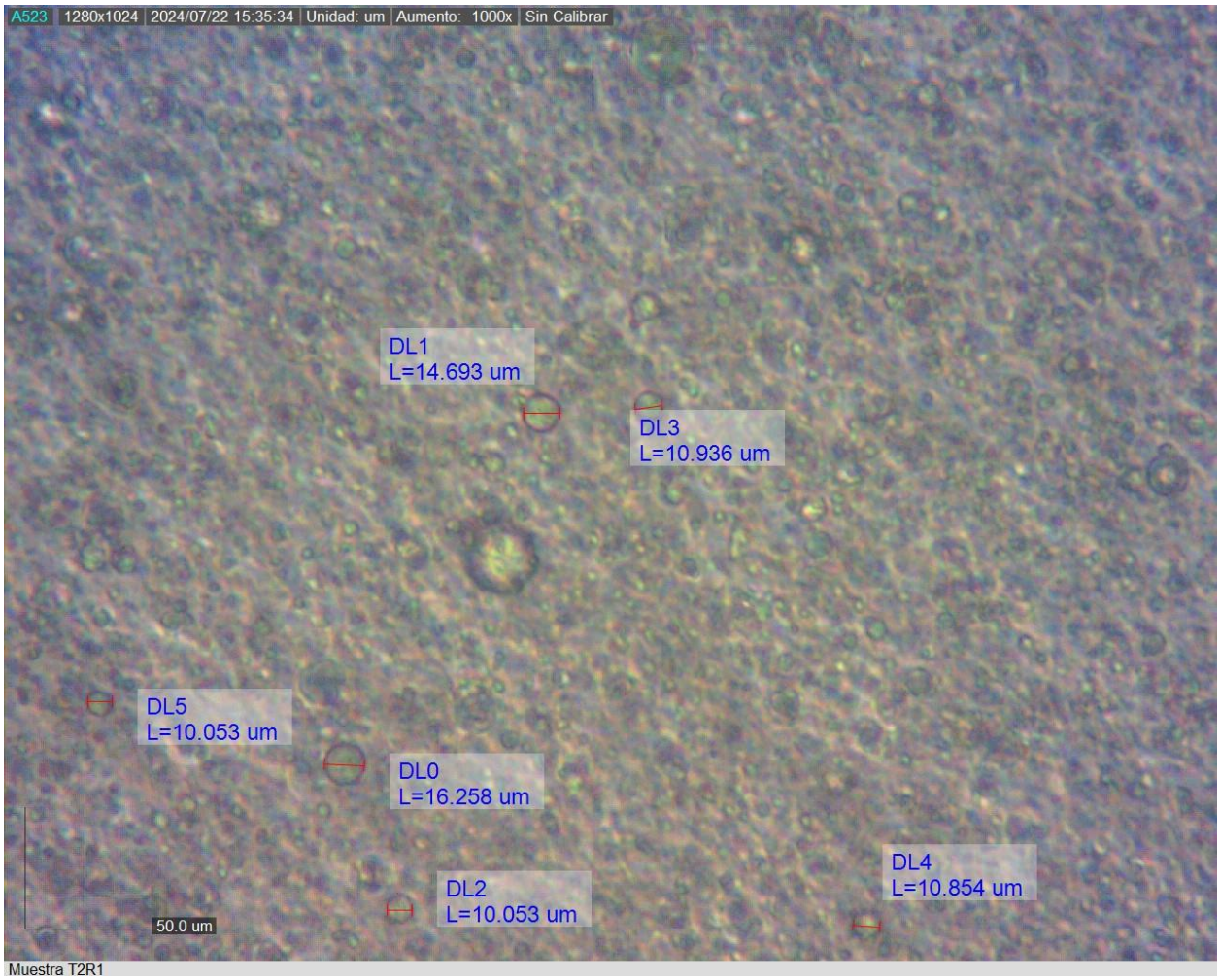
Anexo B

Resultados de tamaño de partícula T1R3, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11



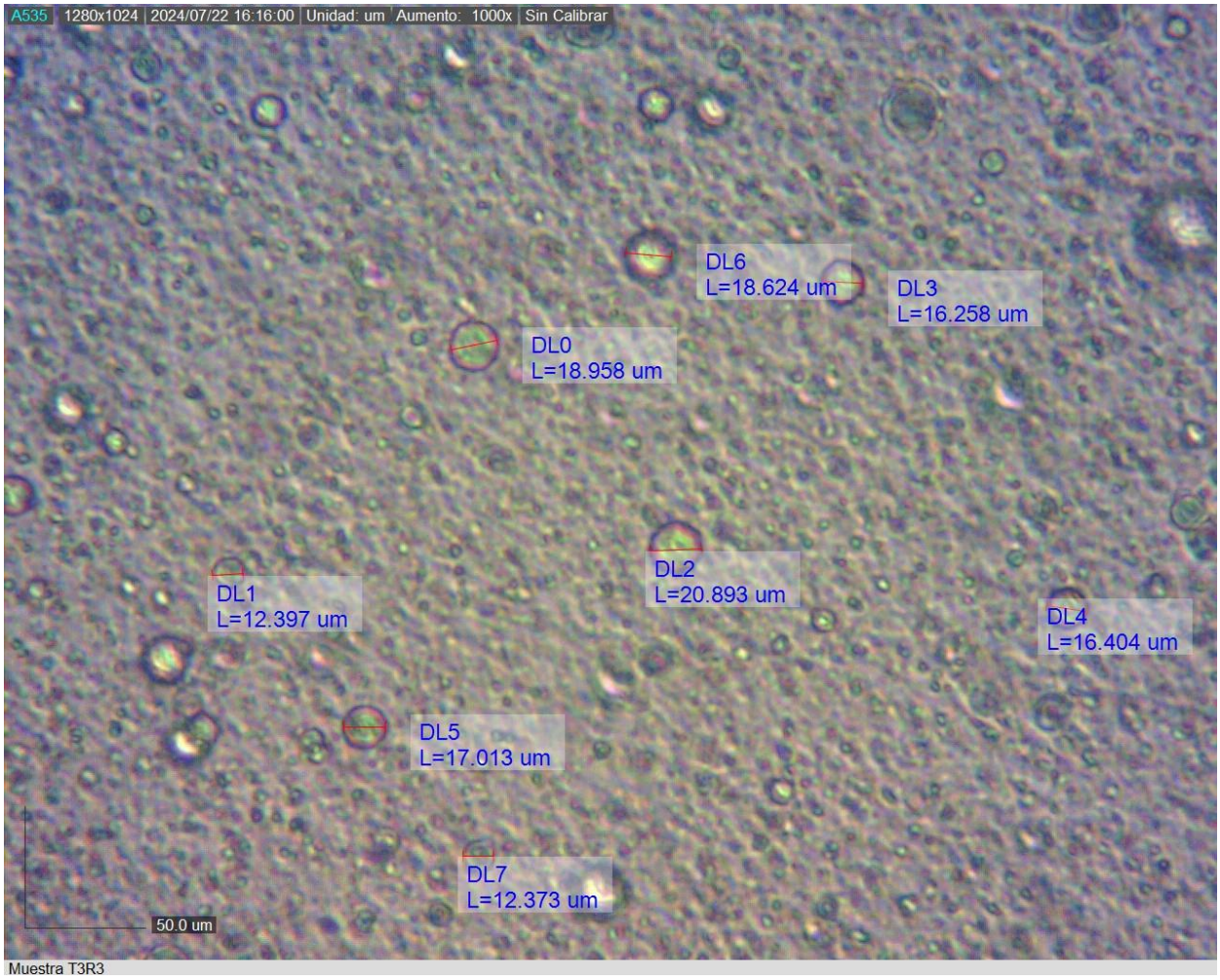
Anexo CC

Resultados de tamaño de partícula T2R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11



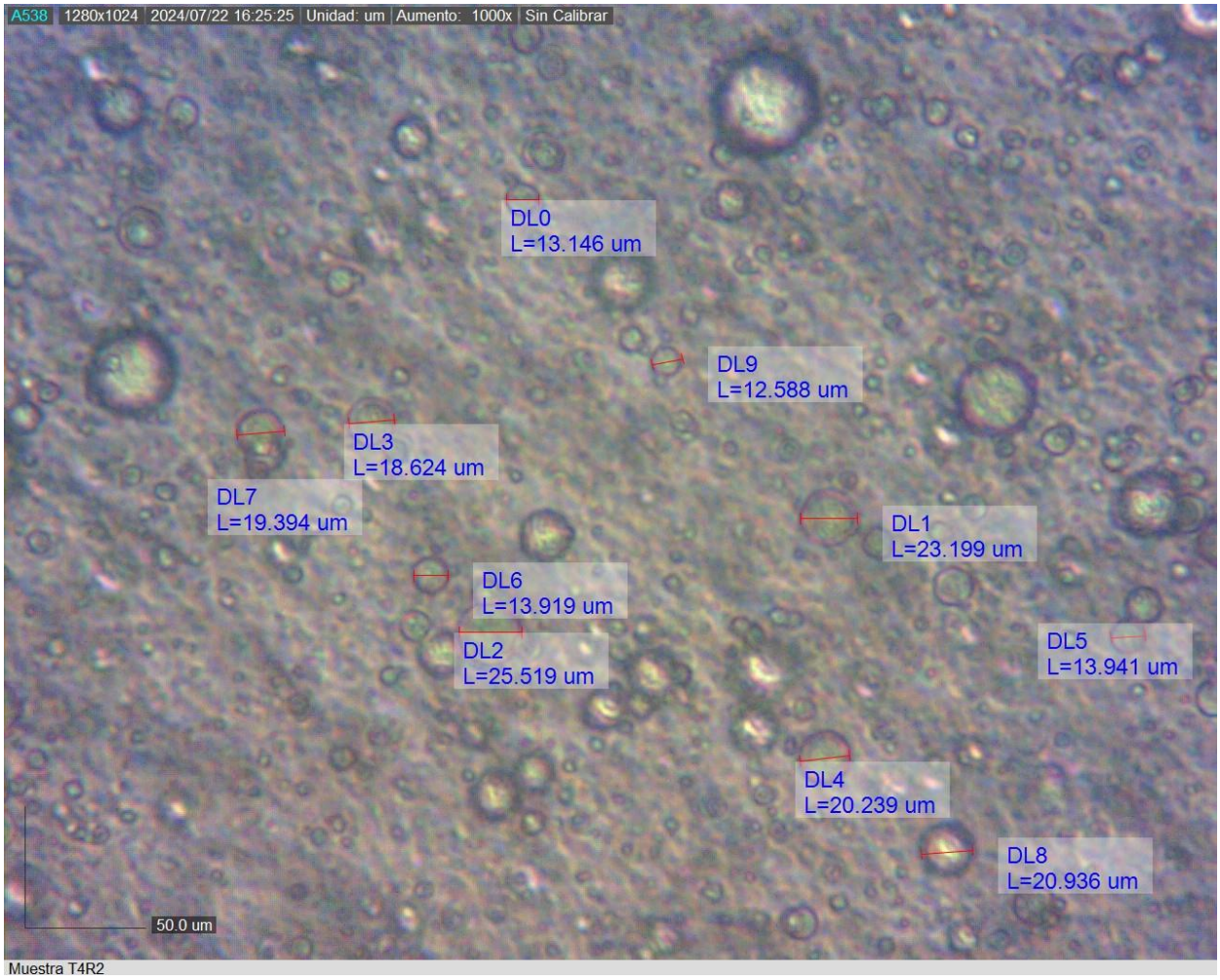
Anexo D

Resultados de tamaño de partícula T3R3, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11



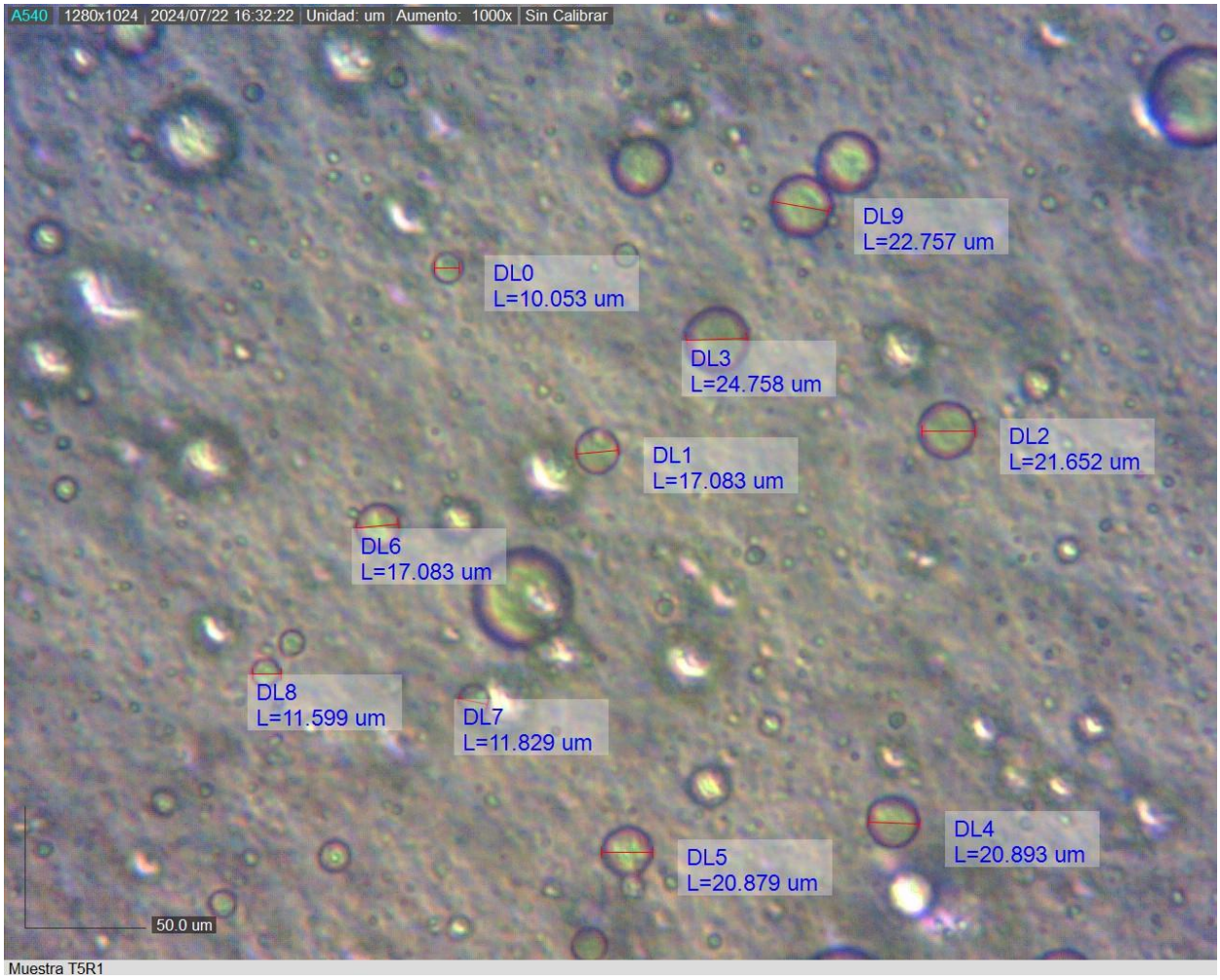
Anexo E

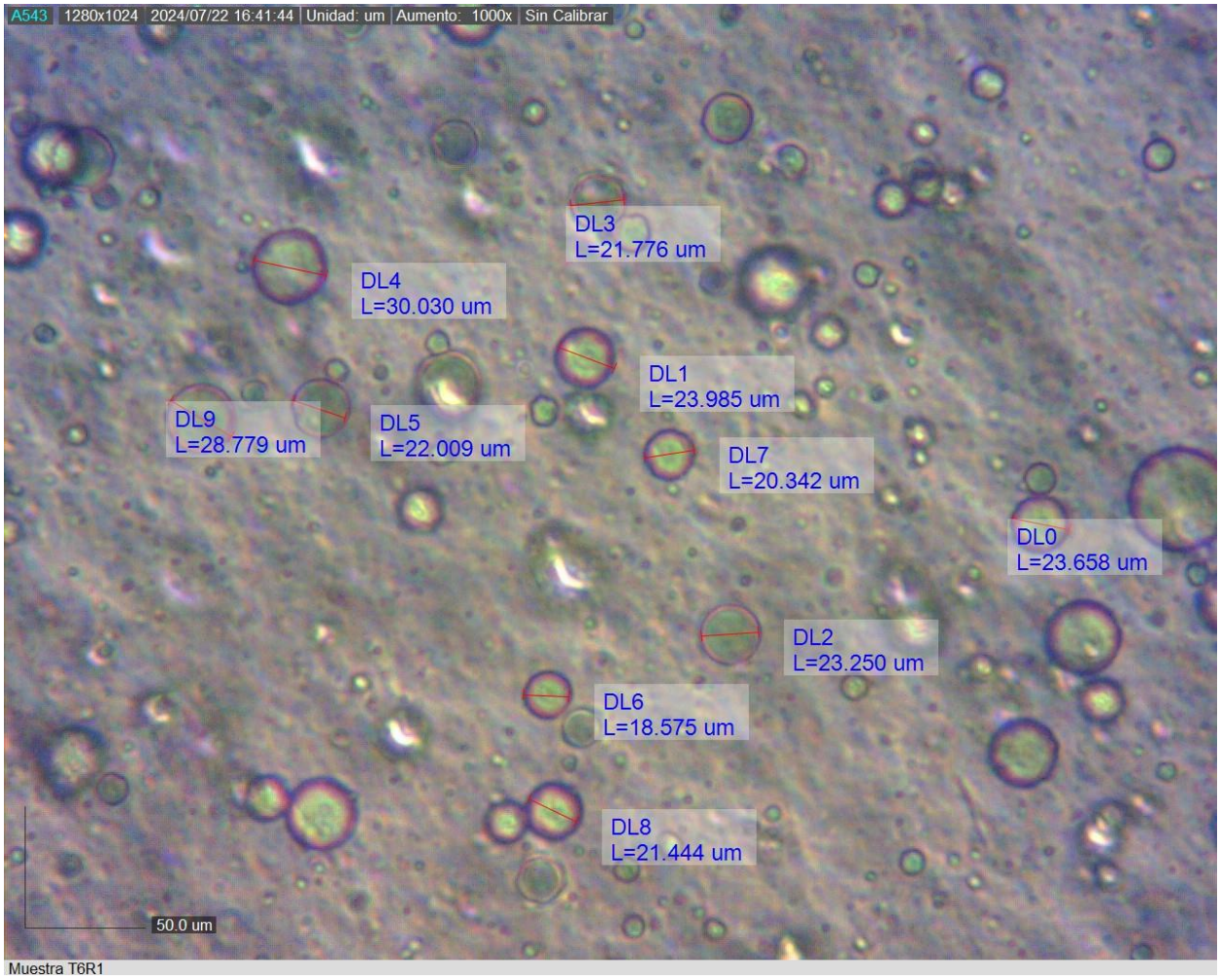
Resultados de tamaño de partícula T4R2, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11



Anexo F

Resultados de tamaño de partícula T5R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11



Anexo G

Resultados de tamaño de partícula T6R1, observados bajo microscopio invertido MSHOT MI11