



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Tesis**

**Inhibición de *Salmonella serovar alban* en lechuga  
mínimamente procesada mediante el uso de una doble  
microemulsión enriquecida con curcumina**

**Que presenta**

L.C.N. Ana Karen Ureña Sepúlveda

**Para obtener el grado de**

Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Directores de Tesis**

Dra. Martha Edith López López

Dr. Misael Odín Vega García

Culiacán, Sinaloa, México

Abril, 2024



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



La presente investigación, titulada “Inhibición *de Salmonella serovar albany* en lechuga mínimamente procesada mediante el uso de una doble microemulsión enriquecida con curcumina”, se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. Misael Odín Vega García y la Dra. Martha Edith López López, contó con la asesoría de la Dra. Ana María Morales Burgos y la Dra. Lidia Elena Ayón Reyna , con la ayuda económica brindada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAHCyT ).

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONAHCyT** por la beca otorgada que me ayudó a realizar mis estudios y concluir con el trabajo de tesis.

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, a la **Facultad de Ciencias Químico-Biológicas** y al **Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos** por darme la oportunidad de ser parte de su equipo y brindarme los recursos necesarios para lograrlo.

A todos los **profesores** de la **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**, les agradezco por sus enseñanzas y consejos impartidos durante mi estancia en este programa académico.

Quiero agradecer principalmente a mis directores, **Dr. Misael Odín Vega García** y **Dra. Martha Edith López López**, primero que nada, por haberme dado la posibilidad de ser parte de su grupo de investigación. Por brindarme su constante y paciente seguimiento durante el desarrollo del presente trabajo. Además, quiero agradecerles por estar al pendiente de mí y del arduo proceso que significó el desarrollo de este proyecto, así mismo por su tiempo invertido en la corrección de éste brindándome su apoyo siempre que fue necesario, muchas gracias por el valioso conocimiento que compartieron conmigo y por ayudar a formarme como investigadora y como persona a través de la paciencia, la educación y el respeto.

Quiero agradecer también a mis asesoras que siempre estuvieron ahí para ayudarme a afrontar cualquier adversidad y resolver mis dudas **Dra. Lidia Elena Ayón Reyna** que siempre estuvo al pendiente. A la **Dra. Ana María morales** y **Dra. Evangelina García Armenta** por ayudarnos a Mizuko y a mí brindándonos su experiencia y conocimientos sobre la formulación de las emulsiones.

A mi compañera **Mizuko** juntas hicimos mancuerna y forjamos una amistad durante ese proceso, muchas gracias por soportarme en mis momentos de estrés y tensión por no obtener los resultados que esperábamos. Por esa montaña de emociones entre felicidad y decepciones que aprendimos a manejar para lograr un ambiente laboral más ameno. Quiero también felicitarte porque este trabajo no es mío, si no de ambas y del resto del equipo posco, **Ana Cristina, Blanca, Carolina, Diana, Eduardo, Ernesto, Gissel, Heidi, Itzel, Jordi, Kevin, Lizeth, Nancy, Vanessa** y **Yaritza**, gracias por toda la ayuda brindada durante la parte experimental.

A mis ex compañeros de trabajo de la Universidad Tecnológica de Culiacán, especialmente a **Laura Sicairos, Marely Figueroa** y **Lizbeth** quienes me apoyaron y me inspiraron al inicio de esta aventura, gracias por creer en mí e impulsarme a seguirme desarrollando en mundo de la ciencia. A mi buen amigo **Anselmo Molina** QEPD quien siempre creyó en mí y mi potencial académico e intelectual, gracias por tantos consejos y platicas motivacionales (más sabe el diablo por viejo que por diablo).

A mi familia, especialmente a mi mamá **Liduvina Sepúlveda Buelna** que ha sido mi guía y uno de mis principales motores en la vida, gracias por enseñarme a no rendirme y motivarme a seguir adelante **TE AMO**. A mi papá **Carlos Arturo Ureña Luna** QEPD quien se esforzó cada día por que todos sus hijos tuvieran un título universitario, sé que donde quiera que estés, estás orgulloso de mí y me esforzaré cada día por llenarte de orgullo. A mi suegra **Martha Castro Correa** por brindarme palabras de aliento y darme ánimo cuando más lo necesitaba.

Y por último quiero agradecer infinitamente a mi esposa y gran amor de mi vida **Marisol Damián Castro** pues sabes que sin tí ni siquiera habría tenido la iniciativa

de ingresar al posgrado, gracias por ayudarme a derribar mis miedos, por hacerme ver lo mucho que valgo y el potencial que tengo, gracias por escucharme una y otra vez hablar de emulsiones, microemulsiones, estabilidad y más, que a pesar que no es tu área, me entendías, escuchabas y brindabas toda tu comprensión y atención en momentos de quiebre, más allá de brindarme paciencia, me brindaste amor, fortaleza y respeto los cuales me impulsaron a seguir adelante y no darme por vencida ante los retos. Agradezco a la vida por ponerte en mí camino ya que sin tu apoyo no hubiera podido llegar hasta aquí.

## DEDICATORIA

*A mi padre querido, quien, aunque no está físicamente presente, lo llevo en mi corazón, tu partida inesperada dejó un gran vacío en mí; sin embargo, sé que te encuentras guiándome en cada paso que doy, como Lavoisier dijo una vez "Nada se pierde, todo se transforma".*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE CUADROS .....	x
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCIÓN .....	5
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	7
A. LECHUGA.....	7
1. Generalidades.....	7
2. Producción de lechuga.....	8
a. Producción mundial .....	8
b. Producción nacional.....	8
4. Características nutricionales .....	11
B. MANEJO POSTCOSECHA.....	13
C. PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS .....	14
1. Problemas bioquímicos y fisiológicos en lechuga mínimamente procesada .....	15
2. Estabilidad microbiológica .....	15
a. <i>Salmonella serovar albany</i> .....	17
D. TECNOLOGÍA POSTCOSECHA PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DE PRODUCTOS MMP .....	20



1. Películas y recubrimientos comestibles .....	20
2. Emulsiones .....	21
3. Microemulsiones múltiples .....	25
a. Formación microemulsiones múltiples .....	25
b. Estabilidad de las microemulsiones múltiples .....	26
4. Incorporación de compuestos antimicrobianos .....	28
c. Cúrcuma y curcumina .....	31
IV. JUSTIFICACIÓN .....	33
V. HIPÓTESIS .....	35
VI. OBJETIVOS .....	36
A. OBJETIVO GENERAL .....	36
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	36
VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
A. MATERIALES .....	37
B. MÉTODOS .....	37
1. ETAPA 1 .....	37
a. Formulación y preparación de las microemulsiones .....	37
1) Formulación de las microemulsión simple (O/W) .....	37
2) Formación de la microemulsión doble (O/W/O) .....	38
b. Caracterización de las microemulsiones .....	39

1) Monitoreo de la estabilidad macroscópica y microscópica.....	39
2) pH .....	39
3) Color .....	40
4) Tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI).....	40
c. Aislamiento y preparación de inóculo de la bacteria <i>S. serovar albany</i> .....	40
1) Evaluación de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> .....	41
2. ETAPA 2 .....	42
a. Proceso de elaboración de la lechuga MMP .....	42
b. Inoculación de la lechuga MMP .....	43
c. Aplicación de los tratamientos para evaluación de la actividad antimicrobiana <i>in vivo</i> .....	43
d. Actividad antibacteriana <i>in vivo</i> de los tratamientos.....	44
e. Actividad antibacteriana <i>in vivo</i> de los tratamientos.....	46
f. Parámetros de calidad .....	46
1) Pérdida de peso .....	47
2) Color .....	47
3) Firmeza .....	48
g. Evaluación sensorial .....	48
h. Compuestos bioactivos .....	49
1) Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	49

i. Capacidad antioxidante.....	49
i. Diseño estadístico.....	51
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	53
A. FORMULACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES .....	53
1. Formulación de la microemulsion simple (O/W).....	53
B. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES DE CURCUMINA ....	61
1. Parámetro de color .....	61
2. Monitoreo de pH .....	66
3. Índice de polidispersión y tamaño de partícula .....	69
C. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>IN VITRO</i> .....	76
D. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>IN VIVO</i> .....	80
1. Recuento e inhibición de <i>Salmonella serovar albanys</i> .....	80
2. Mesófilos aerobios .....	84
E. ANÁLISIS DE CALIDAD .....	87
1. Pérdida de peso.....	87
2. Color .....	91
a. Valor L* .....	91
b. Valor a* .....	93
c. Valor b* .....	95
3. Firmeza .....	98

D. EVALUACION SENSORIAL.....	101
E. COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	103
1. Fenoles totales.....	103
2. Capacidad antioxidante .....	106
a. ABTS .....	106
b. DPPH.....	109
X. CONCLUSIONES.....	113
XI BIBLIOGRAFÍA.....	115
XII ABREVIATURAS.....	146
XII ANEXOS.....	149

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Diseño experimental fase 1.	45
2	Monitoreo macroscópico de la estabilidad de la microemulsión simple formulada con caseinato de calcio (MCC-CAS).	55
3	Monitoreo macroscópico de la estabilidad de la microemulsión simple con curcumina formulada con glicerol (MCC-GLI2).	57
4	Monitoreo macroscópico de la estabilidad de la microemulsiones dobles A) DMCC-CAS) B) DMCC-GLI2.	60
5	Comportamiento del pH de las microemulsiones durante su almacenamiento a 4 °C durante 10 días.	67
6	Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con glicerol 10% FO.	70
7	Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con glicerol 5% FO.	71
8	Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con caseinato de calcio.	72
9	Microscopía de las microemulsiones dobles con glicerina.	74
10		75

	Microscopía de las microemulsiones dobles con caseinato de calcio	
11	Crecimiento de <i>Salmonella serovar albany</i> (UFC/g) durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada.	81
12	Recuento de mesófilos aerobios (UFC/g) durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana MMP.	85
13	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre el porcentaje de pérdida de peso (%PP) en lechuga cv. romana MMP	89
14	Efecto de la aplicación de microemulsiones sobre los valores de L* durante el almacenamiento a 5 °C.	92
15	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores de a* durante el almacenamiento a 5 °C	94
16	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores valores de b* durante el almacenamiento a 5 °C	96
17	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores de firmeza (N).	99
18	Aceptabilidad promedio de los atributos de color, olor, sabor y textura para tratamientos control (sin aplicación), MCC: y DMCC	102

19	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre el contenido de fenólicos totales durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada.	104
20	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre la capacidad antioxidante obtenida por el método de ABTS durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada	107 111
21	Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre la capacidad antioxidante obtenida por el método de DPPH durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada	110

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Principales estados productores de lechuga en México en el año 2021.	10
2	Contenido de nutrientes por cada 100 g de lechuga.	12
3	Componentes comunes empleados para la formulación de emulsiones.	24
4	Aplicación de recubrimientos comestibles adicionados con agentes antimicrobianos.	30
5	Valores de Luminosidad para cada formulación al inicio del almacenamiento.	62
6	Valores de ángulo Hue para cada formulación al inicio del almacenamiento.	65
7	Diámetros de zona de inhibición de <i>Salmonella serovar albany</i> .	77



## I. RESUMEN

La demanda actual de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas ha ido en aumento, siendo la lechuga una de las hortalizas más demandadas en el mercado de los productos mínimamente procesados. Sin embargo, al ser productos que se consumen crudos, son propensos a causar brotes de enfermedades alimentarias causadas por bacterias, tales como Salmonelosis, además de que el proceso de corte disminuye su vida útil; dando como iniciativa la búsqueda de tecnologías que permitan inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y a su vez alargar su vida comercial, manteniendo sus características fisicoquímicas y nutricionales. Los recubrimientos y las películas comestibles adicionadas con agentes antimicrobianos han sido utilizados como conservadores en alimentos hortofrutícolas; sin embargo, la estabilidad baja, la degradación y oxidación de sus componentes afectan su actividad antimicrobiana. La formulación de una doble microemulsión adicionada con curcumina es una alternativa poco estudiada para contrarrestar la problemática antes citada, por lo que representa un área de oportunidad en la industria alimentaria. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue formular y evaluar el efecto de una doble microemulsión con curcumina sobre el desarrollo *Salmonella serovar albany*, la calidad, el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en lechuga mínimamente procesada. El estudio se llevó a cabo en dos etapas: La primera consistió en la formulación y caracterización de microemulsiones simples y dobles enriquecidas con curcumina para seleccionar las mejores en base a su estabilidad y efecto bactericida contra *S. serovar albany in vitro*, obteniéndose así para la segunda etapa la aplicación de 6 tratamientos: control (sin tratar), hipoclorito

de sodio (NaClO) al 0.02%, microemulsión simple sin curcumina (MSC), microemulsión simple con curcumina (MCC), microemulsión doble sin curcumina (DMSC), doble microemulsión con curcumina (DMCC). Las hojas de lechuga fueron empacadas y almacenadas a 5 °C por un periodo de 18 días con retiros cada 3 días. Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la inhibición de *S. serovar albany* en lechuga MMP inoculada artificialmente, así como el desarrollo de microorganismos mesófilos aerobios, los parámetros de calidad (pérdida de peso, color, firmeza y análisis sensorial), el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en lechuga MMP sin inocular.

Los tratamientos MCC Y DMCC presentaron mayor actividad antimicrobiana contra *S. serovar albany*. Los tratamientos MCC y DMCC disminuyeron significativamente la población de mesófilos aerobios y mostraron una mayor retención de peso, color y firmeza que el resto de los tratamientos en hojas de lechuga. Las características sensoriales de hojas de lechuga tratada no fueron afectadas por la aplicación de los tratamientos MCC y DMCC con respecto al grupo control. Los tratamientos MCC y DMCC incrementaron el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el almacenamiento. En general los tratamientos MCC y DMCC demostraron ser una alternativa viable para garantizar la inocuidad de lechuga MMP manteniendo la calidad e incrementando el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en lechuga MMP almacenada a 5 °C por 18 días

## ABSTRACT

The current demand for fresh and ready-to-eat products, especially fruits and vegetables, has brought with it an increase market for minimally processed products. Lettuce being one of the most demanded vegetables in the market for minimally processed products. However, as being products that are consumed raw, they are food-cause disease outbreaks such as Salmonellosis, in addition to the fact that the cutting process decreases their shelf life; Taking as an initiative the search for technologies that inhibit the development of pathogenic microorganisms and at the same time extend their commercial life, maintaining their physicochemical and nutritional characteristics. Edible coatings and films added with antimicrobial agents have been used as preservatives in fruit and vegetable foods; However, the low stability, degradation and oxidation of its components affect its antimicrobial activity. The formulation of a double microemulsion added with curcumin is a little-studied alternative to counteract the problem, so it represents an area of opportunity in the food industry. Based on the above, the objective of this work was to formulate and evaluate the effect of a double microemulsion with curcumin on the development of *Salmonella serovar albania*, quality, content of bioactive compounds and antioxidant capacity in minimally processed lettuce. The study was carried out in two stages: The first consisted of the formulation and characterization of single and double microemulsions enriched with curcumin to select the best ones based on their stability and bactericidal effect against *S. serovar albania in vitro*, thus obtaining for the second stage the application of 6 treatments: control (untreated), 0.02% sodium hypochlorite (NaClO), single microemulsion without curcumin (MSC), single microemulsion with

curcumin (MCC), double microemulsion without curcumin (DMSC), double microemulsion with curcumin (DMCC). The lettuce leaves were packed and stored at 5 °C for a period of 18 days with recalls every 3 days. The effect of the treatments on the inhibition of *S. serovar albanus* in artificially inoculated MMP lettuce was evaluated, as well as the development of aerobic mesophilic microorganisms, quality parameters (weight loss, color, firmness, and sensory analysis), the content of bioactive compounds and antioxidant activity in uninoculated MP lettuce.

MCC Y DMCC treatments showed antimicrobial activity against *S. serovar albanus*. The MCC and DMCC treatments significantly decreased the aerobic mesophile population and showed greater weight retention, color, and firmness than the rest of the treatments on lettuce leaves. The sensory characteristics of treated lettuce leaves were not affected by the application of MCC and DMCC treatments with respect to the control group. MCC and DMCC treatments increased phenolic compound content and antioxidant capacity during storage. Overall, MCC and DMCC treatments proved to be a viable alternative to ensure the safety of MMP lettuce by maintaining quality and increasing the content of bioactive compounds and antioxidant activity in MMP lettuce stored at 5 °C for 18 days.

## II. INTRODUCCIÓN

El estilo de vida moderno ha incrementado la demanda de alimentos frescos y listos para consumir, especialmente frutas y hortalizas, valorizando el mercado de productos mínimamente procesados (MMP). La lechuga, un vegetal de gran consumo en el mercado, se encuentra en el grupo de alimentos que se consumen crudos, es decir, no se somete a ningún proceso previo de cocción o hervido, lo que la hace susceptible a causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). muchos patógenos pueden sobrevivir largos periodos de tiempo en frutas y verduras frescas resistiendo a los procesos de desinfección convencionales, lo que obliga a extremar las buenas condiciones de manipulación, así como aplicar otras técnicas que permitan asegurar la inhibición microbiana (Cortez-Higareda y col., 2021).

Actualmente, existe un creciente interés por el uso de aditivos naturales en la formulación de alimentos. Por lo que, se han diseñado una serie de recubrimientos comestibles (RC) cuyas matrices están elaboradas de materiales que poseen la capacidad de relentificar la tasa de respiración, la transferencia de humedad, el intercambio de gases y con ello la disminución de los trastornos fisiológicos de las frutas y hortalizas en las que son aplicados (Espino-Díaz y col., 2010; Restrepo y Aristizába y col.,2010; Al-Tayyar y col., 2020). No obstante, se considera que las características y funcionalidad de los RC aún presentan deficiencias por lo que se busca incorporar nuevos aditivos a la matriz con el objetivo de obtener materiales seguros, funcionales y con características mejoradas. Diversos autores han incorporado compuestos activos con propiedades antimicrobianas a la matriz como alternativa al uso de bactericidas químicos; sin embargo, el efecto protector

antimicrobiano de algunos compuestos bioactivos se ve limitado por su fácil degradación y sensibilidad a factores medioambientales.

De acuerdo con Núñez Solano y col. (2020) la curcumina reporta actividad antimicrobiana, así como numerosos efectos terapéuticos como antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos (Mesa y col., 2000; Vistel-Vigo y col., 2003). Por lo que, al ser un componente seguro podría ser incorporado a un RC; a pesar de esto, posee pobre solubilidad en agua limitando su incorporación. Por otro lado, se ha reportado una mayor estabilidad del compuesto activo mediante el uso de microemulsiones (Solans y col., 2005). Sin embargo, a pesar de ser encapsulados estos compuestos son sensibles a factores físicos, químicos y/o enzimáticos por lo que sus propiedades pueden minimizarse o anularse después de un tiempo (Badillo-Solis y col., 2021).

Las microemulsiones múltiples permiten encapsular y proteger diversas sustancias permitiendo una liberación controlada del interior de una fase a otra. Este tipo de emulsión ha sido utilizada en la industria farmacéutica y cosmética como método de encapsulación de compuestos bioactivos permitiendo proteger y prolongar su actividad (Dickinson, 2011). No obstante, en la literatura no se han encontrado reportes sobre el uso de microemulsiones dobles en productos MMP. Por lo mencionado anteriormente, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano de una microemulsión doble con curcumina sobre el desarrollo de *Salmonella serovar alban* la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial en lechuga mínimamente procesada.

### **III. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

#### **A. LECHUGA**

##### **1. Generalidades**

La lechuga es una hortaliza de hoja verde procedente de la India y Asia central. Los cultivos de lechuga se remontan a 2,500 años de antigüedad y las primeras de las que se tiene referencia son las de hoja suelta. La lechuga abarca más de 1,000 géneros y 20,000 especies de las cuales actualmente muy pocas son cultivadas. En México, las variedades de lechuga más producidas son la Roamana e Iceberg que en conjunto representan el 98% de la cosecha nacional de esta hortaliza (González, 2004).

Por su naturaleza, las hortalizas de hoja están expuestas a daños que se presentan principalmente en periodo poscosecha causados por diversos factores entre los que destacan, procesos fisiológicos, ataques microbiológicos y daños físicos que ocasionan pérdidas que pueden alcanzar hasta un 50% de la producción mundial (Perumal y col., 2022).

La corta vida de anaquel de la lechuga se debe principalmente a la deshidratación, presentando pérdidas de turgencia y amarillamiento causado por la degradación de la clorofila haciéndola poco atractiva para el consumidor. Otro factor de deterioro es el oscurecimiento enzimático que da un aspecto desagradable al producto (Galaviz-Venegas y col., 2010).

## **2. Producción de lechuga**

### **a. Producción mundial**

Durante el año 2021 se produjeron mundialmente 270,000,000 ton de lechuga; siendo China el principal productor con 14,363,505.51 ton, seguido de Estados Unidos con 3,395,480 ton y en tercera posición India con 1,129,374.25 ton. México se clasifica como el noveno país productor de lechuga, con una producción aproximada de 509,084.12 ton (FAOSTAT, 2024).

### **b. Producción nacional**

De acuerdo con registros de la SAGARPA (2023), son 21 los estados productores de lechuga en el país. En 2021 se produjo en México un total de 509,084.12 ton de lechuga siendo los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla los principales productores generando un total de 299,855.74 ton lo que representa el 58.90% de la producción nacional de este vegetal (**Cuadro 1**) siendo las variedades romana e iceberg las de mayor producción a nivel nacional. La producción de lechuga en México permite que se encuentre disponible durante todo el año; sin embargo, hay mayor disponibilidad en los periodos de febrero a abril y de julio a agosto (SIAP, 2023).

Alrededor del 48% de la producción nacional de lechuga se exporta a países como Estados Unidos, Canadá y Japón, en 2021 México exportó 461,000 ton convirtiéndolo en el tercer país con mayor exportación de lechuga a nivel mundial; asimismo, en el año 2023 se observó un incremento de 3.1% del valor de esta hortaliza (SAGARPA, 2023; GCMA, 2023).



**Cuadro 1.** Principales estados productores de lechuga en México en el año 2021.

<b>Estado</b>	<b>Producción (ton)</b>
Guanajuato	137,860.73
Zacatecas	96,096.61
Puebla	65,898.40
Aguascalientes	65,217.43
Baja California	31,702.74
Sonora	23,629.03
Querétaro	20,807.85
Michoacán	13,987.99
San Luis Potosí	13,663.13
Tlaxcala	13,387.00
<b>Total</b>	<b>482,250.91</b>

Fuente: SIAP (2023).

### **3. Características organolépticas**

La calidad de los frutos es una combinación de factores extrínsecos e intrínsecos (color, sabor, olor, textura, forma, etc.) que convergen para formar una unidad. La calidad puede clasificarse en nutricional, organoléptica y sanitaria. La organoléptica depende de factores que se pueden percibir mediante los sentidos; la nutricional hace referencia a la contribución de dicho alimento al aporte total de nutrientes de la dieta, mientras que la sanitaria se basa en la presencia o no de agentes tóxicos endógenos y exógenos que atentan contra la salud del consumidor (Bruhn, 2007; Cámara y col., 2008).

La calidad de la lechuga se basa en que el cogollo debe tener un diámetro entre 14 y 16 cm y un peso aproximado de 300 g; este, además, debe ser compacto, pero ni duro ni blando y de color verde brillante, las hojas deben estar enteras, adheridas y sin manchas. Al momento de cortar la cabeza debe observarse poca presencia de látex natural (Cantwell, 2002).

Entre las propiedades organolépticas de la lechuga más importantes se encuentran características de color y textura ya que se pueden presentar de hojas verdes o moradas, lisas o crespas, dependiendo de la variedad; además, deben ser crocantes y sin rastro de enfermedades o necrosidades. En cuanto a la forma, ésta debe ser más o menos redondeada según la variedad y de tamaño que va de 20 a 30 cm de diámetro, según la variedad a que pertenezca. Los cogollos tienen un diámetro cercano a los 10 cm. Esta hortaliza pesa en promedio 500 gramos, dependiendo de la variedad y estado de madurez. En cuanto al color generalmente

son de color verde, aunque algunas variedades presentan hojas blanquecinas o incluso rojizas o marrones. Su sabor es suave, agradable y fresco por lo que tienen alta aceptabilidad por parte del consumidor. Por otra parte, el sabor de los cogollos es algo más intenso y amargo que el de las hojas de lechuga y su pH se encuentra entre 5.76 – 6.55 (Ureña y Campoverde., 2010).

#### **4. Características nutricionales**

De acuerdo con datos de la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, la lechuga es un vegetal con un aporte calórico bajo (13 kcal por cada 100 g), y esto puede estar relacionado por su contenido alto de agua y poca cantidad de carbohidratos, proteínas y lípidos. Su contenido de vitaminas es poco significativo ya que presenta un contenido bajo de vitamina C, vitamina E, folatos, tiamina y provitamina A ( $\beta$ -carotenos), éstos varían en función del tipo de lechuga siendo la lechuga romana la variedad más rica en vitaminas. El aporte de minerales tampoco resulta especialmente significativo, aunque sí posee pequeñas cantidades de fósforo, potasio, hierro y calcio. En las hojas externas de la lechuga se concentra la mayor cantidad de vitaminas y minerales (Montesdeoca, 2008).

La lechuga también posee propiedades medicinales ya que es refrescante, digestiva y es reconocida por proporcionar un efecto calmante debido a que presenta ciertas sustancias como lactucina y lactucopicrina, por lo que puede proporcionar efectos relajantes y disminución de insomnio; además, actúa como diurético lo que disminuye la retención de líquidos y mejora la circulación (Valdés, 2015; Jaramillo y col., 2016).

**Cuadro 2.** Contenido de nutrientes por cada 100 g de lechuga.

<b>Componente</b>	<b>Contenido</b>
Energía	13 kcal
Agua	96.0 g
Proteína	0.8 g
Lípidos totales	0.1 g
Carbohidratos	1.2 g
Fibra dietética	1.0 g
Potasio	252.00 mg
Fosforo	23.00 mg
Vitamina C	8.00 mg
Vitamina B9	0.08 mg
Magnesio	13.00 mg
Calcio	36 mg
Sodio	28 mg
Magnesio	13 mg

Fuente: USDA (2020).

## **B. MANEJO POSTCOSECHA**

La calidad de las lechuga después de la cosecha está fuertemente influenciada por la temperatura, para mantener sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales, es crucial que la temperatura disminuya rápidamente tras la recolección. Por lo tanto, el proceso de pre-enfriamiento desempeña un papel fundamental para garantizar una calidad óptima del producto, este factor se relaciona de manera directa con el metabolismo del vegetal ya que a mayor temperatura se acelera la tasa de respiración y con ello se agotan las reservas acortando el tiempo de vida de anaquel. Al momento del empacado es necesario establecer procesos de enfriamiento que logren controlar y mantener la temperatura entre 0 y 1 °C, técnicas como enfriamiento por vacío son comúnmente utilizadas en hortalizas; sin embargo, también pueden emplearse técnicas de enfriamiento con aire forzado (Suslow y Cantwel, 2013).

Durante la cadena de producción se deben controlar las fluctuaciones de temperatura manteniéndose en un rango menor a 10 °C (Tirpanalan y col., 2011). Posteriormente en etapa de comercialización la temperatura de almacenamiento no debe superar los 5 °C. Se ha identificado que temperaturas mayores favorecen el desarrollo microbiano, incrementando el recuento total en placa. Esto incrementa el riesgo de brotes de enfermedades de origen alimentario. La vida útil de lechuga se ve limitada por la presencia de microorganismos, pérdida de textura, reacciones de oscurecimiento y desarrollo de olores indeseables (Gutiérrez y col., 2016).

### **C. PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS**

La creciente demanda de los productos frescos (frutas y hortalizas) y el ritmo de vida acelerado ha promovido el consumo de productos mínimamente procesados, comercialmente llamados de “IV Gama”, los cuales se definen como frutas y hortalizas que son sometidos a procesos de limpieza y desinfección, pelado, cortado, rallado o troceado, envasado y almacenado en refrigeración, conservando su apariencia fresca durante algunos días de acuerdo con las características del producto (Galaviz-Venegas y col., 2010).

La venta y producción de alimentos de “IV Gama” se encuentra en crecimiento constante, atrayendo el interés de diversas ramas del sector alimentario, incluyendo la industria restaurantera, de ahí que se busque lograr productos frescos, de buena calidad que conserven sus características nutricionales y sensoriales, pero a su vez sean microbiológicamente seguros para el consumidor. Obtener un producto con las características que exige el consumidor es un reto para el desarrollo científico e industrial, por lo que se deben cuidar y controlar todos los aspectos que disminuyan la calidad (Rojas, 2007).

Las frutas y hortaliza MMP, son productos elaborados mediante una serie de operaciones unitarias (selección, lavado, desinfección, pelado, corte, etc.) Una vez empacados estos productos deben ser conservados y distribuidos en condiciones de refrigeración (2-7 °C) y deben ser consumidos en un periodo de vida útil de entre 5 a 10 días dependiendo del producto (Gil y Kader, 2008; Plaza y col., 2013).

La calidad de los productos vegetales listos para consumir es el resultado de una compleja combinación de propiedades. Algunas de estas propiedades están

relacionadas con los atributos del producto inicial. Es muy importante el análisis de la variedad o cultivar a procesar, ya que cada variedad posee distintas características inherentes (tales como color, olor, firmeza, sabor y valor nutricional) y por ende presenta diferentes respuestas como consecuencia del procesamiento y almacenamiento posterior (Diezma, 2016).

### **1. Problemas bioquímicos y fisiológicos en lechuga mínimamente procesada**

Los productos mínimamente procesados sufren de deterioro debido a un incremento en su metabolismo, ya que los cortes causados durante el procesamiento dan lugar al rompimiento celular que da origen a diversas alteraciones bioquímicas como el oscurecimiento enzimático, aparición de olores desagradables y pérdida de textura. Además, los cortes provocan degradación de membrana celular, pérdida de agua, producción de nuevas sustancias que inducen cambios en la producción de gases resultando en la disminución inicial de O<sub>2</sub> y aumento en los niveles de CO<sub>2</sub>. Estos cambios pueden acelerar el proceso de madurez, alterar el metabolismo fenólico, e incrementar la senescencia del tejido, lo que desencadena cambios en las características organolépticas del producto, como oscurecimiento, ablandamiento y pérdida de su sabor característico. A su vez, el corte los vuelve más susceptibles al ataque por microorganismos (Defilippi y Campos, 2006; Diezma, 2016).

### **2. Estabilidad microbiológica**

La carga bacteriana es un criterio de calidad determinante de la vida poscosecha de productos frescos mínimamente procesados. El proceso de sanitización y la aplicación de aditivos después del corte pueden reducir el

crecimiento microbiano, se ha observado una correlación positiva entre el periodo de vida poscosecha de productos MMP y una presencia baja de microorganismos en el alimento. La norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994 y la regulación española RD 3484/2000 UFC/g establecen límites microbiológicos no mayores a  $1.5 \times 10^5$  UFC/g y  $1 \times 10^7$ , respectivamente, para poblaciones de mesófilos aerobios en frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas a lo largo de la comercialización útil del alimento.

Existen factores que condicionan la calidad microbiológica de los productos mínimamente procesados, factores como la composición, propiedades fisicoquímicas y procesamiento determinan la contaminación durante el almacenamiento. De tal forma que la microflora inicial constituida principalmente por hongos es sustituida por bacterias. La lechuga es un alimento con una elevada carga bacteriana, no solo porque se cultivan en los suelos, sino también porque su consumo es de forma directa, es decir, no se someten a ningún tratamiento térmico previo a la ingesta con capacidad para eliminar posibles patógenos (Gimferrer, 2012).

Las frutas y hortalizas cortadas con pH mayor a 4.6 y  $a_w$  mayor a 0.85 son altamente perecederas si no son intervenidas mediante tecnologías de preservación para retardar cambios biológicos y bioquímicos. La lechuga presenta un pH alto y una  $a_w$  de 0.96 por lo que la acidificación de la superficie del producto es recomendada para asegurar su inocuidad frente a patógenos (FAO, 2003; Galaviz-Venegas y col., 2010). Las hojas de ensalada también están sujetas a la colonización por patógenos entéricos, con mayor frecuencia *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (Castro-Rosas y col., 2006; Olaimat y Holley, 2012).



El reglamento (CE) no. 1441/2007 establece que los productos frescos mínimamente procesados pueden favorecer el desarrollo del género *Salmonella*, por lo tanto, en productos hortofrutícolas mínimamente procesados debe estar ausente (*Salmonella* spp) en 25 g de producto a lo largo de su vida útil.

**a. *Salmonella serovar alban***

*Salmonella* es una enterobacteria de tipo gram negativa, no formadora de esporas, anaerobia facultativa, móvil por sus flagelos peritricos (con excepción de *S. enterica Gallinarum* y *Pullorum*) y con una temperatura óptima de crecimiento entre los 5 y 38 °C. Este microorganismo patógeno se encuentra dentro del grupo con más incidencia en causar infecciones gastrointestinales en humanos provenientes de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas (Forsythe, 2011).

*Salmonella* muestra quimiotaxis hacia los exudados de las raíces y se descubrió que coloniza el interior de las plantas de tomate que se cultivaron hidropónicamente, *Salmonella* también es capaz de colonizar tejidos de plantas verdes, así como superficie de vegetales de hoja . Se cree que la contaminación de los productos frescos para ensaladas por esta bacteria se produce a través del contacto con animales o insectos, el suelo, las aguas de riego y de lavado mediante el uso de aguas contaminadas y la falta de higiene en los equipos y la manipulación humana (Gou y col., 2001; Schikora y col., 2008; Córdoba y col., 2021).

Los métodos para el control del crecimiento de patógenos en productos mínimamente procesados incluyen la refrigeración inmediata después de la cosecha, el procesamiento y empaquetado rápido en atmósferas modificadas. Sin embargo, a

pesar de los esfuerzos aún ocurren infecciones asociadas con vegetales mínimamente procesados (Garret, 2002; Olaimat y Holley, 2012).

En cuanto a la carga para el sector salud, en el año 2008 las hojas de arúgula listas para comer en bolsas causaron un brote de salmonelosis por *Salmonella enterica serovar Thompson* en el Reino Unido y Escandinavia (Nygård y col., 2008). Así mismo, en el año 2014 se reportaron brotes de *Salmonella* por soya contaminada que afectaron a más de 100 personas (FDA, 2016). Posteriormente, en el año 2016 surgió un brote de salmonelosis en Australia que afectó a más de 50 personas después de consumir lechuga MMP (Beech, 2016).

En los últimos años, se han identificado diversos brotes de *Salmonella* derivado de consumo de productos hortofrutícolas que involucran a México. En 2017, la FDA identificó papayas contaminadas con *Salmonella* provenientes de tres diferentes fincas situadas en diversos estados de la república mexicana (FDA, 2017). Por otro lado, en 2016 el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades informó la comercialización de pepinos contaminados con *S. poona* originarios de México los cuales afectaron la salud de más de 904 personas (CDC-FDA, 2016). En 2020, Estados Unidos de América detectó *Salmonella enteritidis* en duraznos procedentes de dicho país que fueron exportados a México por lo que COFEPRIS emitió una alerta para su retiro en mercados mexicanos. Posteriormente, en 2021 se realizó una investigación derivada de un brote de salmonelosis provocada por el consumo de cebollas frescas contaminadas con *Salmonella* exportadas por México que afectó a 600 personas en Estados Unidos (CDC-FDA, 2021).

De 2010 a 2021, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección General de Epidemiología (SINAVE-DGE) de la Secretaría de Salud de México reportó 975,321 infecciones por *Salmonella sp.* en humanos que consumieron alimentos contaminados de origen vegetal (SINAVE-DGE-SSM, 2021). A su vez, el Panel de Riesgos Biológicos de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha identificado a las ensaladas de hojas verdes como una de las principales fuentes de infecciones transmitidas por alimentos en la Unión Europea, donde aproximadamente el 30% de los casos son relacionados a brotes de *Salmonella sp.* (EFSA, 2013). La contaminación de productos frescos es un problema de alerta sanitaria. Su control es cada vez más complejo debido a que, con el paso de los años, han desarrollado resistencia a diversos antibióticos que controlan infecciones gastrointestinales como la Salmonelosis (EFSA, 2022).

Durante la elaboración de productos frescos mínimamente procesados es importante implementar tecnologías que permitan preservar la calidad e inocuidad, impidiendo la multiplicación y crecimiento de bacterias patógenas para el ser humano. En las últimas décadas, la salmonelosis ha sido un problema importante en la industria agroalimentaria y ha alcanzado proporciones epidémicas en varios países. Este aumento se debe a una combinación de factores relacionados con el desarrollo industrial en todas las fases de producción de alimentos, cambios en la práctica del manejo de estos, así como el almacenamiento, distribución y preparación de los productos. Estos cambios han provocado nuevos problemas en la higiene de los alimentos, lo que ha facilitado la diseminación de *Salmonella* (Cheng y col., 2019; Jajere 2019).

## **D. TECNOLOGÍA POSTCOSECHA PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DE PRODUCTOS MMP**

Con el objetivo de evitar o minimizar los efectos negativos provocados en poscosecha y trabajar en conjunto para extender la vida útil de productos hortofrutícolas después de la cosecha, se han desarrollado diversas tecnologías, que incluyen el almacenamiento a temperaturas bajas, la aplicación de rayos gamma, la radiación ultravioleta y ozonización. Asimismo, el uso de atmósferas controladas y modificadas, implementación de plásticos y recubrimientos comestibles (Díaz y Ávila, 2021).

### **1. Películas y recubrimientos comestibles**

Los recubrimientos comestibles (RC) son definidos como capas delgadas de material inocuo aplicadas a la superficie de productos alimentarios generalmente mediante la inmersión de este en una solución formadora del recubrimiento que actúa como protector natural y como barrera a la humedad, oxígeno y movimiento de solutos (Dahll, 2016). Jung y Aristippos (2005) señalan que los recubrimientos se fabrican mediante biopolímeros comestibles y aditivos alimentarios, estos biopolímeros pueden ser proteínas, polisacáridos o lípidos; que son aplicados directamente a la superficie del alimento, por ello son considerados como parte del producto final. Asimismo, mencionan que los recubrimientos se forman mediante fuerzas intermoleculares como los enlaces covalentes, interacciones electrostáticas, hidrófobas o iónicas. Los RC, además de fungir como barreras semipermeables en frutos, tienen un gran potencial para transportar ingredientes activos como colorantes, saborizantes, nutrientes, especias y compuestos antimicrobianos que

pueden prolongar la vida útil del producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en las superficies de los alimentos, así como incrementar su valor comercial y nutricional mediante la adición de compuestos nutraceuticos (De los Santos-Santos, 2020).

Existen investigaciones en las cuales se han aplicado RC en frutos (emulsiones de cera, pectinas o alginatos) y se ha observado que el uso de esta tecnología reduce la degradación de compuestos como vitamina C, compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Moreno-Hernández y col., 2014).

Los recubrimientos comestibles extienden la vida útil de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas al reducir la pérdida de humedad, la migración de soluto, el intercambio de gases, la respiración, las tasas de reacción oxidativa y las alteraciones fisiológicas, además de reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en las superficies de los alimentos (Rojas, 2009).

## **2. Emulsiones**

Las emulsiones consisten en dos líquidos inmiscibles (no se mezclan entre sí) en el que uno de ellos se encuentra disperso en el otro en forma de pequeñas gotitas, generalmente sucede con agua y aceite. Estas pueden ser clasificadas en base a la distribución y la proporción de la fase oleosa y la acuosa. Un sistema en donde partículas de aceite se encuentran dispersas en agua se le conoce como emulsión de tipo aceite en agua (O/W, por su siglas en inglés). Mientras que, una emulsión donde las gotas de agua se encuentran en aceite se denomina emulsión de agua en aceite (W/O). Las emulsiones también pueden ser clasificadas de acuerdo con el tamaño de partícula (McClements, 2015), se denominan microemulsiones

aquellas que presentan un tamaño mayor de 500 nm (0.5 micra) y se denominan nanoemulsiones a aquellas inferiores a 500 nm (Ahmad y col., 2012). Las microemulsiones son el tipo de emulsión más utilizado en muchas formas diferentes como leche, bebidas, recubrimientos, mayonesa, salsas y postres. (Zhang, 2010).

Una microemulsión consiste en dispersiones líquido-líquido de dos sustancias inmiscibles entre sí, una acuosa y la otra oleosa, una de las cuales se mantiene establemente dispersado en el otro por una película interfacial formada por surfactantes a veces combinado con cosurfactantes con un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) adecuado al sistema (Syed y Peh, 2014; Ita, 2020; Theochari y col., 2020). Estas son empleadas en la industria alimentaria como sistemas conductores de compuestos bioactivos de naturaleza hidrofílica o lipofílica, que generan poco impacto en las propiedades organolépticas del alimento y poseen biodisponibilidad alta (Cardoso y Jiménez, 2015).

El uso de emulsiones se ha incrementado en la industria alimentaria debido a las ventajas que presenta con respecto a las películas y recubrimientos comestibles convencionales ya que poseen una mayor estabilidad de las gotas frente a la agregación o separación gravitacional, así como a la liberación prolongada del activo encapsulado, a su vez las microemulsiones poseen una mayor dispersión de la luz por lo que tienden a ser transparentes; lo que genera un menor impacto en las propiedades organolépticas del alimento. En los últimos años se han reportado diversos estudios en los que mediante técnicas de emulsión integran el uso de compuestos bioactivos de origen lipídico para aprovechar sus propiedades como antioxidantes, saborizantes y antimicrobianos (Cardoso y Jiménez, 2015; Simonazzi

y col., 2018). Los compuestos bioactivos incorporados a matrices alimentarias tienen origen en extractos vegetales, en el año 2015, Cenobio-Galindo y col. desarrollaron una nanoemulsión con extracto de xoconostle incorporándola como recubrimiento en aguacate Hass, conservando la calidad postcosecha de los frutos por un periodo de 60 días. En el año 2019, Segura y col. implementaron un recubrimiento comestible a base de una nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato obteniendo un incremento en la vida de anaquel de frutos de arándano e inhibición de *Staphylococcus aureus*.

Para ser empleadas en la industria alimentaria las microemulsiones deben ser elaboradas con materiales reconocidos ante la FDA como generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus siglas en inglés). Las microemulsiones se componen básicamente de una fase lipofílica, una fase acuosa y un emulsificante o surfactante (**Cuadro 3**). Se han publicado estudios que evalúan la interacción de las microemulsiones bioactivas (tocoferoles, resveratrol y curcumina) con diferentes sistemas biológicos (embriones de pollo y células HepG2, SL-N-SH y fibroblastos) concluyendo que estos sistemas son seguros para el ser humano (Pound y col., 2014; Kaur y col., 2017).

Para formar las microemulsiones se requiere emplear un método de alta energía; este se basa en aplicar una cantidad alta de energía que permita al sistema mantener su estabilidad e integrar los componentes de la mezcla, para lograrlo se emplean diferentes dispositivos mecánicos, que generan un gradiente de energía intenso capaz de interrumpir la interfaz entre las fases líquidas no miscibles entre sí (Mihai, 2016).

**Cuadro 3.** Componentes comunes empleados para la formulación de emulsiones.

Componentes	Ejemplos
Aceites	Aceite de soya, aceite de maíz, aceite de ricino, aceite de coco, aceite mineral, aceite de albahaca, aceites esenciales.
Surfactantes	Dodecil sulfato de sodio, monooleato de sorbitan, fosfolípidos, polisorbatos, Tween 20-80, Span 20-80, proteína de suero de leche, proteína de soja, caseína.
Tensioactivos	Etanol, glicerina, PEG400, polieno glicol, propilen glicol y sorbitol.
Solventes	Dimetilsulfóxido, etanol, glicerol, propilen glicol, N-metil pirrolidona.
Ingredientes funcionales	Carotenoides, curcumina, fitoesteroles, antioxidantes, ácidos grasos omega 3, vitamina E.
Retardantes de madurez	Triacilglicéridos de cadena larga, aceite mineral, goma éster.

Fuente: Mihai (2016).



### **3. Microemulsiones múltiples**

Las microemulsiones múltiples son sistemas complejos de gotas, en las que hay gotas dentro de gotas y éstas se encuentran dispersas e inmersas en un tercer fluido inmiscible. Estas tienen un sinnúmero de aplicaciones principalmente en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Además, poseen ventajas con respecto a las microemulsiones simples ya que los componentes funcionales pueden ser encapsulados en una fase interna y liberados con una velocidad controlada lo que permite prolongar su tiempo de acción en la matriz alimentaria (Muschiolik, 2007; McClements y col., 2009; Dickinson, 2011).

La desventaja de emplear emulsiones múltiples radica en su poca estabilidad cinética. Pueden presentar diversos mecanismos de desestabilización derivados de la existencia de dos interfases, como coalescencia de gotas acuosas u oleosas, ruptura de película de aceite dando lugar a pérdida de fase acuosa, pérdida de agua o de activos con afinidad al agua a través de la capa de aceite. Para combatir estas problemáticas se emplean dos tensioactivos uno con bajo HLB para conseguir la estabilidad de la interfase W/O y uno con alto HLB para la interfase O/W (Anton y col., 2009).

#### **a. Formación microemulsiones múltiples**

Para lograr una emulsión reproducible y estable se deben controlar múltiples factores, incluyendo la selección de una composición adecuada, el control del orden de adición de los componentes, así como la aplicación de fuerza cortante para que las gotas se rompan de manera eficaz (Jiménez-Colmenero, 2013).

El método secuencial es el más empleado para generar una microemulsión doble, el cual consiste en generar una primera microemulsión la cual posteriormente es añadida a la fase dispersa final. Este método se ha descrito para generar microemulsiones dobles de tipo agua/aceite/agua (W/O/W) o aceite/agua/aceite (O/W/O). La emulsión simple (O/W) debe ser preparada empleando métodos de homogenización de mayor energía que la segunda, ya que esta requiere de procesos de homogenización más suaves para evitar la rotura de los glóbulos internos formados en la primera emulsión (W/O). Sin embargo, si este proceso es demasiado suave, se obtendrán sistemas altamente distribuidos y, por el contrario, si es demasiado intensivo, la eficiencia de encapsulación disminuirá (Garti,1997).

#### **b. Estabilidad de las microemulsiones múltiples**

Cuando se habla de una emulsión, la estabilidad es un parámetro de suma importancia ya que nos permite discernir la capacidad de la emulsión para formar sistemas más complejos. Al igual que las microemulsiones simples, las microemulsiones múltiples son sistemas complejos que tienden a la degradación con el paso del tiempo a través de varios mecanismos fisicoquímicos (Márquez y col., 2009).

Las emulsiones múltiples son sistemas coloidales inestables que están sujetos a muchos fenómenos de desestabilización (sedimentación, cremado) debido a la coexistencia de diferentes tamaños de partícula y al desarrollo de diversas fuerzas de atracción entre ellas. La estabilidad termodinámica de las emulsiones múltiples es menor que la de las emulsiones simples debido a que poseen una mayor área interfacial (Alvarado-López y Medina-Lezama, 2019).

La separación gravitacional es uno de los mecanismos de desestabilización más común de las emulsiones y puede identificarse macroscópicamente mediante la formación de crema o sedimentación. El cremado se da cuando la fase dispersa presenta una menor densidad que la fase continua, lo que provoca migración de las partículas a fase externa, mientras que la sedimentación se explica como el movimiento de las partículas a la fase inferior, cuando presentan una densidad mayor a la fase continua (Aranberri y col., 2006) La formación de crema es más común en formulaciones de tipo aceite en agua (O/W) ya que los aceites comestibles líquidos tienden a presentar una mayor densidad que el agua líquida, mientras que la sedimentación es más común en formulaciones de tipo agua en aceite (W/O). Sistemas múltiples pueden presentar ambos tipos de separación.

Otro fenómeno de inestabilidad presente en las microemulsiones es la agregación de partículas mediante coalescencia, floculación y maduración de Ostwald. La coalescencia se da cuando partículas de menor tamaño se fusionan con partículas de mayor tamaño, formando otras más grandes, este fenómeno se favorece en sistemas con mayor dispersión de tamaño de partícula (McClements, 2005). Por su parte la floculación consiste en la adhesión de partículas sin fusionarse. Este proceso se da cuando el sistema encuentra un equilibrio entre las fuerzas de atracción de Van der Waals y las fuerzas repulsivas tipo estéricas. Mientras que la maduración de Ostwald se presenta cuando ocurre un incremento del tamaño promedio de partículas a través del tiempo debido a la difusión molecular de partículas de la parte dispersa a la parte continua, lo que conlleva a una agregación de las partículas más pequeñas, hasta que estas desaparecen. Esto se

debe al hecho de que la presión osmótica dentro de las partículas de menor tamaño es mayor que las de tamaño más grande (McClements, 2005; Aranberri y col., 2006).

Para minimizar los fenómenos de desestabilización e incrementar el periodo de acción de la emulsión es necesario tomar en cuenta el balance hidro-lipofílico (HLB) del sistema. A medida que un emulsionante se vuelve más hidrofílico, su capacidad para disolverse en agua mejora, lo que favorece la creación de una emulsión de aceite en agua (O/W). Por otro lado, los emulsionantes más lipofílicos favorecen las emulsiones de agua en aceite (W/O). Esto lleva a la idea de que el tipo de emulsión está vinculado con el equilibrio entre las tendencias lipofílicas e hidrofílicas de los agentes emulsionantes tensioactivos. La selección del agente o agentes emulsionantes es de primordial importancia en la formulación exitosa de una emulsión (Yan, 2015). El valor HLB de un emulsificante varía de 0 a 20. Los emulsionantes con valores bajos de HLB son más solubles en aceite, mientras que aquellos con valores más altos son más solubles en agua (Miller, 2016).

#### **4. Incorporación de compuestos antimicrobianos**

Las emulsiones posibilitan encapsular compuestos con potencial actividad biológica. Además, facilitan la incorporación de componentes de naturaleza lipofílica. Los compuestos antimicrobianos de origen vegetal generalmente se extraen de plantas y especias. Estos compuestos son principalmente terpenos, cumarinas y flavonoides, (Weiss y col., 2009). Es importante mencionar que comúnmente se requieren concentraciones mayores *in vivo* en comparación con las utilizadas en estudios *in vitro*, debido a que pueden interactuar con lípidos, proteínas o carbohidratos presentes en la matriz alimentaria (Alarcón-Moyano y Matiacevich,

2019). La adición de compuestos antimicrobianos en las emulsiones ha incrementado debido a que el crecimiento microbiano es un problema que representa la causa principal de deterioro en frutos y hortalizas (Rodríguez, 2011) (**Cuadro 4**).

Algunas bacterias y microorganismos patógenos no pueden inhibirse con desinfectantes químicos en dosis legales. Sin embargo, el uso de agentes antimicrobianos puede ser una alternativa eficaz para combatir la proliferación bacteriana (Rosa y col., 2009).

Cuando se formulan recubrimientos que incorporan sustancias antimicrobianas se espera que se transfieran a la superficie de los alimentos o que se retengan; la migración dependerá de las interacciones electrostáticas, permeabilidad iónica y cambios estructurales debido a la presencia de un agente antimicrobiano y las condiciones ambientales. Por otra parte, los agentes antimicrobianos dependen de la interacción del polímero y el plastificante para evitar que migre (Ávila y López, 2009). Lamentablemente, el uso de aceites esenciales y compuestos bioactivos, como antimicrobianos, tiene limitaciones ya que se deterioran con facilidad por factores ambientales, como la luz y el oxígeno, lo que limita su incorporación en productos comerciales (Feyzioglu y Tornuk, 2016). Por lo que, la incorporación de micro y nanopartículas en el envasado de alimentos ha aumentado en gran medida y uno de los puntos clave es el recubrimiento activo, en el que los compuestos bioactivos encapsulados interactúan directamente con los alimentos confiriéndole protección por su acción como agentes antimicrobianos de liberación prolongada (Montes, 2007).

**Cuadro 4.** Aplicación de recubrimientos comestibles adicionados con agentes antimicrobianos.

Ingredientes funcionales	Cantidad incorporada (%)	Materiales de recubrimiento	Frutas frescas cortadas	Efecto
<b>Antimicrobianos</b>				
Sorbato de potasio	2.2 (p/v)	Almidón	Fresas	Inhibición del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras.
Limoncillo	1.0-1.5 (v/v)	Alginato, puré de manzanas	Manzanas	Reducción de microorganismos aerobios psicrófilos nativos, mohos y levaduras.
Orégano	0.1-0.5 (v/v)			Reducción de >4 log CFU/g de <i>Listeria</i> .
Canela	0.7 (v/v)	Alginato	Manzanas	Inhibición de la microbiota nativa durante 30 días y reducción del > 4 log UFC/g de <i>E. coli</i> O157: H7 en la primera semana de almacenamiento.
Eugenol	0.5 (v/v)	Alginato	Melón	Inhibición del crecimiento microbiano y reducción de hasta 3.1 log UFC/g después de 30 días de almacenamiento.
Limoncillo	0.7 (v/v)	Metilcelulosa	Melón	Reducción del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos, psicrótrofos, levaduras y mohos. Retención del crecimiento de <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella sp.</i>
Cúrcuma	0.5% (p/v)	almidón de achira	Zapallo mínimamente procesado	Inhibición de <i>Cladosporium sp.</i> (41.6%) y <i>Penicillium sp.</i> (60.3%).

Fuente: Rojas y col. (2009).

### c. **Cúrcuma y curcumina**

La cúrcuma es una planta de origen asiático, cuyos componentes son de interés por su efecto antimicrobiano y potencial beneficio a la salud. Entre las sustancias activas se encuentra la curcumina (diferuloilmetano), la cual es el pigmento causante del color amarillo característico de los rizomas de la cúrcuma, es uno de los componentes bioactivos causante de su actividad biológica, este componente conforma del 2-5% de la cúrcuma y se ha demostrado que tienen propiedades antioxidantes similares a la vitamina C y E (Mesa y col., 2000). Debido a que la curcumina ofrece efectos antibacterianos, su uso podría ser una alternativa prometedora por sus diversas actividades biológicas (Moghadamtousi y col., 2014).

La ingesta dietética diaria promedio de curcumina se estima entre 0.4 y 1.5 mg/kg peso corporal al día en regiones como la India, en Francia el consumo promedio es 0.40 mg/kg. La FDA (Food and Drug Administration) ha declarado la curcumina como compuesto generalmente reconocido como seguro (GRAS). Asimismo, estudios en humanos han demostrado que es bien tolerada incluso a dosis muy altas. Se demostró mediante un ensayo clínico fase I que dosis de 8 g/día durante 3 meses no presentó toxicidad (Cheng y col., 2001).

Marchi y col. (2019) probaron el extracto acuoso de curcumina como inhibidor del crecimiento de la biomasa fúngica de algunos tipos de hongos, *Penicillium paneum*, *Cladosporium xysporum*, *Cladosporium sublifforme* y *Aspergillus chevalieri*, aislados del pan. Los resultados mostraron que, debido a la actividad antifúngica, la curcumina se puede utilizar como aditivo alimentario, lo que prolonga la vida útil de los alimentos. También, nanoemulsiones de curcumina se han empleado para la

elaboración de quesos sin modificar sus características sensoriales (Bagale y col., 2020). La curcumina es capaz de eliminar los radicales libres de oxígeno, los aniones superóxido y radicales hidroxilos, que son iniciadores de la oxidación lipídica, debido a esto se le han atribuido múltiples efectos beneficiosos para la salud, por sus propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas y antioxidantes. No obstante, suele presentar una absorción baja, cuando se suministra por vía oral, también presenta susceptibilidad a cambios de pH especialmente a condiciones alcalinas, a la luz, a la oxidación, humedad, iones de hierro y temperaturas altas, que también limitan su eficacia (Goel y col., 2008; Kidd, 2009; Danafar y col., 2018). Por lo anterior se emplean alternativas para contrarrestar dichas limitaciones mediante sistemas de administración basados en el uso de microemulsiones. La microencapsulación es una técnica que se utiliza para mejorar la estabilidad y biodisponibilidad de la curcumina.

Las emulsiones a base de curcumina son comúnmente empleadas para la producción de medicamentos y cosméticos debido a que incrementan su estabilidad, disponibilidad, permeabilidad y a su vez la degradación química (Rachmawati y col., 2014). Al respecto, Abdou y col. (2018) desarrollaron un recubrimiento de pectina cargado con nanoemulsiones de curcumina el cual aplicaron a filete de pechuga de pollo logrando la inhibición del recuento total en placas de microorganismos psicrófilos, levaduras, moho, además de retrasar en general del desarrollo de microorganismos en comparación con el grupo control. Esta técnica retrasa la degradación, protege contra la evaporación y reacciona e incrementa la solubilidad en medios acuosos (Gómez-Mascaraque y col., 2017).



#### IV. JUSTIFICACIÓN

El cambio en los hábitos de consumo de la población, ligados a la exigencia de simplificación de las comidas ante el escaso tiempo disponible para su preparación, aunado al cambio en los hábitos de la alimentación con una tendencia hacia el consumo de alimentos preparados, semipreparados o listos para el consumo ha potenciado el consumo de productos mínimamente procesados. La lechuga es uno de los productos MMP de mayor demanda debido a sus características nutricionales, uso culinario y bajo aporte calórico; no obstante, al pasar por un proceso de corte su metabolismo se acelera y su vida útil se ve reducida, causando problemas como pérdida de agua, oscurecimiento enzimático, ablandamiento y desarrollo de microorganismos patógenos como lo es *Salmonella serovar albany* causante de enfermedades gastrointestinales en el consumidor.

Los métodos convencionales de descontaminación de las ensaladas de hoja han sido por medio del uso de ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno o cloro, así como la exposición del fruto a irradiación. Estas técnicas se han utilizado específicamente para controlar los niveles de patógenos; sin embargo, han resultado poco efectivos y pueden llegar a afectar la textura y el sabor de las hojas de lechuga. Como alternativa se han aplicado diferentes recubrimientos comestibles adicionados con compuestos bioactivos con potencial antimicrobiano con resultados medianamente favorables, ya que después de un tiempo la sustancia activa se volatiliza y el efecto antimicrobiano y de barrera protectora disminuyen dejando expuesto al fruto para la proliferación microbiana. La curcumina ha demostrado presentar un potencial antimicrobiano, antiinflamatorio y anticancerígeno; no

obstante, es susceptible a factores medioambientales por lo que se degrada fácilmente al aplicarse en recubrimientos comestibles. La aplicación de emulsiones ha demostrado poseer una mayor estabilidad con respecto a la degradación u oxidación de este tipo de compuestos bioactivos. El emplear una microemulsión doble podría reforzar el efecto protector incrementando el periodo de acción del compuesto bioactivo en el alimento, presentando estos recubrimientos una mayor estabilidad y funcionalidad. Sin embargo, en la actualidad el uso de emulsiones múltiples se enfoca principalmente en la industria cosmética y farmacéutica por lo que hasta la fecha no se han encontrado estudios donde se integre la combinación de estos componentes a recubrimientos en alimentos, pero si se describen beneficios para el fruto y el consumidor. En este sentido, surge la inquietud de realizar un estudio donde se implemente dicha tecnología (microemulsiones dobles) para mejorar la vida comercial de productos mínimamente procesados altamente perecederos como lo son las ensaladas de lechugas.

## V. HIPÓTESIS

La aplicación de una doble microemulsión con curcumina inhibe el desarrollo de *Salmonella serovar albany* en lechuga mínimamente procesada manteniendo su calidad, contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

## VI. OBJETIVOS

### A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de una doble microemulsión con curcumina sobre el desarrollo de *Salmonella serovar albany*, la calidad, el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en lechuga mínimamente procesada.

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Elaborar y caracterizar microemulsiones con diferentes concentraciones de curcumina.
2. Evaluar el efecto bactericida *in vitro* de las microemulsiones enriquecidas con curcumina sobre el crecimiento de *Salmonella serovar albany*.
3. Determinar el efecto de la microemulsión simple y doble enriquecida con curcumina sobre el crecimiento de *Salmonella serovar albany* y microorganismos mesófilos aerobios en lechuga mínimamente procesada durante su vida en anaquel.
4. Determinar el efecto de la aplicación de una microemulsión simple y doble enriquecida con curcumina sobre la calidad física (pérdida de peso, color y firmeza) en lechuga mínimamente procesada.
5. Evaluar la influencia de las microemulsiones sobre las características sensoriales de la lechuga mínimamente procesada.
6. Evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante por los métodos de ABTS y DPPH en lechuga mínimamente procesada.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. MATERIALES

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó como materia prima lechuga cv. orejona en etapa de madurez comercial, homogéneas en color y tamaño. Se cercioró que el material vegetal estuviera libre de daño físico y causado por microorganismos. La curcumina fue adquirida Sigma Aldrich (Curcumin C1386-10G, from *Curcuma longa* (Turmeric), powder. N°CAS: 458-37-7). Se empleó aceite de mesa puro de canola marca Canoil el cual fue adquirido en un centro comercial de la ciudad. Los surfactantes monolaurato polietilenglicol sorbitán (Tween 20 P2287-500ML, HLB 16.7), monoleato de polietilenglicol sorbitan (Tween 80 P8074-500ML, HLB 15), monoleato de sorbitán (SPAN 80 85548-1L, HLB 4.3), se obtuvieron de Sigma-Aldrich. La cepa de *Salmonella serovar albania* fue proporcionada por el Laboratorio de Biomedicina Molecular del Posgrado en Ciencias Biomédicas de la FCQB-UAS.

### B. MÉTODOS

#### 1. ETAPA 1

##### a. Formulación y preparación de las microemulsiones

##### 1) Formulación de las microemulsión simple (O/W)

La preparación de una microemulsión simple se llevó a cabo mediante la formación de una fase acuosa más la incorporación de la fase oleosa y surfactante que permitió mantener estable el sistema de acuerdo a los principios básicos utilizados por diversos autores (Srinivasan y col., 2003; Anuchapreeda y col., 2011; Silva y col., 2019; Katsouli y col., 2020). Se realizaron diversos ensayos preliminares probando diferentes proporciones y tipos de surfactantes.

Primeramente, se prepararon microemulsiones (O/W) por homogenización de 5%, 10% y 15% (p/p) de fase oleosa, se empleó Tween 20 como surfactante en proporciones de 1%, 2%, 4%, 8%, 10% con base en el peso total de la microemulsión completa, se probaron 0.5% y 2.0% y 3.0% de caseinato de calcio como cosurfactante y el resto de agua desionizada (80 °C). La mezcla fue homogenizada a 13,500 rpm usando un Ultraturrax (IKA T18 basic).

Posteriormente, se realizaron pruebas empleando Tween 80 y glicerol como surfactante y cosurfactante, respetivamente. Se incorporaron 2.0% de surfactante (Tween 80, Sigma Aldrich P1754-1L), 5 y 10% de fase oleosa (solución de curcumina en aceite de canola), se incorporaron mediante agitación magnética durante 10 min a 60 °C, a la par se preparó una fase acuosa al 93% y 88% (50% glicerina y 50% agua desionizada) a la cual se le incorporó mediante goteo la fase oleosa en agitación a 20,000 rpm empleando un Ultraturrax (IKA T18 basic) durante tres minutos hasta formar la primer microemulsión. Las microemulsiones fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C y se monitorearon durante 9 días posteriores a su formulación.

Se seleccionaron las emulsiones más adecuadas considerando como criterio principal la estabilidad macroscópica y microscópica.

## **2) Formación de la microemulsión doble (O/W/O)**

La formación de la microemulsión doble se llevó a cabo mediante método de formación espontanea; para ello primeramente se calentaron diferentes proporciones de aceite de canola al 80%, 82%, 84%, 86% y 88% (p/p) hasta alcanzar una temperatura de 60 °C, una vez alcanzada la temperatura se le añadió mediante agitación magnética durante 10 min un surfactante (Span 80, Sigma Aldrich S6760-

1L) a diferentes concentraciones 2%, 4%, 6%, 8%, 10% (p/p) para formar la interfase, posteriormente se añadió por goteo 10% de las microemulsiones O/W formadas previamente y se agitó a 800 rpm por 1 h hasta obtener una solución homogénea, una vez transcurrido este tiempo la microemulsión fue almacenada a 4 °C hasta su uso y se monitoreó durante 10 días posteriores a su formulación (Nazari y col., 2016).

## **b. Caracterización de las microemulsiones**

### **1) Monitoreo de la estabilidad macroscópica y microscópica**

Se monitoreó la estabilidad de las microemulsiones con y sin curcumina mediante análisis visual y microscopía óptica empleando un objetivo de 40x en un microscopio óptico (LABOMED/Triocular LX400, EUA), se llevó a cabo un registro fotográfico cada 24 h durante un periodo de 10 días para el análisis de la estabilidad física.

### **2) pH**

El pH de cada muestra fue medido con un potenciómetro (ThermoSCIENTIFIC/OrionStar A111, Indonesia) a temperatura ambiente. En un vial ámbar se colocaron 20 mL de muestra y se introdujo el electrodo para su medición. Se tomó como estable el pH cuando no hubo cambio del valor durante 1 min. El valor del pH de las microemulsiones fue evaluado por triplicado de acuerdo con lo reportado por Flores-Miranda y col. (2020).

### **3) Color**

El color de las microemulsiones fue medido con un colorímetro Minolta (CR 210, Japón). En un vaso de precipitado de vidrio se colocaron 25 mL de muestra a temperatura ambiente y se hizo la medición del color. Se midieron los parámetros de L\* y Hue (Hernández-Huesca, 2016).

### **4) Tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI)**

Se tomó 1 mL de las microemulsiones y se colocó en las celdas del equipo Zetasizer (Möbiu equipment Wyatt Technology, Santa Barbara, CA, EUA), se programó a 532 nm y con un ángulo de dispersión de 163.5°. El tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI) se obtuvo mediante el método de dispersión de luz dinámica utilizando el zetámetro a temperatura ambiente. Valores cercanos a cero (0) indican que la muestra es monodispersa, así como valores cercanos a 1 indican que la muestra presenta gran variedad de tamaños de acuerdo con lo reportado por Anuchapreeda y col. (2011). Los datos de tamaño de partícula se realizaron por quintuplicado y los datos se expresaron como la media de las mediciones independientes expresando los resultados en  $\mu\text{m}$  (Alicante, 2022). La recopilación y análisis de datos se realizó mediante el uso del software DYNAMICS 7.10.1.21 (WyattTechnology Corporation).

#### **c. Aislamiento y preparación de inóculo de la bacteria *S. serovar albany***

Para este estudio se utilizaron colonias de *Salmonella serovar albany* previamente aisladas, sembradas y resembradas en un medio de cultivo agar soya tripticaseina (TSA), se incubaron a 37 °C para obtener cultivos puros siguiendo la metodología propuesta por Zheng y col. (2013), transcurrido el tiempo de incubación



los cultivos se almacenaron en caldo soya tripticaseína (TSB, por sus siglas en inglés) compuesto por 1 µL de glicerol estéril por cada mL de TSB, al cual se le agregaron 5 µL de cultivo crio preservado y posteriormente se incubaron a 35 °C durante 18 h en agitación constante a 200 rpm. Finalmente, se midió la absorbancia mediante espectrofotometría a 620 nm y se diluyó con una solución de TSB y glicerol estéril para ajustar a una absorbancia de 0.25 nm que se aproxima a 10<sup>8</sup> CFU/mL.

### **1) Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro**

Esta prueba se basó en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido y se evidenció por la formación de halos alrededor de las colonias de acuerdo con lo reportado por Fuentes-Fanegas y col. (2017) con algunas modificaciones. Se tomaron 20 mL de TSB y se inocularon con 100 µL de *Salmonella serovar albania* a una concentración de 1x10<sup>8</sup> UFC/mL en cajas independientes, con ayuda de puntillas estériles de 1000 µL se perforó el agar formando pocillos de 5 mm de diámetro, con el fin de adicionar 80 µL de los tratamientos; cada uno se realizó por triplicado. Los tratamientos se definieron a partir de la formulación de las microemulsiones descritas anteriormente adicionando el tratamiento de aceite de canola con curcumina, aceite de canola sin curcumina y tomando como control negativo NaClO al 10% y como control positivo agua destilada estéril. Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C por 24 h, posteriormente se midió el halo de inhibición empleando un vernier digital (Leidsany, Britt Technology Inc., Louisville, KY, USA). La actividad antimicrobiana se expresó en diámetro de inhibición en mm.

## **2. ETAPA 2**

Una vez obtenidas las microemulsiones con la mayor estabilidad y concentración de curcumina se realizó el análisis *in vivo*, lo cual se llevó a cabo en dos fases. La fase 1 consistió en evaluar el efecto de las microemulsiones adicionadas con curcumina sobre la población microbiana de lechuga mínimamente procesada. La fase 2 consistió en evaluar el efecto de los tratamientos sobre parámetros fisicoquímicos, sensoriales y de compuestos bioactivos de la lechuga mínimamente procesada.

### **a. Proceso de elaboración de la lechuga MMP**

Se utilizó como materia prima lechuga de la variedad orejona que fue adquirida en el mercado de Abasto de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México. Las hortalizas fueron seleccionadas con características homogéneas de color, peso, forma y tamaño, libre de defectos físicos o microbiológicos visibles. Después, la materia prima se transportó al Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos donde primeramente se eliminó el tallo y partículas visibles, como residuos de tierra u hojas defectuosas. Posteriormente, se lavaron hoja por hoja en agua fría para eliminar residuos de tierra adheridos a la superficie. Una vez lavadas las hojas se trasladaron a una cámara de refrigeración programada a una temperatura constante de 4°C, se procedió a cortar en trozos de 10 cm de largo x 5 cm de ancho. Se realizó un segundo lavado con la finalidad de neutralizar la liberación de sustratos contenidos en la lechuga; este proceso se realizó mediante inmersión en agua potable a una temperatura de  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  por 3 min, finalmente se desinfectó con una solución de NaClO a 0.2 mL/L

durante 5 min, se enjuagó con agua destilada antes de continuar con su procesamiento.

### **b. Inoculación de la lechuga MMP**

Se tomó como base la metodología descrita por Forghani y Oh (2013), que consistió en colocar las hojas de lechuga MMP sobre papel aluminio estéril, este proceso se realizó dentro de la cámara de refrigeración a 4 °C. Para la inoculación se adicionaron 100 µL de la suspensión de bacteriana ( $10^8$  UFC/mL) por cada 10 g de muestra de lechuga, se aplicaron en el lado abaxial de cada una de las hojas mediante el depósito de gotas con ayuda de una micropipeta empleando una punta estéril, posteriormente se dejaron secar 30 min a 4 °C.

### **c. Aplicación de los tratamientos para evaluación de la actividad antimicrobiana *in vivo***

Una vez inoculados los lotes de lechuga MMP se procedió a la aplicación de los diferentes tratamientos quedando de la siguiente manera: tratamiento 1, sin tratamiento (control-); tratamiento 2, lechuga MMP tratada con hipoclorito de sodio (NaClO) a una concentración de 0.2 mL/L (control+); tratamiento 3, lechuga MMP con microemulsión simple sin curcumina (MSC); tratamiento 4, microemulsión simple con curcumina (MCC); tratamiento 5 microemulsión doble sin curcumina (DMSC); tratamiento 6, microemulsión doble con curcumina (DMCC).

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante la aspersion de 1 mL de cada tratamiento con ayuda de un atomizador. Posteriormente, se dejaron secar por 30 min, para finalmente ser empaquetados en bolsas de polipropileno termoselladas

y almacenadas a 5 °C por un periodo de 15 días. El conteo microbiológico se realizó los días 0, 6 y 12 (**Figura 1**).

**d. Actividad antibacteriana *in vivo* de los tratamientos**

**1) Recuento de *Salmonella serovar albany***

Se pesaron 10 g de tejido fresco de lechuga MMP y se homogenizaron en 90 mL de agua peptonada al 0.1% (pH 7.2). Posteriormente, se realizaron diluciones decimales mediante el método de vertido en placa de agar Salmonella Shigella (Bioxon) usando 100 µL de cada dilución distribuyendo la muestra por toda la superficie de la placa con un asa estéril de Drigalsky. Se incubaron las placas a 37 °C por 24 h. Pasado el periodo de tiempo se observaron las colonias que fueron compatibles con las características morfológicas de *Salmonella serovar albany* y se determinó el número de UFC de acuerdo con lo reportado por Raybaudi y col. (2007).

**2) Recuento de mesófilos aerobios**

Para el recuento de microorganismos mesófilos se tomaron 10 g de lechuga MMP sin inocular y fueron homogenizados en 90 mL de agua peptonada al 0.1% (pH 7.2). Se llevaron a cabo diluciones seriadas como se realizó para *S. serovar Albany*. De cada dilución se tomaron por triplicado 100 µL de las diluciones preparadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) y fueron añadidos en condiciones de esterilidad en cajas Petri (estériles desechables de poliestireno, 90 x 15 mm) con agar para métodos estándar (MCD LAB). Se esparció uniformemente el inóculo con asas estériles de Drigalsky, posteriormente se incubaron de 24 a 48 h a una temperatura de 37 °C (NOM-093-SSA-1994; Raybaudi y col., 2007). El conteo microbiológico se reportó como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

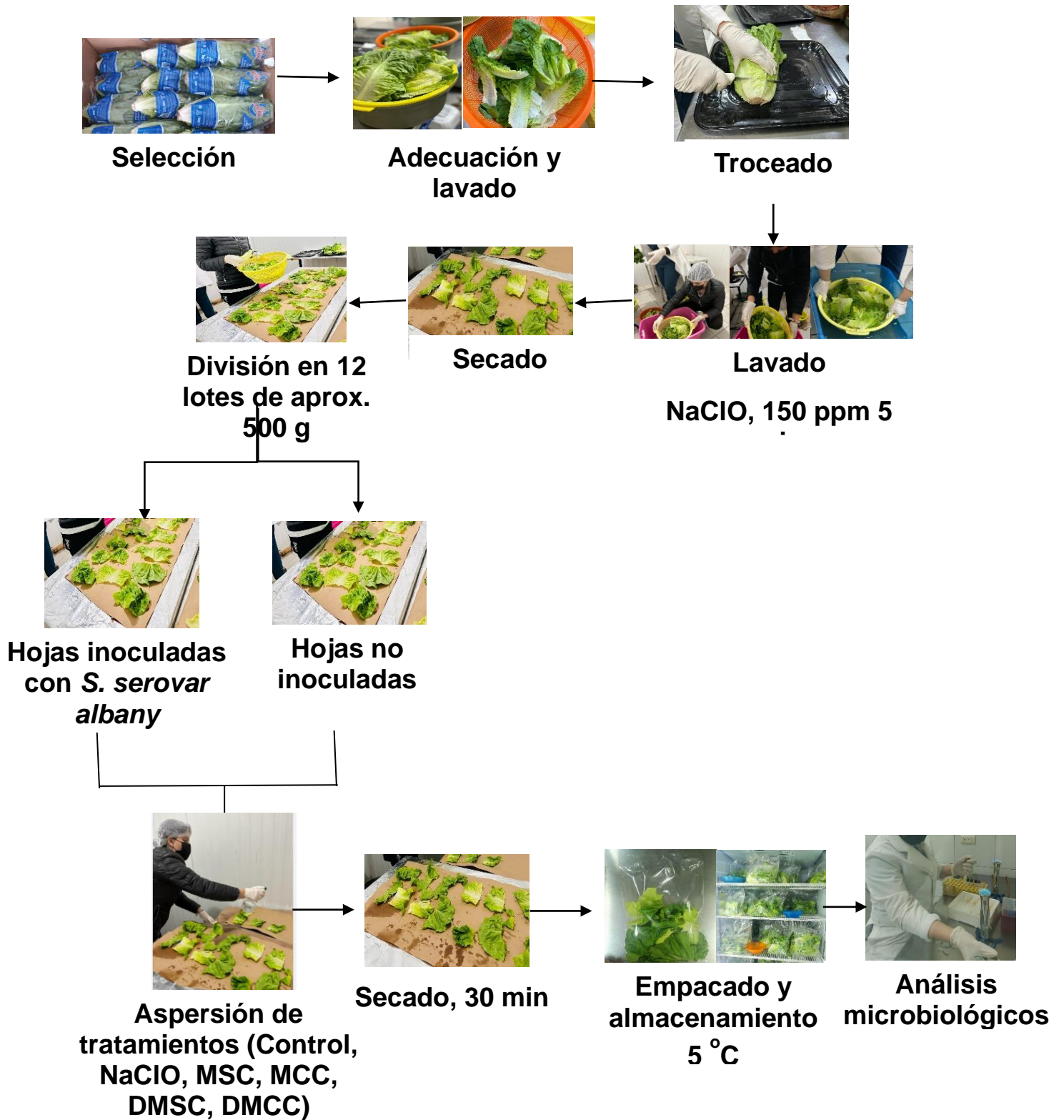


Figura 1. Diseño experimental fase 1.

**e. Actividad antibacteriana *in vivo* de los tratamientos**

**3) Recuento de mesófilos aerobios**

Para el recuento de microorganismos mesófilos se tomaron 10 g de lechuga MMP sin inocular y fueron homogenizados en 90 mL de agua peptonada al 0.1% (pH 7.2). Se llevaron a cabo diluciones seriadas como se realizó para *S. serovar Albany*. De cada dilución se tomaron por triplicado 100 µL de las diluciones preparadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) y fueron añadidos en condiciones de esterilidad en cajas Petri (estériles desechables de poliestireno, 90 x 15 mm) con agar para métodos estándar (MCD LAB). Se esparció uniformemente el inóculo con asas estériles de Drigalsky, posteriormente se incubaron de 24 a 48 h a una temperatura de 37 °C (NOM-092-SSA-1994; Raybaudi y col., 2007). El conteo microbiológico se reportó como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

**f. Parámetros de calidad**

Para llevar a cabo los análisis de calidad, todo el proceso de elaboración y almacenamiento se llevó a cabo de la manera ya explicada en la fase 1, solo que durante esta etapa la lechuga no fue inoculada con *Salmonella serovar albany*.

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante la aspersion de 1 mL de cada tratamiento con ayuda de un atomizador. Posteriormente, se dejaron secar a 4°C por 30 min, para finalmente ser empaquetados en bolsas de polipropileno termoselladas y almacenadas a 5 °C por un periodo de 18 días. Todo el proceso se realizó a 4°C. Durante el tratamiento se realizaron retiros de muestra cada 3 días para llevar a cabo los análisis de calidad y contenido de compuestos bioactivos. Se emplearon seis diferentes tratamientos, se realizaron tres réplicas, 21 bolsas por

tratamiento, aprox. 70 g/bolsa, un total de 126 bolsas/ tres réplicas, bolsas de aproximadamente 50 g con los diferentes tratamientos se utilizaron para monitorear la pérdida de peso, a las cuales se les realizó una pequeña perforación en la parte inferior para facilitar el drenado de exudados provenientes de la pérdida de agua en el producto, se realizaron cuatro réplicas

### **1) Pérdida de peso**

Se estimó la pérdida de peso durante el almacenamiento a temperaturas bajas de acuerdo con la metodología propuesta por la AOAC (2014). La lechuga MMP y empaquetada en bolsas de polipropileno fue pesada antes del almacenamiento y cada tercer día. El peso se determinó con una balanza analítica (Sartorius TE 4101; Goettingen, Alemania). Los resultados fueron expresados como porcentaje de pérdida de peso utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida de peso} = \left( \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \right) \times 100$$

### **2) Color**

Los valores de color (CIE L\* a\* y b\*) de lechuga MMP se determinó por medición directa de la superficie del tejido utilizando un colorímetro Minolta CR 200 (Minolta Chromameter, Japón), registrando los parámetros L\* a\* y b\*, donde L\* representa la luminosidad del color y va de negro a blanco con valores de 0 a 100, Los valores positivo y negativo de a\* indican una coloración roja y verde respectivamente, mientras que el valor de b\* refiere cambios de coloración de amarillo (valores positivos) a azul (valores negativos). Se realizaron mediciones por triplicado analizando 2 puntos diferentes por hoja (González y Ayala 2005).

### **3) Firmeza**

La firmeza se evaluó mediante pruebas de punción de acuerdo con lo reportado por Chandra y col. (2010) con algunas modificaciones. Para ello se emplearon trozos de lechuga de aproximadamente 10 cm de largo x 5 cm de ancho. Cada trozo fue colocado con la parte axial hacia arriba en la base de un texturómetro universal INSTRON 3342 (Modelo Mass EUA), con una punta de 11 mm de diámetro tocando ligeramente la superficie donde ésta se introdujo en el tejido hasta su penetración a una velocidad constante de 50 mm/min. Se reportó la fuerza de compresión máxima en Newton (N). Se tomaron 15 lecturas por réplica y se registraron 2 mediciones por cada trozo de lechuga.

#### **g. Evaluación sensorial**

Para el análisis sensorial se siguió la metodología de prueba de triangulación descrita por Ennis (1993) la cual se basa en la capacidad para detectar diferencias entre dos productos. Para ello se emplearon tres muestras (10g), dos de ellas compuestas por lechuga tratada con microemulsiones de curcumina (MCC y DMCC) y una de lechuga sin tratamiento como control, se sirvieron en tazones codificados. Para la evaluación se invitó a un panel de 32 jueces de ambos sexos no entrenados, conformado por estudiantes y profesores (18-45 años) de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Los evaluadores se ubicaron en mesas de acero inoxidable con una temperatura de 25 °C aproximadamente y con luz del día en el laboratorio. A las muestras se les evaluaron los atributos de color, olor, sabor y textura mediante una escala hedónica de 5 puntos



(1: inusual a 5: característico) y se dejó un espacio para agregar comentarios y sugerencias.

#### **h. Compuestos bioactivos**

##### **1) Cuantificación de compuestos fenólicos totales**

La determinación de los compuestos fenólicos totales se llevó a cabo mediante el método Folin-Ciocalteu descrito por Mora-Rochin y col. (2010) primeramente se pesaron 5 g de muestra de cada tratamiento y se homogenizaron con 10 mL de metanol utilizando un Ultra-turrax (IKA T18 basic, Alemania por 1 min, se sónico por 30 min, se filtró y se recuperó el sobrenadante, el residuo fue sometido a una segunda extracción bajo las mismas condiciones previas, los sobrenadantes resultantes se combinaron y se aforaron a 50 mL con agua desionizada; se tomaron 10 µL de esta solución, a la que se le incorporó 0.1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y la mezcla se dejó reposar de 1-8 min. A la mezcla se le añadió una solución de carbonato de sodio saturada y se mantuvo por 30 min en completa oscuridad, la absorbancia fue medida a 765 nm en un espectrofotómetro (Spectronic 2 GENESIS, EUA). La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva estándar de ácido gálico y los fenólicos totales fueron expresados como mg de ácido gálico/100 gramos de producto fresco (gpf).

#### **i. Capacidad antioxidante**

##### **1) Método ABTS**

Se evaluó el método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) utilizando el análisis de decoloración del catión ABTS<sup>+</sup> de acuerdo con la

metodología propuesta por López-Angulo y col. (2014), con algunas modificaciones. Se combinaron soluciones de ABTS (7 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM) en una proporción 1:1 y se dejó reposar la mezcla durante 12-16 horas a 25 °C en total oscuridad para generar el radical ABTS<sup>+</sup>. Luego, esta solución se diluyó con un amortiguador de fosfato (PBS) de 7 mM (pH 7.4) hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm.

Posteriormente se añadieron en un microtubo 100 µL del extracto metanólico diluido (1:20) y se combinaron con 1900 µL del radical ABTS diluido. Esta mezcla se dejó reposar durante 30 min a 27 °C en total oscuridad y luego se midió la absorbancia a 734 nm. Se utilizó una curva de calibración de Trolox (0-225 µg/mL) para calcular la actividad antioxidante, que se expresó como mg equivalente de Trolox por g de peso fresco (mg ET/100 gpf).

## **2) Método DPPH**

La capacidad antioxidante se estimó mediante la metodología de López-López col. (2018), con algunas modificaciones. El método se basa en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo hidratado (DPPH<sup>\*</sup>), siendo un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe a 515 nm. Una disminución de la absorbancia se traduce en una disminución de la concentración de DPPH<sup>\*</sup> por acción de los posibles compuestos antioxidantes que se encuentran en el extracto metanólico. Para la obtención de la muestra, se pesaron hojas de lechuga congeladas, se mezclaron con 25 mL MeOH puro y posteriormente se homogenizó 2 min a 1,350 rpm en (Ultra Turrax, IKA, T 18 Basic, Alemania). Posteriormente se

incubaron durante 12 h a 5 °C para finalmente, centrifugarse 15 min a 10,000 g y 4 °C. El sobrenadante se filtró con 4 capas de gasa y se almacenó en tubos Eppendorf ámbar a -20 °C hasta su análisis por espectrofotometría, en máximo 48 horas. Se midió la absorbancia a 515 nm y los resultados se expresaron en mg ET/100 gpf.

### **i. Diseño estadístico**

#### **1) Etapa 1**

Para el análisis de los datos de caracterización de las microemulsiones se llevó a cabo un diseño bifactorial al azar. Factor 1 días de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12, 15) y factor 2 microemulsiones con curcumina (MCC-CAS, MCC-GLI, MCC-GLI2, DMCC-CAS, DMCC-GLI1, DMCC-GLI2), mientras que para el análisis de inhibición de *Salmonella serovar albany in vitro* se llevó a cabo un diseño unifactorial cuyo factor fue diámetro de inhibición (mm) de los tratamientos (control, NaClO 10%, FO, MSC-CAS, MCC-CAS, MSC-GLI1, MCC-GLI1, MSC-GLI2, MCC-GLI2, DMSC-CAS, DMCC-CAS, DMSC-GLI1, DMCC-GLI1, DMSC-GLI2, DMCC-GLI2). Se llevó a cabo una comparación de medias utilizando una prueba Fisher (LSD), con un nivel de significancia de 5% ( $\alpha=0.05$ ).

#### **2) Etapa 2**

Para la actividad antibacteriana *in vivo* y parámetros de calidad se realizó un diseño experimental completamente al azar de dos factores: días de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12, 15) y tipo de tratamiento (control, NaClO 500 ppm, microemulsión simple sin curcumina (MSC), microemulsión simple con curcumina (MCC), microemulsión doble sin curcumina (DMSC), microemulsión doble con curcumina (DMCC)). Se utilizaron 3 réplicas y 3 repeticiones en cada tratamiento. Los datos

fueron analizados mediante un análisis de varianza usando el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1 y las medias se compararon utilizando la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

## **IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **A. FORMULACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES**

#### **1. Formulación de la microemulsion simple (O/W)**

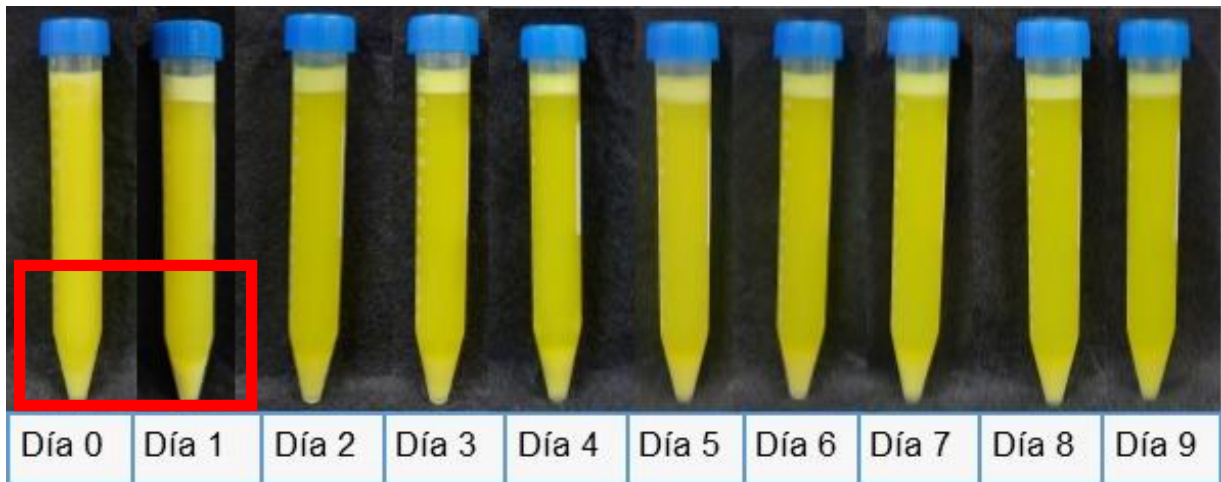
Para obtener microemulsiones estables enriquecidas con curcumina se realizaron pruebas preliminares donde se probaron distintas proporciones y combinaciones de aceite, surfactante y fase acuosa, así como la concentración de curcumina. Derivado de las formulaciones estudiadas se seleccionaron la combinación de glicerol y Tween 80 y caseinato de calcio y Tween 20, ya que permiten una mayor incorporación de la fase oleosa. Para las microemulsiones formuladas con glicerol en la fase acuosa y Tween 80 como surfactante se logró integrar 10% de la fase oleosa, lo que permitió la incorporación de 150 µg/mL de curcumina. Mientras que, para el caso de las microemulsiones de caseinato de calcio y Tween 20 se logró incorporar solo el 5% de fase oleosa (FO) en la matriz, logrando un encapsulado de solo 75 µg/mL de curcumina.

Un factor determinante en la cantidad de fase oleosa que se puede incorporar a una microemulsión es la naturaleza de los componentes y el tipo de emulsión, lo que determina el surfactante a emplear. Al ser una microemulsión tipo aceite en agua (O/W), la proporción alta de fase acuosa da como resultado valores altos de HLB (9.6 a 16.7) (Ramírez-Nieto y col., 2019); por lo tanto, el uso de surfactantes de tipo no iónicos denominados Tween fue adecuado para el tipo de emulsión. Se realizaron pruebas preliminares para la elección del tipo Tween a emplear y su afinidad con los componentes de las diferentes formulaciones, se probaron Tween 20 y 80 donde el Tween 20 mostró una mayor afinidad al caseinato de calcio mientras que el Tween

80 fue más a fin al glicerol esto a raíz de la interacción de los componentes en la mezcla. Cuando se formularon las emulsiones se observó que aquellas que contenían Tween 20 como surfactante y caseinato como cosurfactante no fueron muy estables ya que se separaban gradualmente transcurridas 24 h de su formulación, observando que la separación total de las fases ocurre transcurridos 4 días de su preparación en condiciones de almacenamiento a 4 °C (**Figura 2**).

A pesar de que diversos autores refieren el uso de caseinato de calcio como en la formulación de emulsiones de tipo O/W este resultó ineficiente ya que no logró integrar más del 5% de FO al sistema, al incrementar este porcentaje, se observaron fenómenos de cremación, aglomeración de partículas y desestabilización dando como resultado una completa separación de fases. El caseinato de calcio, en solución, contiene algunos agregados de caseína relativamente grandes inducidos por la unión del calcio con las caseínas. Durante la emulsificación la unión del calcio al caseinato disminuye las repulsiones entre las cadenas de caseinato, lo que provoca reacciones de polimerización y degradación en la superficie de la gota de emulsión a causa de una mayor tensión superficial y atracción entre partículas (Crujisen, 1996; Srinivasan y col., 2003; Casanova y Cardona, 2009).

Por otra parte, la estructura de los emulsificantes y el balance hidro-lipofílico que se generó a causa de su estructura química, el Tween 20 sólo pudo integrar una pequeña fracción de fase oleosa dentro del sistema en comparación con el Tween 80 que posee una cola alifática más larga y por ende es más lipofílico permitiendo incorporar una mayor cantidad de fase oleosa a la microemulsión sin presentar sedimentación.

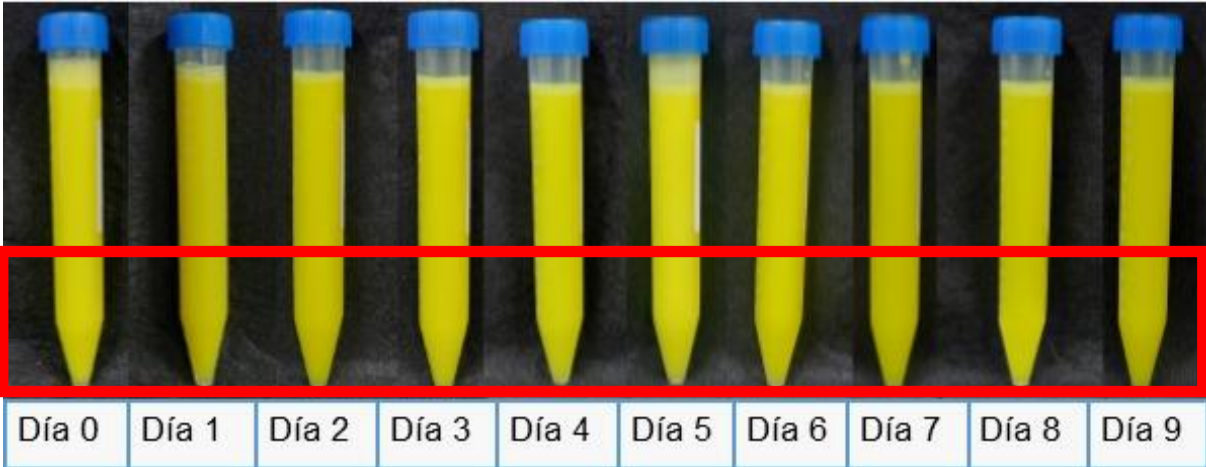


**Figura 2.** Monitoreo macroscópico de la estabilidad de la microemulsión simple formulada con caseinato de calcio (MCC-CAS).

En el caso de las microemulsiones formuladas con Tween 80 y glicerol como se logró mantener la estabilidad por un periodo mayor a 10 días (**Figura 3**). Esto puede deberse a la adición de glicerol en la fase acuosa continua que actúa como cosurfactante generando una actividad sinérgica con el Tween 80 reduciendo la tensión superficial del agua e incrementando las repulsiones electrostáticas entre partículas, evitando así la coalescencia del sistema. Esto concuerda con lo descrito por Ochoa y col. (2016) quien observó mayor estabilidad al incorporar glicerol en nanoemulsiones de curcumina, incrementando también el porcentaje de retención del compuesto activo, dicho efecto fue atribuido a una mayor relación superficie-volumen generada por la disminución de la tensión superficial efecto de la adición de glicerol en el sistema.

Mismo efecto fue observado por Mendoza y col. (2021) al analizar la estabilidad de una nanoemulsión de vainilla, obteniendo mejores resultados al incrementar la concentración de glicerol en la emulsión, este efecto fue atribuido a un incremento en la viscosidad del sistema, retardando la difusión de las moléculas del soluto a lo largo de la solución, favoreciendo la estabilidad. En otras palabras, se favorece la creación de sistemas monodispersos. Aditya y col. (2015) establecen que, a mayor viscosidad de la fase oleosa existe una menor probabilidad de coalescencia de las gotas de aceite lo que se relaciona con mayor estabilidad.





**Figura 3.** Monitoreo macroscópico de la estabilidad de la microemulsión simple con curcumina formulada con glicerol (MCC-GLI2).

Con estos resultados obtenidos sobre la estabilidad mostrada por las diferentes microemulsiones se obtuvieron los siguientes tratamientos para dar paso a la formulación de microemulsiones dobles:

1. Microemulsión simple con curcumina con caseinato de calcio y Tween 20 (5% FO) (MSC- CAS)
2. Microemulsión simple con curcumina con caseinato de calcio y Tween 20 (5% FO) (MCC-CAS)
3. Microemulsión simple sin curcumina con glicerina y Tween 80 (5% FO) (MSC-GLI1)
4. Microemulsión simple con curcumina con glicerina y Tween 80 (5% FO) (MCC-GLI1)
5. Microemulsión simple sin curcumina con glicerina y Tween 80 (10% FO) (MSC-GLI2)
6. Microemulsión simple con curcumina con glicerina y Tween 80 (10% FO) (MCC-GLI2).

## **2. Formulación de las microemulsiones dobles (O/W/O)**

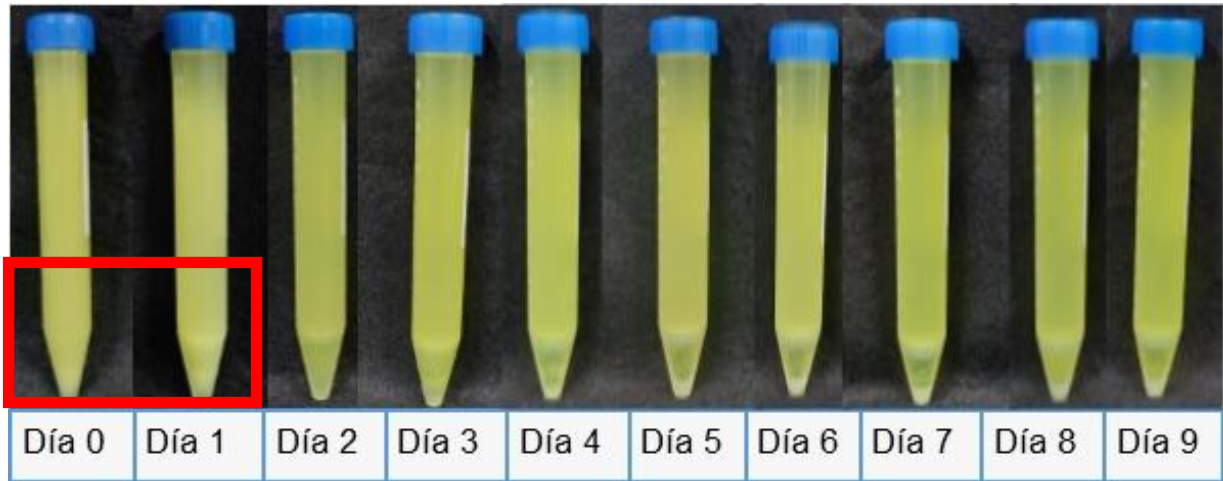
El método de formación espontánea presentó mayor eficacia y generó una encapsulación de partícula más uniforme en la formación de la microemulsión doble, esto coincide con lo reportado por Bamba y col. (2018) quienes infirieron que al emplear un método de baja energía para la formación de microemulsión doble se favorece al sistema evitando la rotura de las partículas previamente formadas en la emulsión simple. De las microemulsiones dobles (O/W/O) formuladas con diferentes

proporciones de fase oleosa y acuosa la más estable fue aquella con una relación 80% de FO, 10% de fase dispersa más 10% de surfactante (Span 80).

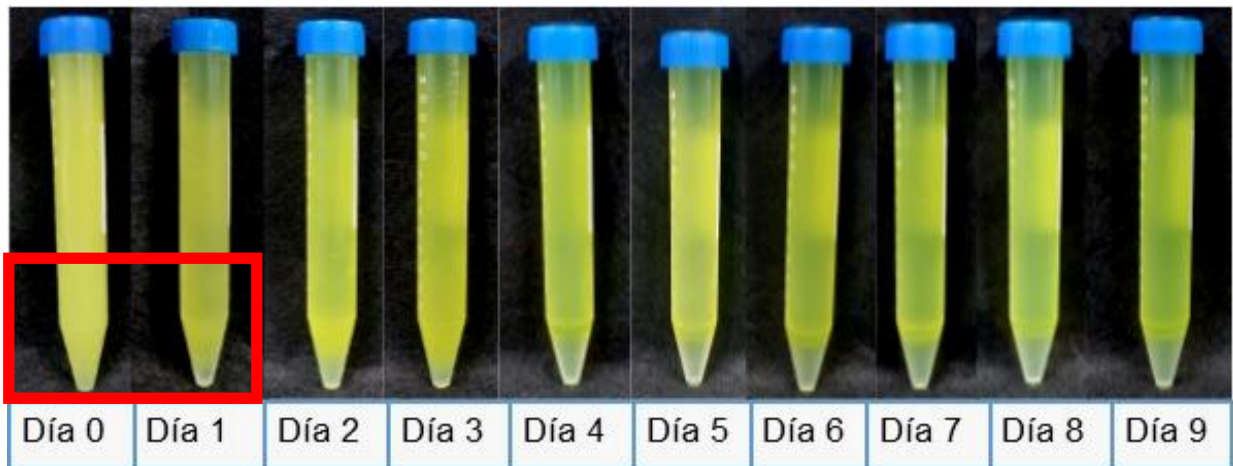
Al ser una microemulsión múltiple de tipo O/W/O su última fase es de carácter hidrofóbico, por lo que presenta valores bajos de HLB (1.06 - 8.06). Debido a esto el sistema presenta mayor afinidad por surfactantes de tipo no iónicos como el Span 80 (HLB 4.3) ya que su extremo hidrofóbico presenta interacciones con las partículas de la fase oleosa, mientras que su cabeza hidrofílica presenta afinidad a las partículas de la microemulsión simple que se compone principalmente de la fase acuosa, logrando un efecto simultáneo de atracción entre ambos extremos lo que evita la separación de fases y propicia la formación de una interfase, protegiendo las propiedades funcionales de la curcumina, sin embargo, las microemulsiones dobles presentan fenómenos de desestabilización a medida que transcurre el tiempo. En estas se observó una pequeña separación de fases transcurridas 24 h de su formulación que incrementó a medida que transcurrieron los días de almacenamiento hasta llegar al día 4 donde se observó una separación total de fases (**Figuras 4A y 4B**).

Esto concuerda con lo reportado por Katsouli y col. (2020), quienes elaboraron una nanoemulsión doble cargada con Coenzima Q10 y al transcurso de los días observaron incremento en el tamaño de partícula y con ello desestabilización de fases hasta una completa separación al día 15 de almacenamiento a 4 °C. Dicho fenómeno puede indicar una distribución de tamaño bimodal con gotas más grandes que favorecen la coalescencia del sistema.

**A) DMCC-CAS**



**B) DMCC-GLI2**



**Figura 4.** Monitoreo macroscópico de la estabilidad de las microemulsiones dobles A) DMCC-CAS B) DMCC-GLI2.

A partir de las microemulsiones simples formuladas anteriormente se obtuvieron las siguientes formulaciones de microemulsión doble:

1. Doble microemulsión sin curcumina con caseinato de calcio (5% FO) (DMSC-CAS)
2. Doble microemulsión con curcumina con caseinato de calcio (5% FO) (DMCC-CAS)
3. Doble microemulsión sin curcumina con glicerina (5% FO) (DMSC-GLI1)
4. Doble microemulsión con curcumina con glicerina (5% FO) (DMCC-GLI1)
5. Doble microemulsión sin curcumina con glicerina (10% FO) (DMSC-GLI2)
6. Doble microemulsión con curcumina con glicerina (10% FO) (DMCC-GLI2).

## **B. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES DE CURCUMINA**

### **1. Parámetro de color**

La luminosidad está relacionada con el tamaño de partícula debido a que las partículas de mayor dimensión dispersan la luz con mayor intensidad. En el **Cuadro 5** se puede observar que todas las emulsiones mostraron valores de  $L^*$  dentro del rango 95.82 -97.00, por lo que todas las microemulsiones simples presentaron una luminosidad alta. El tratamiento MCC-GLI2 presentó un valor de  $L^*$  estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) mayor al resto de los tratamientos, esto puede deberse a una mayor cantidad de compuesto activo encapsulado en el sistema.

**Cuadro 5.** Valores de Luminosidad para cada formulación al inicio del almacenamiento.

<b>Tratamiento</b>	<b>Luminosidad (L*)</b>
MCC-CAS	96.14 ± 0.455 <sup>b</sup>
MCC-GLI1	95.82 ± 0.017 <sup>b</sup>
MCC GLI2	96.85 ± 0.010 <sup>a</sup>
DMCC-CAS	77.08 ± 0.157 <sup>c</sup>
DMCC-GLI1	40.89 ± 0.733 <sup>d</sup>
DMCC-GLI2	28.34 ± 0.204 <sup>e</sup>

Medias ± DE (P < 0.05). Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

El color de una emulsión está vinculado a sus propiedades coloidales, tales como el tamaño de las gotas, la concentración y el índice de refracción. La luminosidad de la emulsión tiende a incrementar a medida que la concentración de las gotas aumenta y su tamaño disminuye (McClements y col., 2011; Gadhave, 2014; Salvia-Trujillo y col., 2015). Estos resultados difieren con los descritos por Ruiz (2021) al elaborar emulsiones a partir de subproductos de la industria cervecera, observando una mayor luminosidad a medida que se incrementaba el porcentaje de subproducto encapsulado dentro de la emulsión.

En el caso de las microemulsiones dobles, todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre sí, presentando una mayor luminosidad la formulación que contenía caseinato de calcio, ya que éstas presentaron un aspecto más lechoso de apariencia blanquecina conferida por la incorporación de este componente. El aspecto lechoso en las emulsiones formuladas con caseinato provoca una mayor la dispersión de la luz por las partículas presentes en la fase dispersa la cual puede causar mayor interferencia dando una apariencia más turbia que afecta la luminosidad percibida de la emulsión (Huck, 2013).

Por otra parte, al comparar las formulaciones de glicerol se observó que aquellas que fueron formulada con la fase dispersa que contenía mayor porcentaje de fase oleosa presentan una luminosidad menor ( $P \leq 0.05$ ), por lo que se puede inferir que poseen un mayor tamaño de partícula derivado de un mayor porcentaje de compuesto activo encapsulado. Coincidiendo con Ramírez-Nieto y col. (2019) quienes encontraron valores menores de  $L^*$  en emulsiones de Uchuva que contenían mayor proporción de FO.

Las propiedades de color están relacionadas con los pigmentos los cuales pueden ser protegidos o enmascarados mediante microencapsulación y así prolongar su vida útil. No obstante, por la misma naturaleza del proceso, estos pueden presentar variaciones en el ángulo Hue también conocido como matiz. Diversos estudios indican que el color puede verse afectado por los componentes de encapsulación (Obón y col., 2009), y la concentración del compuesto encapsulado (Ahmed y col., 2010).

El **Cuadro 6** enumera los valores obtenidos para el ángulo Hue de las microemulsiones recién elaboradas. Los ángulos de las microemulsiones simples cargadas de curcumina se encuentran entre los valores de 74 a 78, observando el diagrama cromático CIE Lab se encuentran en el rango de color amarillo naranja esto concuerda con lo descrito por Borrin y col. (2016) quienes reportaron ángulos Hue de entre 78 y 86 para nanoemulsiones de curcumina estabilizadas con Tween 80 y glicerol.

La formulación MCC-GLI2 presentó valores mayores al resto de las microemulsiones simples, esto se puede deber a una mayor cantidad de FO y por ende contenido de curcumina. Estos resultados coinciden con Hernández-Huesca (2016) quien observó un incremento en los valores de ángulo Hue a medida que se incorporaba mayor cantidad de fase oleosa en nanoemulsiones de curcumina. Por su parte Ramírez-Nieto y col. (2019) no encontraron relación entre la cantidad de compuesto activo incorporado al sistema y el ángulo Hue de emulsiones de uchuva.



**Cuadro 6.** Valores de ángulo Hue para cada formulación al inicio del almacenamiento.

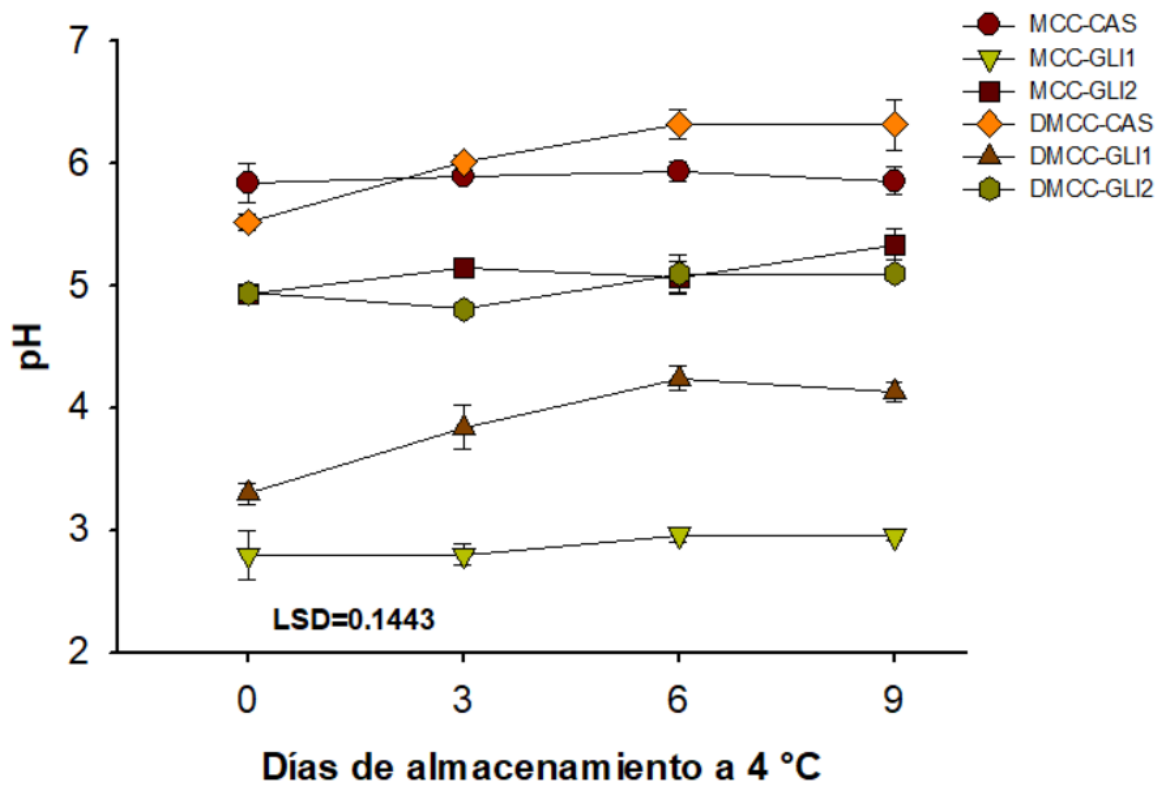
<b>Tratamiento</b>	<b>Ángulo Hue (H°)</b>
MCC-CAS	73.22 ± 0.05 <sup>bc</sup>
MCC-GLI1	74.29 ± 3.25 <sup>b</sup>
MCC GLI2	77.71 ± 0.14 <sup>a</sup>
DMCC-CAS	71.88 ± 0.18 <sup>cd</sup>
DMCC-GLI1	70.53 ± 0.08 <sup>de</sup>
DMCC-GLI2	69.44 ± 0.09 <sup>e</sup>

Medias ± DE (P<0.05). Letras iguales entre columnas, no existen diferencias estadísticas significativas.

En el caso de las microemulsiones dobles, éstas se encuentran en rango de 69 a 72 ubicándose en el área de color amarillo-naranja, la disminución en el ángulo Hue, con respecto a las microemulsiones simples, se debe a que la última fase de microemulsión doble está compuesta por aceite de canola mientras que en la microemulsión simple su fase externa es acuosa, además estas poseen una menor cantidad de curcumina en su formulación. Por otra parte, al ser una emulsion múltiple, la curcumina se encuentra protegida por la adición de una tercera interfase. El tratamiento DMCC-GLI2 presentó mayor disminución estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al tratamiento DMCC-CAS en el valor de ángulo Hue, sin embargo, no presentó diferencia con respecto al tratamiento DMCC-GLI1, esto puede deberse a una mayor concentración de FO en la formulación.

## **2. Monitoreo de pH**

En la **Figura 5** se muestra el comportamiento del pH de las microemulsiones durante su almacenamiento a 4 °C. De manera general para todos los tratamientos se observó un aumento estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) a partir del día 3 de almacenamiento. Las microemulsiones simples con curcumina presentaron un pH inicial entre 2.62 y 5.84 mientras que en las dobles el pH se encontraba en un entre 3.30 a 5.52, durante el transcurso de los días se presentó un ligero incremento en el pH, finalizando con valores entre 2.95 a 5.86 en microemulsiones simples y 4.13 a 6.32 en microemulsiones dobles. Esto puede ser debido a que la curcumina se va liberando progresivamente de una fase a otra hasta quedar completamente liberada en el medio.



**Figura 5.** Comportamiento del pH de las microemulsiones durante su almacenamiento a 4 °C durante 10 días. Cada punto representa la media de 3 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar. LSD= 0.1443 ( $\alpha=0.05$ ).

La formulación MCC-GLI2 fue la microemulsion simple que sufrió mayor incremento de pH 8% estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al resto de microemulsiones simples siendo la formulación MCC-CAS la que menor incremento presentó 0.34%; sin embargo, al comparar los resultados con su formulación doble (DMCC-CAS) esta presentó un incremento de pH significativamente mayor al resto de las formulaciones 14.49%. Mientras que la microemulsion doble formulada con GLI2 presentó un incremento de 3.23%. Lo que sugiere que al momento de encapsular la microemulsión simple MCC-GLI2 en una tercera fase el compuesto activo se protege liberándose progresivamente de una fase a otra lo que prolongando así su efecto.

Por otra parte, la curcumina presenta una estabilidad muy baja ante variaciones de pH, ya que se descompone muy rápidamente a pH básico, se puede afirmar que el intervalo de pH de máxima estabilidad para este compuesto oscila entre 3 y 6 (Elguero, 2015). Por lo que se puede aseverar que el pH de las formulaciones se encuentra en rangos óptimos para la estabilidad del compuesto activo. La estabilidad de la curcumina en un medio ácido se debe a la formación de un dieno conjugado, el cual no se produce en pH neutro y básico debido a la desprotonación de los grupos hidroxilo de los anillos fenólicos (González-Albadalejo y col., 2015). Además, se ha observado que la velocidad de degradación de la curcumina se incrementa a partir de un pH 7. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Kharat y col. (2017) quienes mencionan que la curcumina es estable en emulsiones ácidas. Por su parte Aditya y col. (2015) reportaron mayor estabilidad de la curcumina en emulsiones cuyo pH se encontraba en valores de 2.85

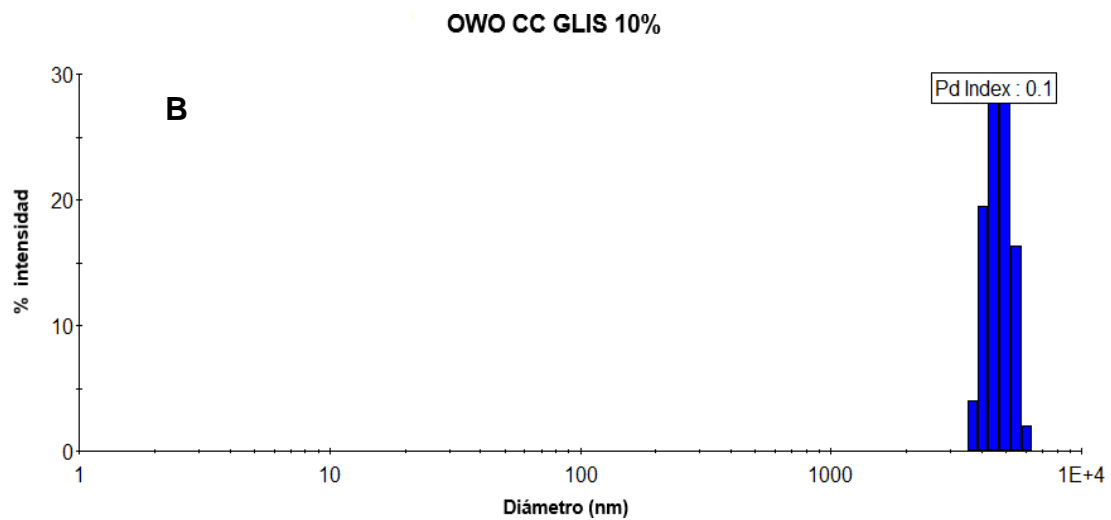
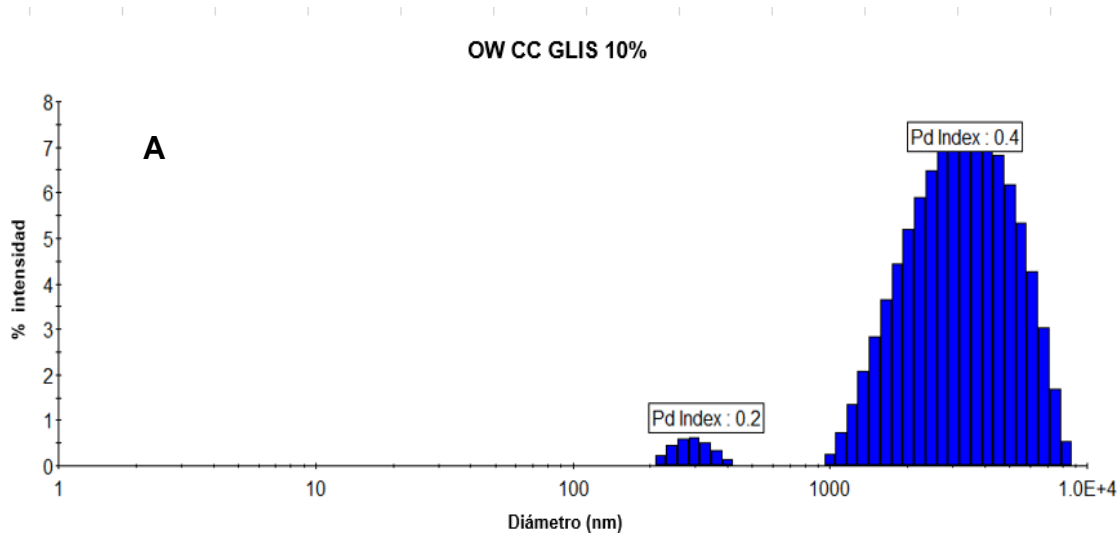
después de un periodo de almacenamiento de 15 días posterior a la elaboración en condiciones de 4 y 23 °C, respectivamente. Asimismo, Chica-Barco y col. (2022) reportaron estabilidad por 15 días en nanoemulsiones de oleorresina de cúrcuma formuladas con pH de 3.03.

La microemulsiones dobles con glicerina presentaron valores de pH ácidos y a su vez un menor incremento durante el almacenamiento en comparación con las MCC-CAS, por lo que se puede inferir que las formulaciones con glicina son un tratamiento adecuado para preservar las propiedades bioactivas de la curcumina.

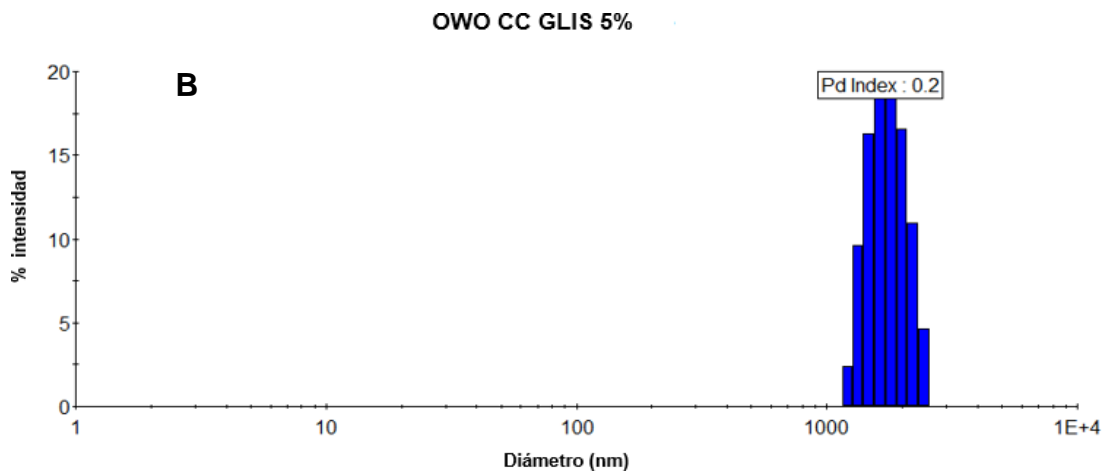
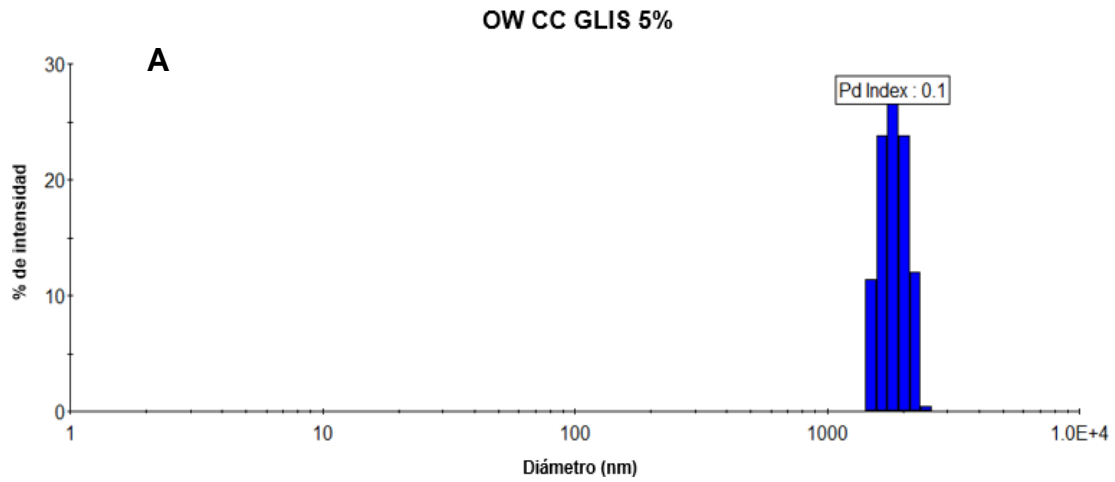
### **3. Índice de polidispersión y tamaño de partícula**

Se estimó el tamaño de partícula y el índice de polidispersión de las diferentes formulaciones con la finalidad de llevar a cabo su caracterización, analizar las poblaciones de partículas existentes en el sistema y definir mediante polidispersión su estabilidad.

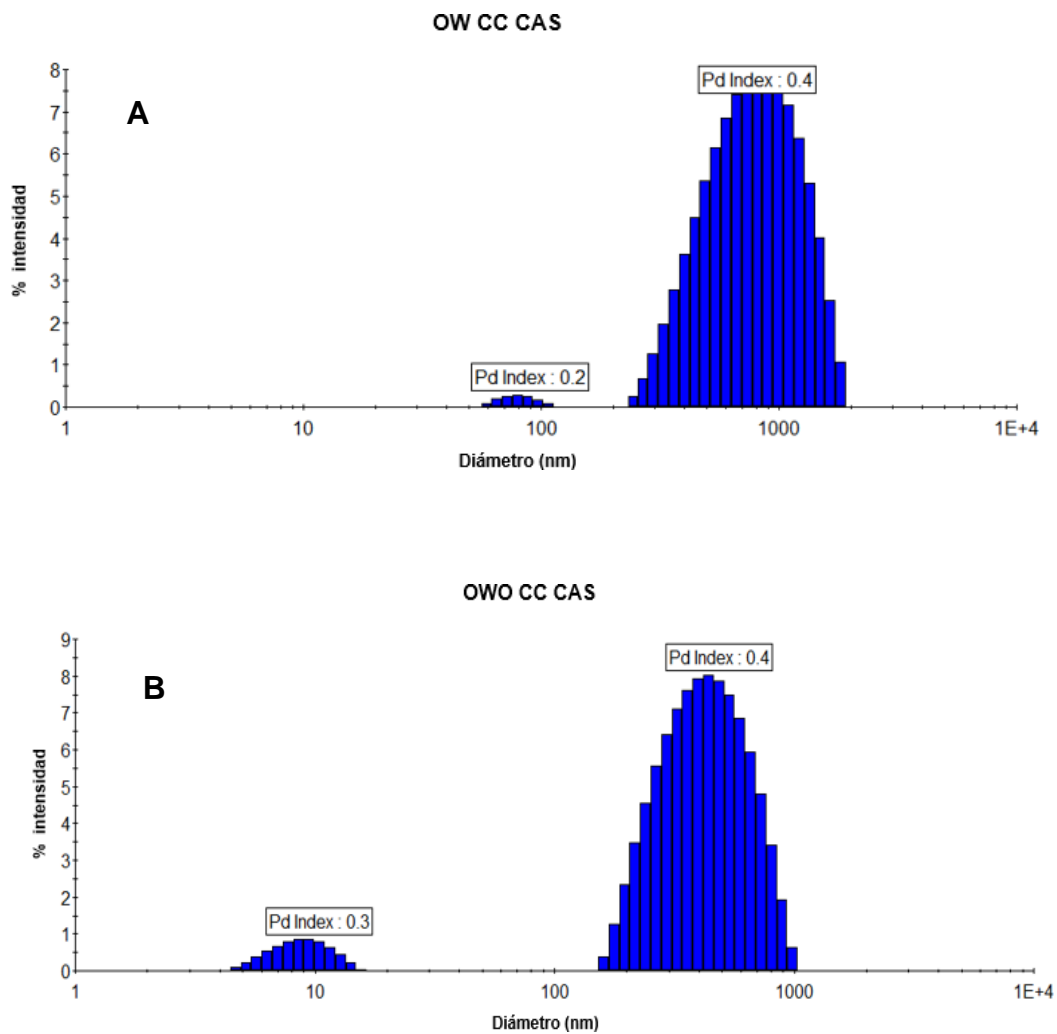
De manera general el tratamiento MCC-GLI2 presenta un diámetro de partícula promedio de 3.53  $\mu\text{m}$  (**Figura 6A**), mientras que el tratamiento DMCC-GLI2 presenta un tamaño de gota promedio de 4.17  $\mu\text{m}$  (**Figura 6B**) ambas con un índice de polidispersión (PDI) de 0.1 para ambas formulaciones, por otra parte, los tratamientos formulados a partir de glicerol y 5% de FO (MCC-GLI1 y DMCC-GLI1) presentaron un diámetro de partícula de 1.8 y 1.7  $\mu\text{m}$  (**Figura 7A y 7B**), respectivamente, con un índice de polidispersión estimado de 0.1. La diferencia en el tamaño de partícula puede deberse a la cantidad de fase oleosa en el sistema, ya que al ser encapsulada mayor cantidad de curcumina en la fase dispersa genera un tamaño de partícula mayor.



**Figura 6.** Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con glicerol 10% FO A) MCC-GLI2 B) DMCC-GLI2.



**Figura 7.** Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con glicerol 5% FO A) MCC-GLI1) B) DMCC-GLI1.



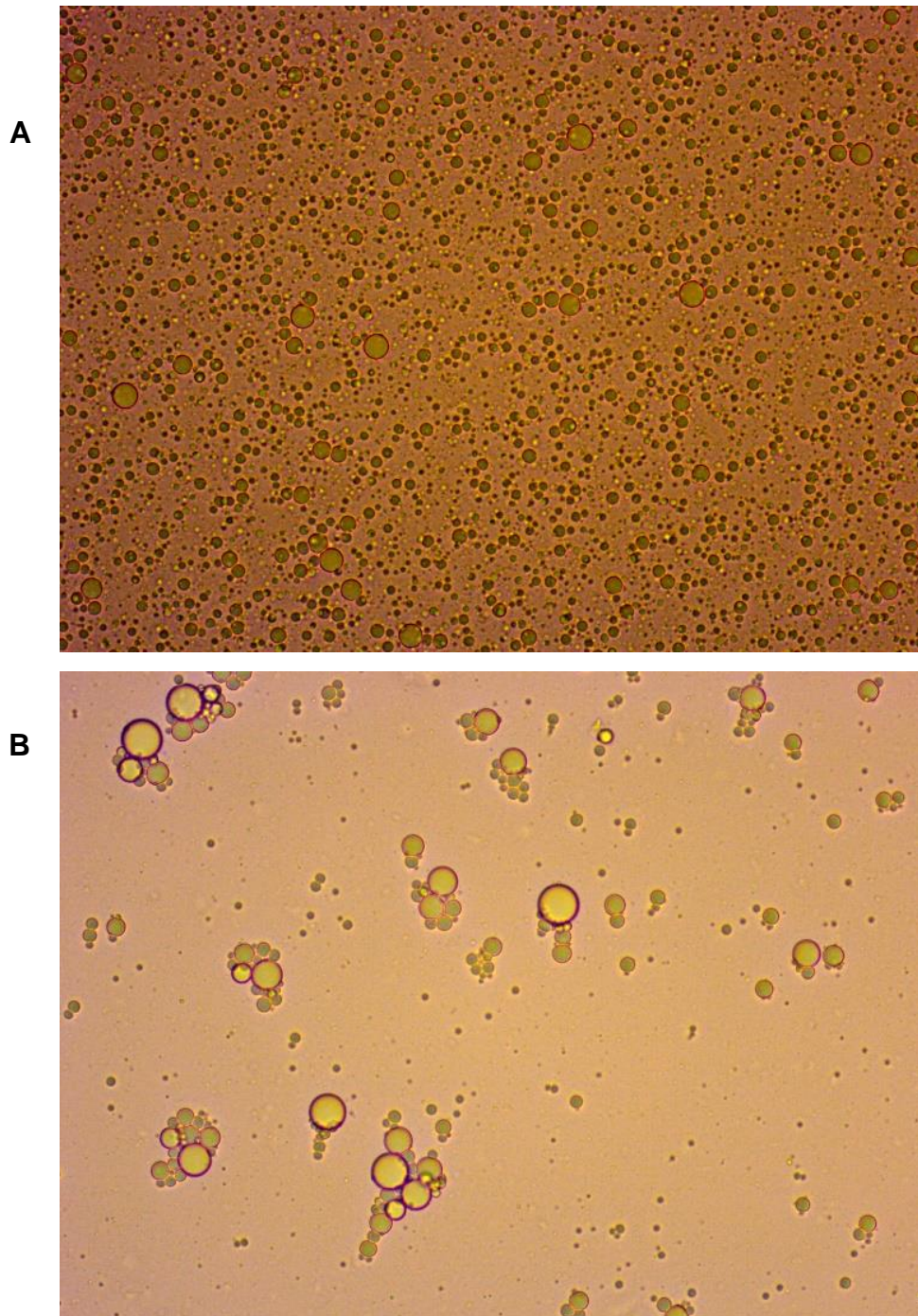
**Figura 8.** Índice de polidispersión y tamaño de partícula de microemulsiones simples y dobles con caseinato de calcio A) MCC-CAS B) DMCC-CAS.



Ramírez-Nieto y col. (2019) elaboraron una emulsión a base de extracto de uchuva, mediante métodos de formación espontánea, obteniendo tamaños de partícula entre 2.60 y 31.10  $\mu\text{m}$ ; observando que el tamaño de partícula disminuyó a medida que se redujo el porcentaje de FO y se incrementó la cantidad de Tween 20.

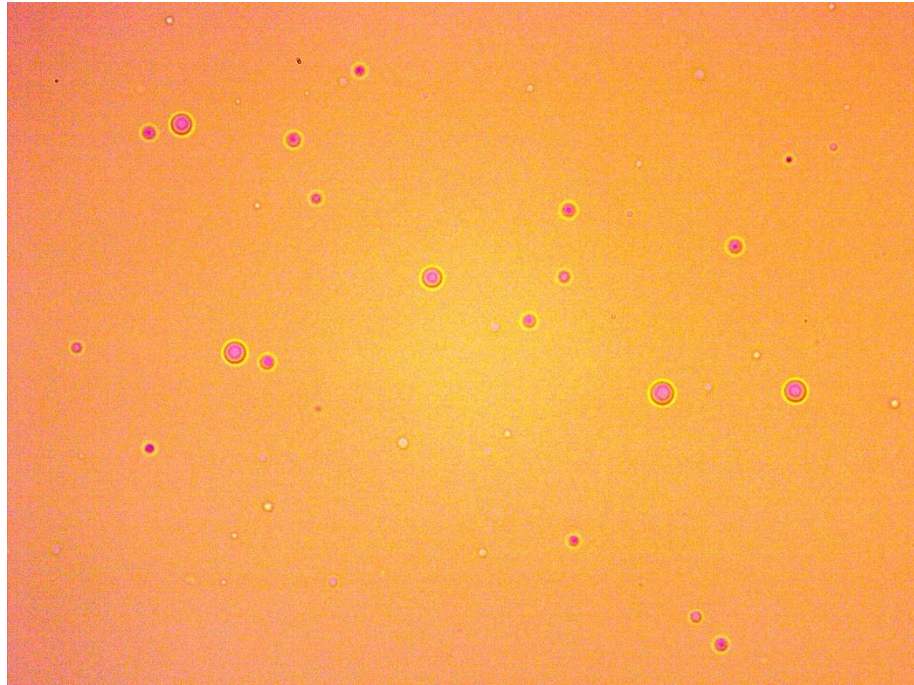
Los tratamientos formulados a partir de caseinato de calcio (MCC-CAS y DMCC-CAS) presentaron un menor tamaño de partícula (0.841 y 0.451  $\mu\text{m}$ , respectivamente) (Figura 8a y 8b); sin embargo, éstos presentaron un índice de polidispersión mayor (0.4) lo que se relaciona con una menor estabilidad.

Las emulsiones preparadas fueron observadas en un microscopio óptico con cámara adaptada empleando objetivos de 40 y 100x. En cuanto a la morfología de los tratamientos las microemulsiones presentan una forma esférica con glóbulos aparentemente uniformes. Las microemulsiones simples formuladas con Tween 80 como surfactante y glicerol como cosurfactante (**Figura 9a**) mostraron mayor homogeneidad que aquellas compuestas por Tween 20 y caseinato de calcio como surfactantes (**Figura 9b**). Además, se pudo observar que las microemulsiones que contenían caseinato de calcio en su formulación presentaban aglomeraciones lo que se relaciona con poca estabilidad ya que favorece fenómenos de coalescencia. Esto se puede deber al enlace de calcio a las caseínas lo que disminuye las repulsiones electrostáticas entre las cadenas de caseinato, esto conlleva a la agregación de partículas (Yerramilli y Ghosh, 2017). En cuanto a las microemulsiones dobles se puede observar una mayor cantidad de partículas en la formulación derivada de Tween 80 y glicerol en comparación con el tratamiento elaborado con Tween 20 y caseinato de calcio como surfactantes (**Figura 10a y 10b**).

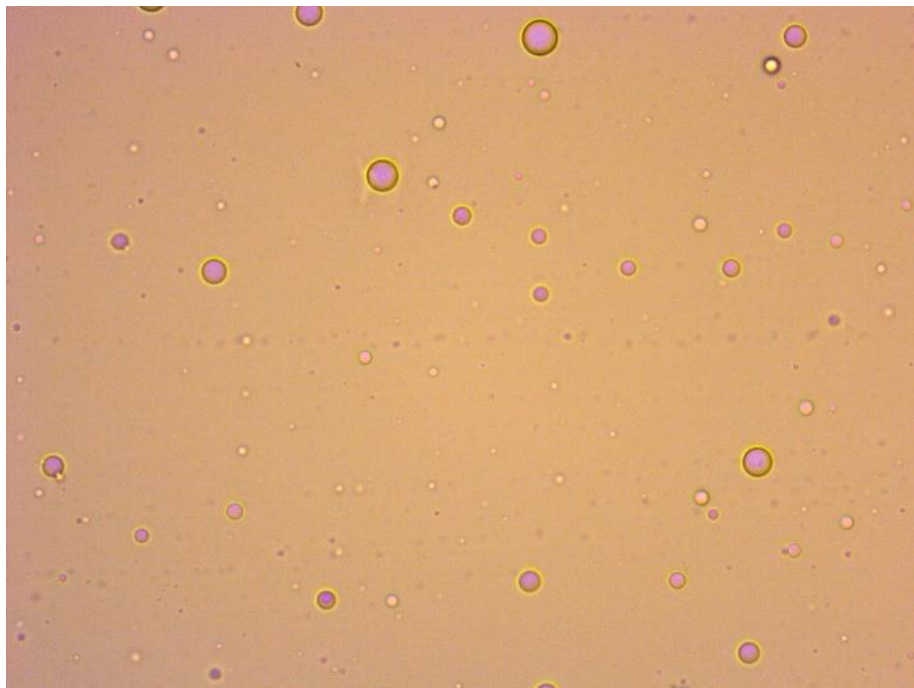


**Figura 9.** Microscopía de la microemulsiones simples A) MCC-GLI2 B) MCC-CAS.

**A**



**B**



**Figura 10.** Microscopía de las microemulsiones dobles con caseinato de calcio  
A) DMCC-GLI2 B) DMCC-CAS.

### C. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO*

En el **Cuadro 7** se muestran los resultados donde se puede observar que al aplicar una microemulsión simple (MCC-GLI2) se presentó el mayor halo de inhibición seguido por MCC-GLI1. Esto puede deberse a que en la microemulsión con glicerina al 5% de FO hay una menor cantidad de curcumina encapsulada. Asimismo, se observó que una microemulsión doble (DMCC-GLI2) también presentó una buena inhibición, pero 35.69% menos que la microemulsión simple al 10%, lo cual puede deberse a que presenta una menor cantidad de curcumina. Además, al ser un sistema múltiple se espera que la liberación gradual del compuesto activo ocurra de una fase a otra, por lo que el efecto antimicrobiano inicial sería menor, pero prolongado con el tiempo.

Por otra parte, el uso del caseinato de calcio en las microemulsiones redujo significativamente el halo de inhibición en un 63% comparado con el glicerol, ya que su halo de inhibición se presentó similar al NaClO 10% y las microemulsiones dobles sin curcumina. La representación visual de los halos de inhibición se puede observar en el **Anexo 1**. Esto puede ser derivado de las aglomeraciones presentadas en la formulación con caseinato de calcio, lo que incrementa la superficie de las partículas, disminuyendo la relación superficie-volumen de la microemulsión, evitando así la unión con la pared celular de la bacteria lo que disminuye la lisis celular y con ello la actividad antimicrobiana de la curcumina.

**Cuadro 7.** Diámetros de zona de inhibición de *Salmonella serovar albany*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Diámetro de zona de inhibición (mm)</b>
Control +	00.00 ± 0.00 <sup>h</sup>
AC. CANOLA	00.00 ± 0.00 <sup>h</sup>
AC. CAN-CUR	16.66 ± 0.98 <sup>d</sup>
NaClO 10%	12.56 ± 3.45 <sup>ef</sup>
MSC-CAS	09.20 ± 1.74 <sup>g</sup>
MCC-CAS	13.03 ± 1.83 <sup>ef</sup>
MSC-GLI1	16.93 ± 2.51 <sup>d</sup>
MCC-GLI1	27.96 ± 1.58 <sup>b</sup>
MSC-GLI2	16.30 ± 1.12 <sup>d</sup>
MCC-GLI2	35.66 ± 2.27 <sup>a</sup>
DMSC-CAS	10.86 ± 1.48 <sup>fg</sup>
DMCC-CAS	17.50 ± 1.05 <sup>d</sup>
DMSC-GLI1	15.03 ± 1.28 <sup>d</sup>
DMCC-GLI1	16.26 ± 2.91 <sup>d</sup>
DMSC-GLI2	16.53 ± 0.11 <sup>d</sup>
DMCC-GLI2	22.93 ± 2.32 <sup>c</sup>

MSC: microemulsión sin curcumina; MCC: microemulsión con curcumina; CAS: caseinato de calcio; GLI: glicerina; DMSC: doble microemulsión sin curcumina; DMCC: doble microemulsión con curcumina. Medias ± DE (P<0.05). Letras iguales entre columnas, significa que no existen diferencia estadística significativa entre tratamientos.

Resultados similares fueron obtenidos por Bagale y col. (2023) quienes probaron el efecto inhibitorio de una nanoemulsión simple (OW) con curcumina (100 µg/mL) obteniendo un halo de inhibición de 12 y 18 mm contra las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. El incremento en el diámetro de inhibición se puede deber a que en su emulsión incorporó menor cantidad de curcumina (100 µg/mL) mientras que en este estudio se pudieron encapsular 150 µg/mL, por otra parte, su tratamiento fue probado contra cepas de *E. coli* y *S. aureus* que, si bien son bacterias Gram positivas al igual que *Salmonella serovar albanus* la curcumina puede presentar mayor eficacia contra este microorganismo; sin embargo, no se ha reportado en la literatura el uso de emulsiones de curcumina para inhibir a *Salmonella*. El potencial antibacteriano de cualquier partícula dependerá de sus características fisicoquímicas (tamaño, forma y cualidades superficiales), así como de la cantidad de compuesto activo encapsulado.

El incremento en la actividad antibacteriana de las microemulsiones pudo deberse a la reducción del tamaño de partícula lo que favorece la adhesión del compuesto activo a la superficie de la membrana celular de la bacteria lo que provocó alteraciones en su función y por lo tanto pérdida de la integridad (Wang y col., 2017; Negahdari y col., 2020), esto explicaría por qué el aceite con curcumina a pesar de integrar una mayor cantidad del compuesto activo presenta un menor halo de inhibición con respecto a las microemulsiones de curcumina. Resultados similares fueron obtenidos por Ruíz (2020) quien mediante un estudio *in vitro* observó una disminución de 40% a 73% de la actividad antimicrobiana para aceites esenciales no encapsulados en comparación de aceites esenciales microencapsulados.



Por su parte, Tariq y col. (2016) probaron el efecto de emulsiones múltiples cargadas con antibióticos (amoxicilina y ceftazidima) contra cepas resistentes a antibióticos (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, entre otras), encontrando que los antibióticos amoxicilina y ceftazidima sin microemulsión eran ineficaces contra el microorganismo. Sin embargo, la ceftazidima en emulsiones múltiples de tipo agua en aceite en agua (W/O/W) mostró zonas de inhibición apreciables (en el rango de 11 - 32 mm). Los autores atribuyeron este efecto a que las emulsiones múltiples poseen una mayor estabilidad cinética a la exhibida por el antibiótico sin emulsionar, esto debido a la presencia de muchos tensioactivos logrando una mayor exposición de los agentes patógenos al antibiótico emulsionado.

Por otra parte, el efecto antibacteriano de las microemulsiones sin curcumina puede deberse a la presencia de Tween en su formulación, el Tween al ser detergente no iónico en altas concentraciones pueden destruir la membrana celular del microorganismo; sin embargo, no se encontró información en la literatura respecto al posible efecto antimicrobiano de este compuesto.

De manera general, los tratamientos adicionados con curcumina presentaron diámetros de inhibición superiores a los tratamientos que no contenían este compuesto, por lo que se puede atribuir una actividad antimicrobiana.

## D. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VIVO*

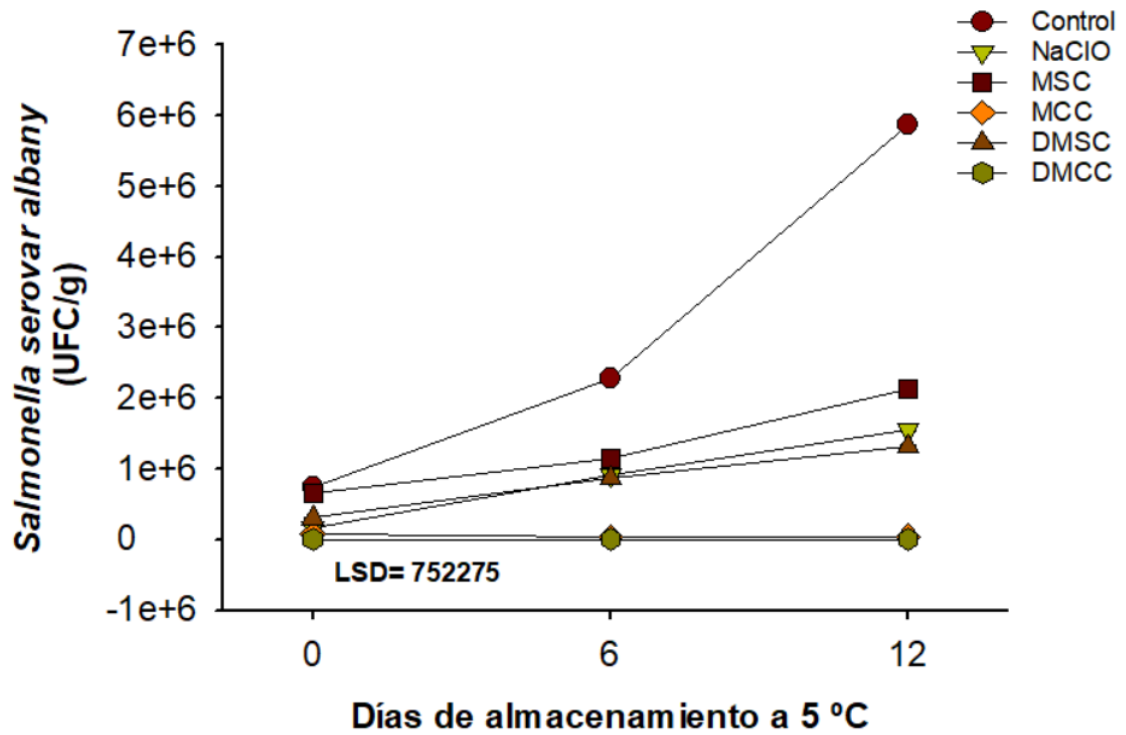
### 1. Recuento e inhibición de *Salmonella serovar alban*

La población inicial de *S. serovar alban* en hojas de lechuga MMP fue de  $7.4 \times 10^5$  (Control),  $1.63 \times 10^5$  (NaClO),  $6.46 \times 10^5$  (MSC),  $7 \times 10^4$  (MCC),  $3.03 \times 10^5$  (DMSC) y  $3.33 \times 10^3$  (DMCC) UFC/ g; presentando diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre todos los tratamientos (**Figura 11**).

Estos resultados sugieren que la lechuga mínimamente procesada posee un ambiente adecuado para el desarrollo y crecimiento de *S. serovar alban* durante el almacenamiento por 12 días a 5 °C lo que concuerda con lo reportado por Lound y col. (2017) quienes describen al género *Salmonella* como microorganismos resistentes a condiciones extremas las cuales pueden adoptar propiedades psicotróficas, llegando a crecer en alimentos almacenados a temperaturas comprendidas entre 2 y 4 °C.

El sexto día de almacenamiento se observó un incremento estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la carga bacteriana de *S. serovar alban* en los tratamientos control, NaClO, MSC y DMSC obteniendo valores de  $2.28 \times 10^6$ ,  $9.16 \times 10^5$ ,  $1.14 \times 10^6$ ,  $8.66 \times 10^5$  UFC/g. Lo que significó un incremento de 209%, 461%, 76.28%, 185%, respectivamente. Por otra parte, la carga microbiana de *S. serovar alban* fue afectada significativamente con la aplicación de los tratamientos MCC y DMCC presentando al una disminución en la carga bacteriana de 57% y 100%, respectivamente.





**Figura 11.** Crecimiento de *Salmonella serovar albany* (UFC/g) durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada tratada con microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC. Inóculo inicial de  $3.4 \times 10^8$  UFC/mL. Cada punto representa la media de 3 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar.  $LSD= 7.5 \times 10^5$  ( $\alpha=0.05$ ).

Durante evaluaciones posteriores no fue detectado crecimiento para el tratamiento DMCC en la dilución más concentrada (dilución  $1 \times 10^3$ ), por su parte en las hojas tratadas con MCC mostraron un ligero incremento de 8.33%. Por lo que se sugiere que la aplicación de DMCC posee un efecto mayor sobre el crecimiento de *S. serovar albany*, dicho efecto puede ser atribuido al incremento en el periodo de acción del compuesto activo, por la liberación de la curcumina de una fase a otra.

Esto concuerda con lo reportado por Wang y col. (2020) quienes evaluaron recubrimientos de curcumina en fresas y encontraron que el recubrimiento de curcumina inhibió la proliferación de bacterias como *Bacillus cereus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Del mismo modo, en un estudio *in vitro* se investigó el proceso de microencapsulación para mejorar la estabilidad y solubilidad de la curcumina, la cual mostró un mayor efecto antimicrobiano en comparación con la curcumina libre, además se evidenció actividad antimicrobiana posterior al proceso de microencapsulación y secado por aspersion (Wang y col., 2009).

En otro estudio se evaluó la interacción y aplicación de curcumina microencapsulada en soforolípidos formando micelas que mostraron actividad antimicrobiana para ambos tipos de bacterias, Gram positivas y Gram negativas. Además de reducir la degradación de la curcumina en aproximadamente un 95%, se observó un efecto sinérgico de la curcumina con el biosurfactante contra las cepas de *P. aeruginosa*. Este efecto puede atribuirse a una mayor interacción entre las micropartículas de curcumina con proteínas y lípidos presentes en la membrana bacteriana debilitándola lo que logra una mayor penetración en las células bacterianas, oxidando los componentes celulares mediante la producción de

especies reactivas de oxígeno (ERO). Por otra parte, se ha demostrado que la curcumina presenta actividad antibiofilm a través de diferentes mecanismos que dañan la estructura de la pared celular bacteriana, lo que conduce a la liberación del citoplasma y a la reducción del metabolismo celular bacteriano (Raduly y col., 2021). El mecanismo de acción podría estar relacionado con la interacción electrostática entre las cargas negativas de la superficie de las microemulsiones y las cargas positivas de las fimbrias de *Salmonella*, que son estructuras que facilitan la adhesión bacteriana.

Asimismo, se observó un efecto similar contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* en lechuga fresca tratada con nanoemulsiones simples de aceite de orégano al 0.1%, observándose reducciones en la carga bacteriana de *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* y *E. coli*. (Bhargava y col., 2015). Por su parte, Landry y col. (2015) observaron disminución en crecimiento bacteriano obteniendo conteos bajos (2 y 3 log UFC/g) de *S. Enteritidis* y *E. coli* en semillas de soya y brócoli tratadas con nanoemulsiones de carvacrol.

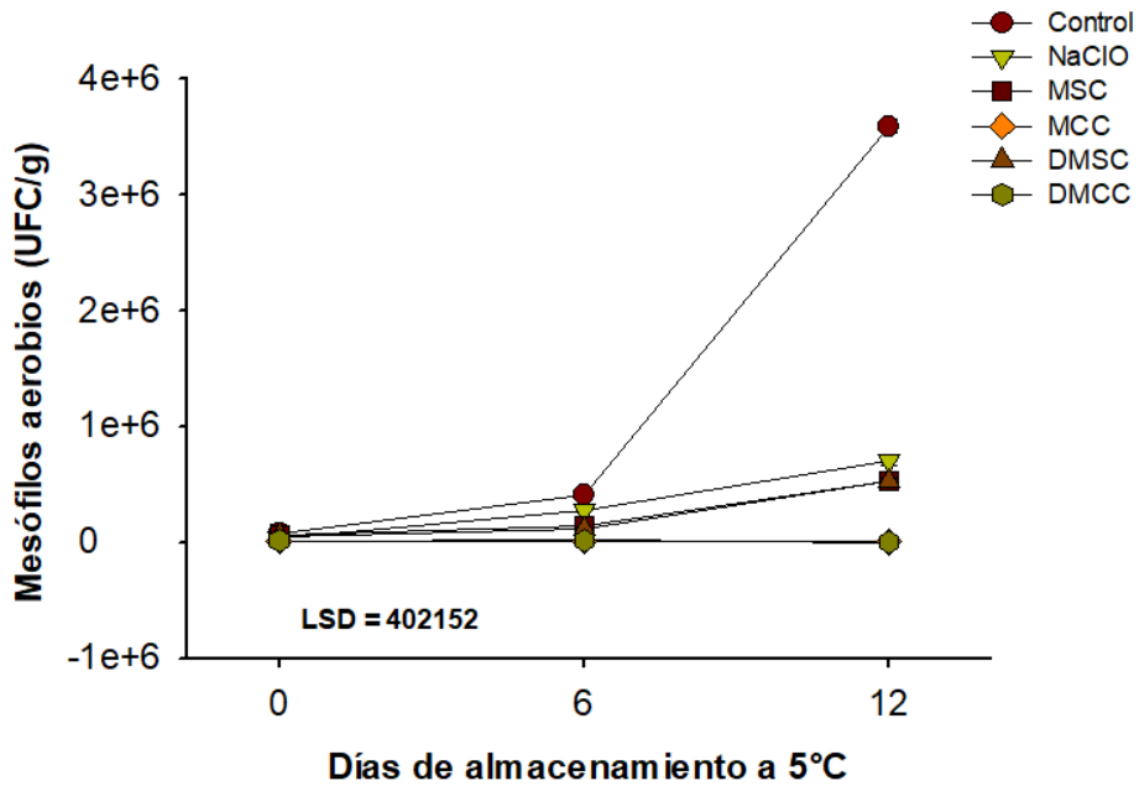
Por otra parte, a pesar de contener una menor concentración de curcumina encapsulada el tratamiento DMCC mostró mejores resultados logrando inhibir al 100% la carga bacteriana al final del almacenamiento, lo cual se puede atribuir a la interacción de los componentes de la microemulsión y los sustratos de la lechuga, por otra parte al ser de liberación prolongada la microemulsión doble actúa de manera continua liberándose en el medio, interactuando con los exudados intracelulares de la lechuga, evitando la adherencia de la bacteria a la pared celular lo que prolongó el efecto antimicrobiano en el producto.

Los resultados de la presente investigación no pudieron ser comparados con otros estudios ya que, a la fecha no se encontraron investigaciones publicadas que comparen el efecto antibacteriano de microemulsiones simples y dobles, por lo cual se puede abrir una línea de investigación sobre la implementación de dicha tecnología en el área poscosecha.

## **2. Mesófilos aerobios**

Al inicio del almacenamiento los tratamientos MCC y DMCC, desarrollaron menor carga microbiana  $1.33 \times 10^4$  UFC/g, seguido por los tratamientos NaClO, DMSC, MSC y control con  $4 \times 10^4$ ,  $5.33 \times 10^4$ ,  $6.33 \times 10^4$  y  $7.66 \times 10^4$  UFC/g, respectivamente, sin presentar diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos (**Figura 12**). Los resultados encontrados contrastan con los reportados por otros investigadores como Abadias y col. (2008), Althaus y col. (2012) y Maistro y col. (2012) con recuentos que van desde  $6 \times 10^5$ ;  $5.8 \times 10^5$ ;  $5.9 \times 10^5$  UFC/g; respectivamente en lechuga mínimamente procesada lista para consumo, siendo menores los obtenidos en la presente investigación.

La población de bacterias mesófilas se incrementó durante el almacenamiento en las hojas de lechuga del grupo control presentando diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al resto de los tratamientos, siendo este el que presentó la mayor carga mesofílica al final del almacenamiento, obteniendo un valor final de  $3.59 \times 10^6$  UFC/g. Por su parte, en las lechugas tratadas con MSC y DMSC se evidenció un incremento estadísticamente significativo al sexto día de almacenamiento finalizando con valores similares a los expedidos por el grupo tratado con NaClO durante el tiempo de almacenamiento a  $5^\circ\text{C}$ .



**Figura 12.** Recuento de mesófilos aerobios (UFC/g) durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada tratada con microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC. Cada punto representa la media de 3 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar.  $LSD= 4 \times 10^5$  ( $\alpha=0.05$ ).

Por otra parte, se observó una disminución del 50% de la carga bacteriana en el tratamiento MCC al sexto día de almacenamiento mientras que el tratamiento DMCC presentó un incremento de 25% sin presentar diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre sí. Para el final de la evaluación en las hojas de lechuga tratadas con DMCC no fue detectado crecimiento en la dilución más concentrada, mientras que el tratamiento MCC presentó crecimiento en dicha dilución (dilución  $1 \times 10^3$ ) aunque no fue representativo el número de UFC por caja, obteniéndose un valor promedio estimado de  $3.33 \times 10^3$  UFC/g.

Resultados similares fueron obtenidos por Ghosh y col. (2021) quienes aplicaron un recubrimiento de quitosano con nano fibras de celulosa cargadas con curcumina a kiwis. Los resultados mostraron un retraso en el incremento en las cuentas microbiológicas de mesófilos aerobios, atribuyendo este comportamiento antimicrobiano a los grupos hidroxilos presentes en el anillo fenólico de la curcumina, los cuales interaccionan con la membrana celular bacteriana afectando su permeabilidad y estructura. Por otra parte, se ha sugerido que la curcumina también puede interferir con los sistemas enzimáticos bacterianos, induciendo la producción de especies reactivas de oxígeno reducido, el cual daña las proteínas ubicadas en la membrana de las bacteriana, afectando también los componentes lipídicos, logrando penetrar en el ADN, esto provocará un daño en el microorganismo, lo que puede conducir a su muerte o inhibición (Bugli, 2018). De manera similar, Abdou y col. (2018) reportaron una reducción del 97.8% de mesófilos aerobios en pechuga de pollo tratada recubierta con nanoemulsiones de aceite de canela y curcumina. Por su parte, Sanhueza (2020), reportó un mayor efecto antimicrobiano en jugo de

manzana tratado con el extracto de cáscara de granada sin encapsular que encapsulado en una emulsión doble; sin embargo, el efecto de las emulsiones fue incrementado de manera progresiva y partir del día 10 de almacenamiento, ambos tratamientos mostraron el mismo efecto, este efecto fue atribuido a que el extracto sin encapsular adicionado al jugo actúa más rápidamente que el extracto encapsulado, el cual podría liberarse en forma controlada.

De manera general, los tratamientos MCC y DMCC no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos ya que los valores de UFC/g permanecieron constantes durante todo el periodo de almacenamiento y dentro de los límites permisibles considerados como seguros para el consumo en fresco de frutas y vegetales establecidos por la Norma oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 ( $1.5 \times 10^5$  UFC/g). Sin embargo, el resto de los tratamientos (NaClO, MSC y DMSC) se encuentran dentro de los límites considerados como seguros ( $1 \times 10^7$  UFC/g) por la regulación española RD 3484/2000.

## **E. ANÁLISIS DE CALIDAD**

### **1. Pérdida de peso**

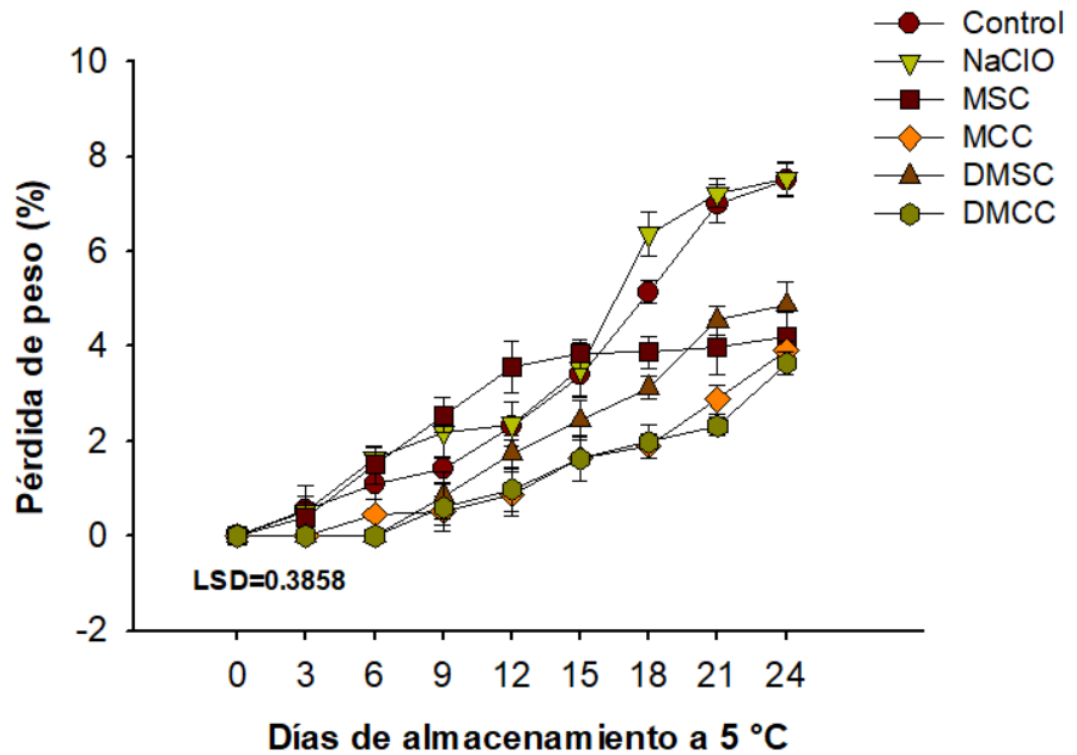
Se logró observar un incremento estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) en el porcentaje de pérdida de peso (%PP) a partir del día 6 y hasta el final del almacenamiento para las hojas de lechuga de todos los tratamientos con respecto al día inicial, siendo las hojas de lechuga de los tratamientos control y NaClO los que presentaron la mayor pérdida de peso con 7.51% y 7.54%, respectivamente. MSC y DMSC presentaron una pérdida de peso menor que los tratamientos control y NaClO. Por otro lado, los tratamientos DMCC y MCC presentaron el menor porcentaje de

pérdida de peso durante todo el almacenamiento sin presentar diferencia estadística significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos (**Figura 13**).

Estos resultados son congruentes con los reportados por Valle-Ortiz y col. (2019) quienes observaron una disminución en la pérdida de peso en tuna blanca tratada con emulsiones de quitosano, cera de candelilla y aceite esencial de tomillo. De igual forma, en un estudio realizado por Salinas-Salazar y col. (2022) encontraron una reducción de pérdida peso en un 3% menor en comparación al grupo control en frutos de ciruela tratados con la combinación de mucilago de nopal, grenetina y cera de abeja; por lo que, la aplicación de este tipo de tratamientos actúa como barrera protectora, reduciendo la deshidratación y pérdida de humedad de los productos. Esto puede ser debido a que los lípidos forman una capa más densa y resistente, evitando la salida de agua de los tejidos de frutas y hortalizas.

Asimismo, se observó que las hojas tratadas con microemulsiones presentaron una pérdida de peso menor con respecto al grupo control y al grupo tratado con NaClO, esto puede deberse a la adición de glicerol en la fase continua de la emulsión, diversos autores han reportado que al incorporar glicerol a la matriz de recubrimientos comestibles en frutos disminuye la pérdida de peso, esto se debe a que el glicerol actúa como un plastificante que mejora la flexibilidad y la adherencia del recubrimiento al fruto, evitando la formación de grietas que facilitarían la deshidratación. Además, el glicerol puede reducir la permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos al disminuir la cristalinidad de los polímeros que los componen (Sothornvit y Rodsamran, 2008; Ramírez, 2012; Dussán y col., 2014).





**Figura 13.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre el porcentaje de pérdida de peso (%PP) en lechuga cv. romana mínimamente procesada almacenada a 5 °C. Cada punto representa la media de 12 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar. LSD= 0.3858 ( $\alpha=0.05$ ).

Al final del almacenamiento, la adición de curcumina a la matriz de la microemulsión redujo significativamente entre 0.31% y 1.23% la pérdida de peso en comparación con las microemulsiones que no incorporaron este compuesto activo. Esto concuerda con un estudio realizado por Campos y col. (2017) quienes encontraron una pérdida 0.53% menor en zapallo mínimamente procesado tratado con recubrimiento de aceite esencial de *cúrcuma Longa*. De igual forma, en un estudio realizado en frutos de kiwi se encontró una menor pérdida de peso en los frutos tratados con recubrimientos comestibles (RC) que combinaban quitosano y curcumina en comparación de los tratamientos que no incorporaron este compuesto bioactivo (Ghosh y col., 2021). Por su parte, Elbarbary y col. (2023) reportaron diferencias significativas en la pérdida de peso entre frutos de naranja valencia tratados con RC de nanocurcumina a base de carboximientilquitosano y alcohol polivinílico en comparación con los frutos control.

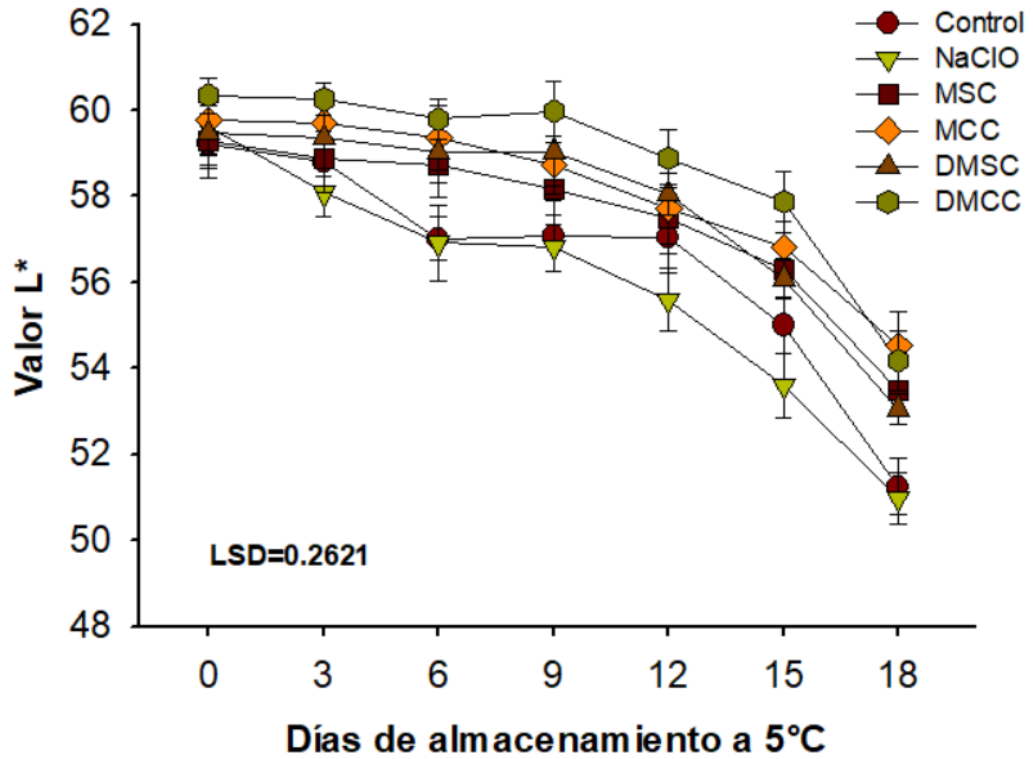
Por otra parte, se observó una correlación entre la pérdida de peso y el desarrollo de microorganismos, siendo los tratamientos MCC Y DMCC los que presentaron menor desarrollo de microorganismos mesófilos aerobios y a su vez menor porcentaje de pérdida de peso. Generalmente, un ataque microbiano incrementa la pérdida de peso. En este sentido, la adición de compuestos con actividad antimicrobiana a los materiales de recubrimiento puede ayudar a prolongar la vida útil de los productos hortofrutícolas.

## 2. Color

### a. Valor L\*

Los valores de L\* de todos los tratamientos presentaron una tendencia decreciente durante el tiempo de almacenamiento a 5 °C (**Figura 14**). Para todos los tratamientos se observó un descenso estadísticamente significativo en el grupo NaClO a partir del día 3 de almacenamiento con respecto al día inicial, presentando una disminución de 2.58%. El tejido vegetal tratado con las emulsiones (MSC, MCC, DMSC y DMCC) mostró una retención promedio de 90.11% significativamente ( $p \leq 0.05$ ) mayor, con respecto al control 86.52% y el tratamiento con NaClO 85.50%, al finalizar el periodo de almacenamiento. Por lo que una mayor luminosidad presentada por los grupos recubiertos se da debido a la adición del glicerol como plastificante en la formulación, por su parte la adición de aceites puede incrementar la luminosidad al reducir la dispersión de la luz; por el contrario, en las hojas no tratadas la pérdida de luminosidad fue mayor debido al oscurecimiento natural que sufre el tejido derivado del proceso de senescencia (Plasencia, 2010).

Este comportamiento concuerda con lo reportado por Chen y col. (2016) quienes observaron una mayor preservación de luminosidad 95% y 95.5% en comparación con los grupos control en lechuga recién cortada tratada con aceite esencial de eugenol y clavo, respectivamente. Plasencia (2010) reportó valores más altos de L\* en frutos de arándanos recubiertos con emulsiones a base de quinua y quitosano. Así mismo, Das y col. (2020) reportaron una luminosidad mayor en tomates tratados con un recubrimiento comestible a base de alginato de sodio con nanoemulsión de citrus.



**Figura 14.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores de L\* durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 18 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar. LSD= 0.2621( $\alpha=0.05$ ).

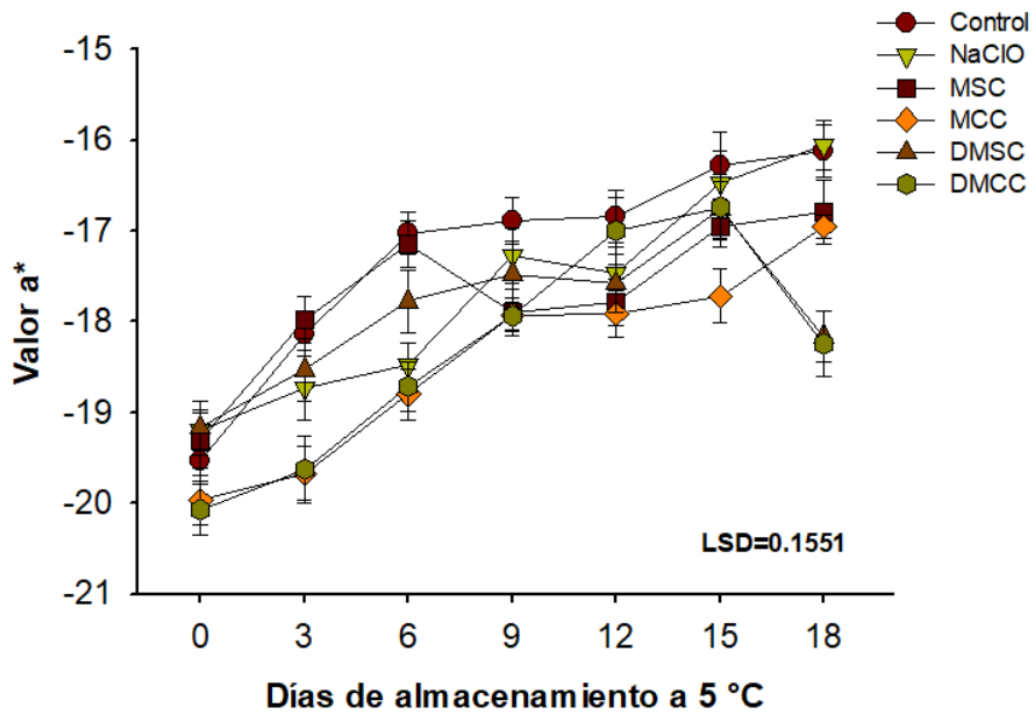
La pérdida de luminosidad esperada a medida que incrementaba el tiempo de almacenamiento pudo deberse a la pérdida de agua progresiva y al fenómeno de traslucidez, así como a la activación de reacciones de oscurecimiento oxidativo en las hojas de lechuga durante el almacenamiento. Al respecto, Esparza-Rivera y col. (2013) asocian el oscurecimiento en lechuga a la oxidación de compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, ácido cafeico, quercetina y glucósidos. Por otra parte, una mayor retención del valor de  $L^*$  en las hojas de lechuga tratadas coincide con lo reportado por Fasciglione y col. (2020) cuando aplicaron un RC de quitosano para lechuga, las cuales presentaron menor cambio del valor  $L^*$  en comparación con el control, esto puede deberse al retraso de los procesos de oxidación enzimática y menor pérdida de agua con respecto a las hojas sin tratar.

**b. Valor  $a^*$**

En la **Figura 15** se observa que se presentó un aumento en el valor de  $a^*$  de las hojas de lechuga para todos los tratamientos durante el almacenamiento.

El incremento en el valor de  $a^*$  se pudo deber a la degradación de clorofilas y carotenoides presentes en las hojas de lechuga (Oliveira y col., 2017).

Al día 3, los grupos MCC y DMCC presentaron los valores más bajos de  $a^*$  con respecto al resto de los tratamientos. Dicho comportamiento se mantuvo hasta el día 18 donde se observó un leve descenso en el valor de  $a^*$  para los tratamientos DMSC y DMCC (-18.16 y -18.24), lo cual puede deberse al efecto de la barrera que se crea al aplicar una emulsión múltiple O/W/O como recubrimiento; al ser su última fase de carácter hidrofóbico actúa disminuyendo la pérdida de agua e intercambio de oxígeno (Ali y col., 2014).



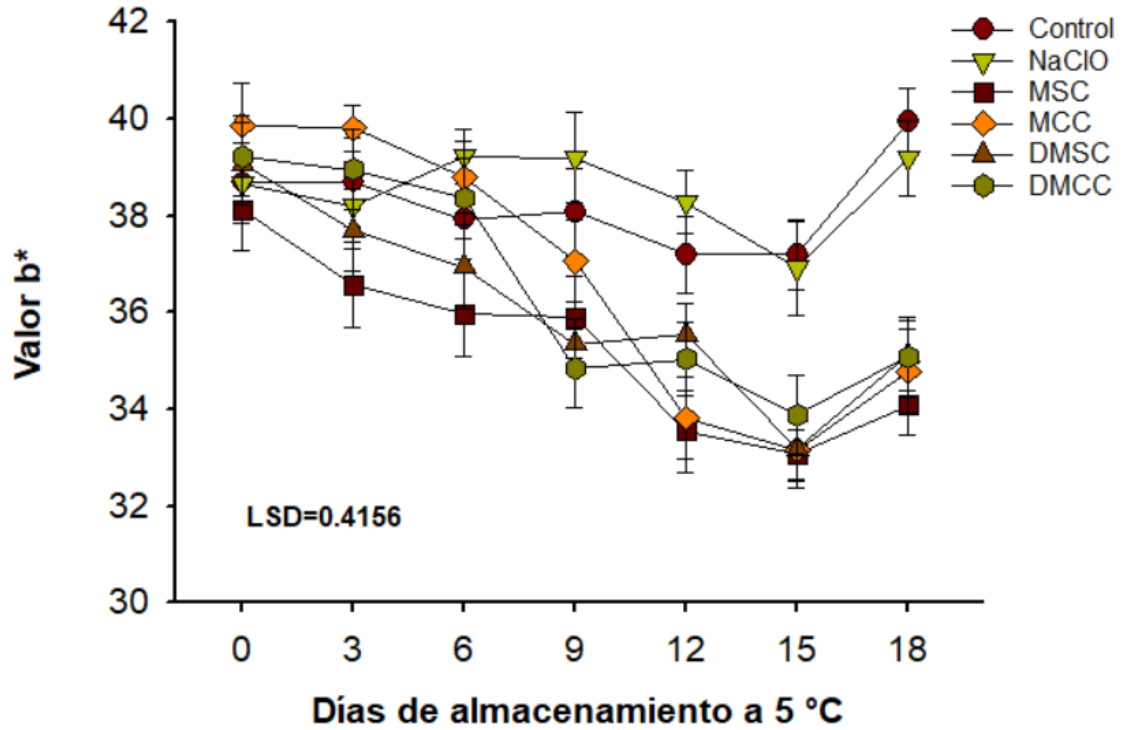
**Figura 15.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores de  $a^*$  de la escala de color CIE durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. Romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 18 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar. LSD= 0.1551 ( $\alpha=0.05$ ).

Además, se ha observado que algunos compuestos antioxidantes como la curcumina tienen un efecto protector que ayuda a preservar el color en lechuga mínimamente procesada mediante mecanismos de inhibición de actividad de enzimas responsables de la degradación de clorofilas. Esto concuerda con lo reportado por Campos y col. (2017), quienes evaluaron el efecto de AE de cúrcuma sobre zapallo mínimamente procesado durante un periodo de almacenamiento de 15 días. Se observó que la adición de curcumina a la lechuga fue capaz de reducir significativamente el pardeamiento enzimático con respecto al grupo control.

De manera general, la mayor pérdida de color verde la presentaron las hojas de lechuga de los tratamientos control (17.5%) y NaClO (16.41%) por el contrario las hojas tratadas con DMSC (5.26%) y DMCC (9.11%) presentaron una menor degradación de color verde sin diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos al final del almacenamiento.

### **c. Valor $b^*$**

Al evaluar el valor de  $b^*$ , se observó, de manera general, un descenso en los grupos tratados MSC, MCC, DMSC y DMCC, contrario a los grupos control y NaClO en los cuales se pudo observar un incremento en dicho valor (**Figura 16**), mostrándose cambios significativos a partir del día 3 con respecto al día inicial. Durante los días posteriores de evaluación se mostró un comportamiento constante, hasta llegar al día 18 donde se observó un ligero incremento en los valores de  $b^*$  en todos los tratamientos.



**Figura 16.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores valores de  $b^*$  de la escala de color CIE durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 18 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar  $LSD= 0.4156$  ( $\alpha=0.05$ )



Estos resultados concuerdan con lo reportado por Martínez-Romero y col. (2016) quienes analizaron el comportamiento de diferentes recubrimientos comestibles en la calidad de lechuga mínimamente procesada durante el almacenamiento; los resultados mostraron que el tratamiento con recubrimiento a base de quitosano y AE de orégano logró disminuir el valor de  $b^*$  en comparación con el grupo control.. Esta disminución en el valor de  $b^*$  puede estar relacionada con la capacidad de los recubrimientos para mantener la integridad y el color de los pigmentos naturales presentes en la lechuga. Además, los RC actúan como barrera física entre la lechuga y el ambiente externo evitando la pérdida de agua y oxidación de los pigmentos. En cuanto al efecto de la curcumina Ying y col. (2021) reportaron una menor variación en el valor de  $b^*$  en rebanadas de piña mínimamente procesada tratada con curcumina con respecto al grupo control.

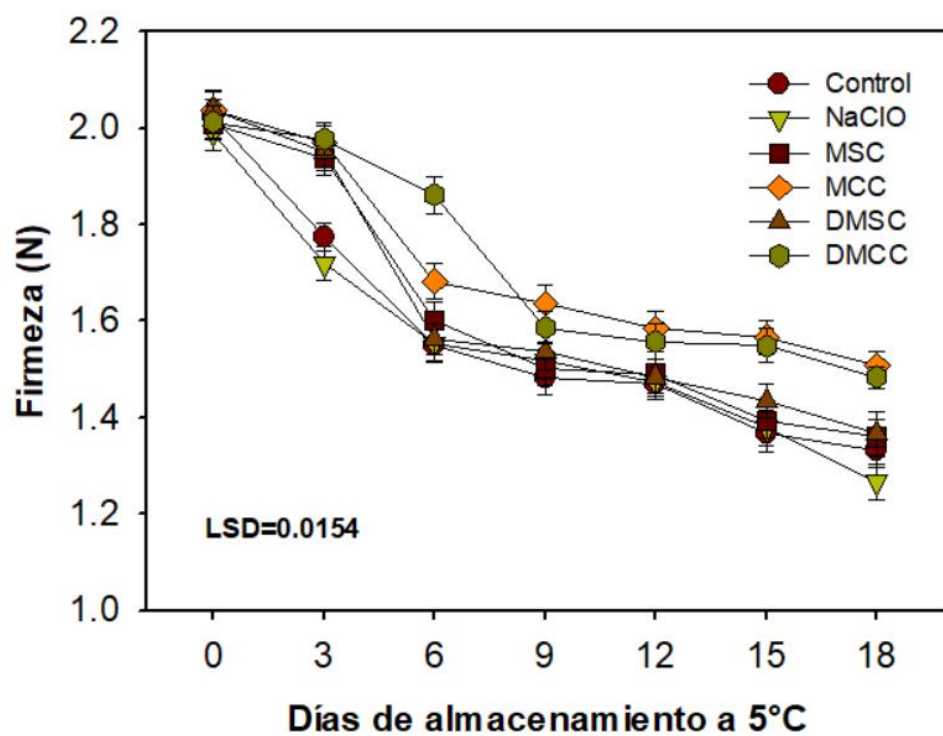
Al final del almacenamiento se observó un incremento en el color amarillo de los tratamientos control (3.21 %) y NaClO (1.34%) mientras que en el resto de los tratamientos se registró un descenso promedio del 11%. Dichos resultados difieren de lo reportado Zhang y col. (2017) quienes encontraron una mayor degradación de clorofila e incremento en el valor de  $b^*$  en hortalizas de hoja verde tratadas con diferentes concentraciones de NaClO con respecto a los grupos no tratados, sin embargo; si se presentó una disminución en el valor de  $b^*$  la cual se debe a la reacción de hipoclorito de sodio con los pigmentos naturales presentes en las hojas de hortaliza, lo que ocasiona despigmentación y amarillamiento (**Anexo 3**).

### 3. Firmeza

En el presente estudio se emplearon hojas de lechuga mínimamente procesada con una firmeza inicial aproximada de 2.01 N. De manera general, se observó que tanto el factor tiempo como el factor tratamiento tuvieron un efecto sobre la firmeza de las hojas de lechuga MMP. En la **Figura 17** se presenta la pérdida de firmeza durante el almacenamiento, donde se puede observar que todos los tratamientos presentaron una disminución significativa durante el periodo de almacenamiento. Diversos autores señalan que el carácter crujiente de la lechuga se ve fuertemente afectado por el tiempo de almacenamiento. Según estudios realizados en lechuga la textura rara vez se mantiene por periodos de tiempo mayores a 10 días, incluso en condiciones óptimas de almacenamiento (Martín-Diana y col., 2006; Martínez-Sánchez y col., 2011).

Los grupos que presentaron las mayores pérdidas en los últimos días de almacenamiento fueron el grupo control y NaClO sin presentar diferencias estadísticas significativas entre sí finalizando con valores de 1.29 N al día 18, lo que representa una pérdida del 35.5 % de firmeza. Por su parte, los tratamientos MCC y DMCC presentaron una pérdida menor de firmeza estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ) 26.1.9% y 26.36%, respectivamente.

Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Campos y col. (2017) quienes examinaron el efecto de recubrimientos comestibles elaborados con aceite esencial de cúrcuma longa en la conservación de la firmeza de zapallo mínimamente procesado; los resultados indicaron que los frutos recubiertos presentaron una mayor retención de firmeza en comparación con los frutos sin recubrimiento.



**Figura 17.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre los valores de firmeza (N) durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 15 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar. LSD= 0.0154 ( $\alpha=0.05$ ).

De igual manera, un estudio realizado en frutos de kiwi con recubrimiento de quitosano con nano fibras de celulosa y curcumina presentó un porcentaje menor de pérdida de firmeza en los grupos tratados (20%) con respecto al grupo control (80%), lo cual se atribuye principalmente al efecto sinérgico entre el quitosano y las propiedades antioxidantes de la curcumina que ayudan a preservar la integridad estructural de los tejidos vegetales (Ghosh y col., 2021).

Los recubrimientos comestibles a base de emulsiones crean una barrera protectora alrededor de las hojas de lechuga, lo que ayuda a retener la humedad y evitar la pérdida de agua, esto ayuda a controlar el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono, lo que a su vez puede disminuir la tasa de respiración y maduración. Por otro lado, la adición de curcumina a la matriz de la emulsión tiene la capacidad de proteger a la lechuga de la acción de radicales libres y otros agentes oxidantes. Esto ayuda a mantener la integridad celular retrasando la senescencia y pérdida de firmeza (Rodríguez-Carpena y col., 2009).

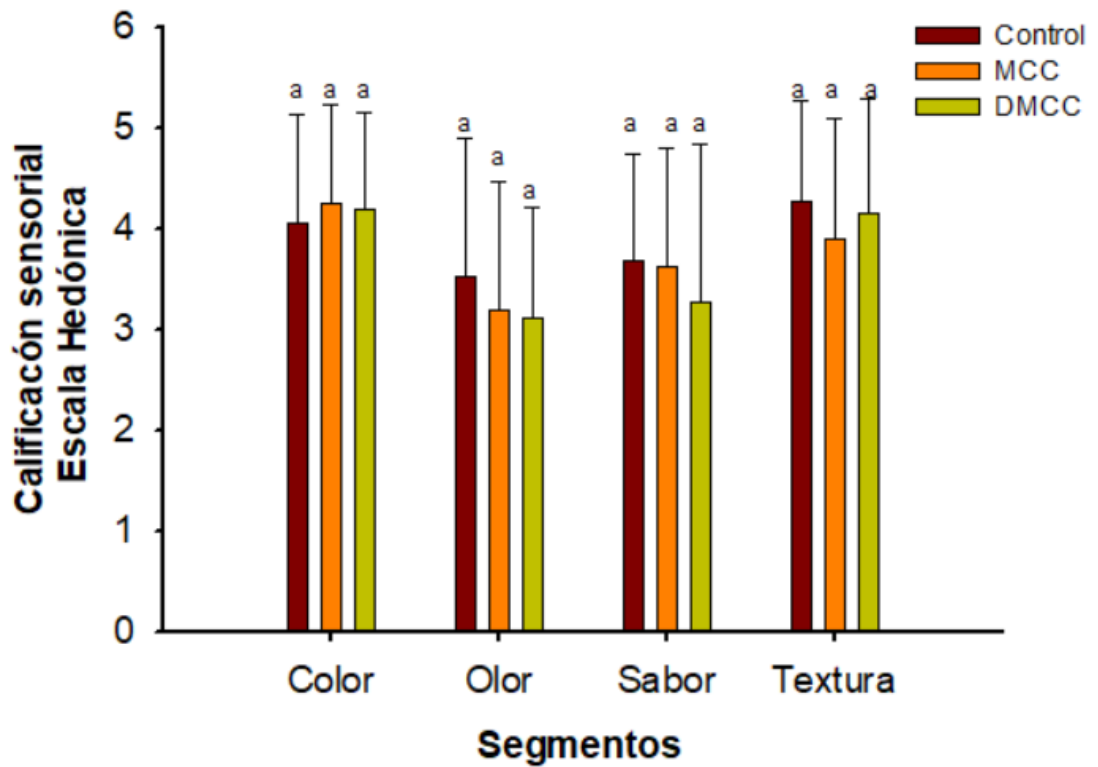
Por otra parte, se ha reportado que el uso de NaClO afecta la firmeza de vegetales de hoja verde, debido a la acción oxidativa del hipoclorito de sodio sobre los tejidos de hortalizas. Lo que puede resultar en una textura más blanda y menos crujiente en hojas verdes tratadas; un estudio realizado por Zhang y col. (2017) evaluó la calidad de hortalizas de hoja verde tratadas con diferentes concentraciones de NaClO durante el almacenamiento, encontrando que las hortalizas tratadas presentaron una mayor pérdida de firmeza en comparación con el grupo control.

#### **D. EVALUACION SENSORIAL**

En la **Figura 18** se muestran los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de las hojas de lechuga tratadas con microemulsiones MCC, DMCC y el grupo control. De manera general no se encontraron diferencias estadísticas significativas en los parámetros de color olor sabor y textura de lechuga MMP tratadas con MCC y DMCC con respecto al grupo control por lo que se puede inferir que la aplicación de los tratamientos MCC y DMCC no causaron repercusiones en las características sensoriales de lechuga mínimamente procesada.

Los resultados obtenidos son equiparables a los reportados por Bagale y col. (2023) al fortificar queso suave con nanoemulsiones de curcumina (CUR); reportaron una aceptación general alta para el queso fortificado con emulsiones de CUR con respecto a el grupo control sin presentar diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos para los parámetros de color, olor y sabor.

Los consumidores están mostrando preferencia por alimentos mínimamente procesados con los mayores componentes naturales posibles, aditivos con beneficios para la salud como antimicrobianos y antioxidantes naturales. Para satisfacer esta demanda, la encapsulación de compuestos activos permite el desarrollo de la funcionalidad de muchos ingredientes al reducir la concentración de sustancias, alterar su solubilidad y mejorar o controlar su eficacia, minimizando el impacto en la calidad sensorial del alimento (Moncada y col., 2015).



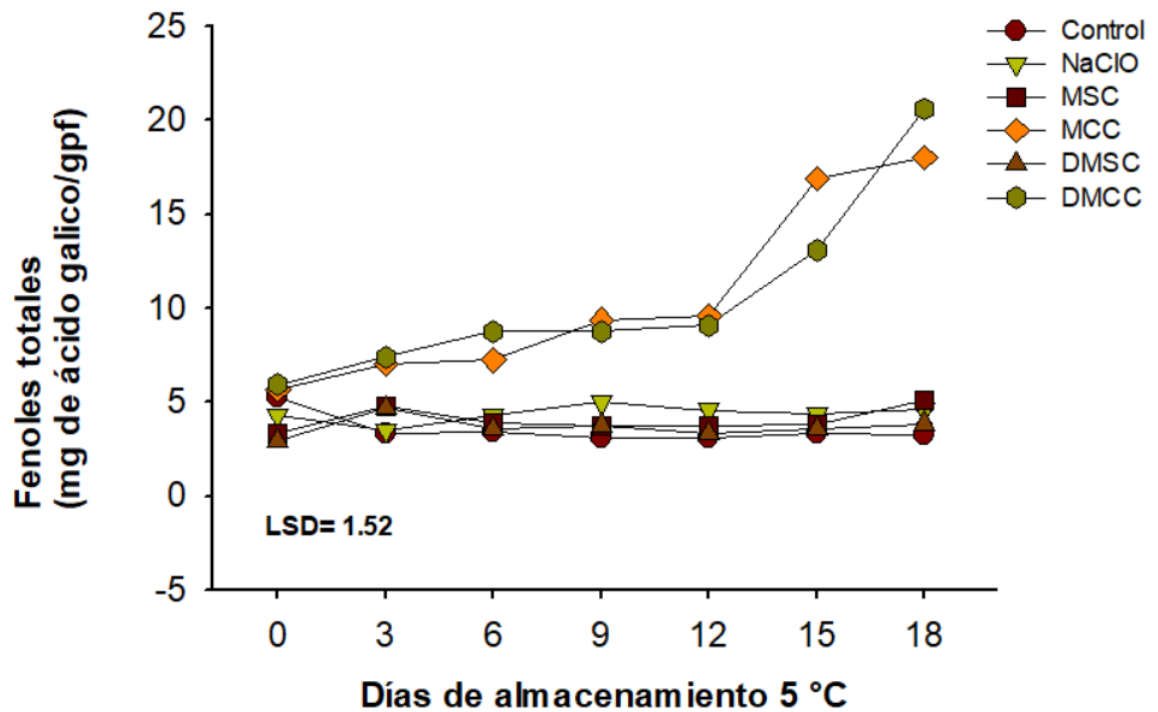
**Figura 18.** Aceptabilidad promedio de los atributos color, olor, sabor y textura para tratamientos control: sin tratamiento, MCC: Microemulsión simple con curcumina y DMCC: Microemulsión doble con curcumina. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar.

## **E. COMPUESTOS BIOACTIVOS**

### **1. Fenoles totales**

En la **Figura 19** se puede observar que durante el almacenamiento de las hojas de lechuga mínimamente procesada se mostró un contenido inicial de fenólicos totales promedio de 4.56 mg EAG/100 gpf. Resultados similares fueron reportados por Rodríguez y col. (2018) señalando que en lechuga fresca tratada con ácidos orgánicos el contenido de fenólicos totales oscilo entre 3 a 4 mg EAG/100 gpf.

A partir del tercer día de almacenamiento se observó un incremento progresivo en los grupos tratados con microemulsiones adicionadas con curcumina obteniendo valores de 18.01 (MCC) y 28.58 mg EAG/100 gff (DMCC), lo que represento un incremento 217% y 380% respectivamente, mientras que en el resto de los tratamientos el contenido de compuestos fenólicos presentó un comportamiento constante hasta el final del almacenamiento. Dicho efecto puede ser atribuido a las propiedades antioxidantes de la curcumina y a su liberación prolongada del interior de las micropartículas de la emulsión. Contrario a esto el grupo control evidenció un descenso del 61% al final del almacenamiento; este comportamiento es habitual en hojas de lechuga MMP ya que son sometidas a estrés provocado por prácticas de lavado y corte provocando rompimiento celular y liberación de nutrientes que permite una mayor exposición de los compuestos fenólicos a las enzimas oxidativas como la fenilalanina amonio liasa o la polifenol oxidasa que pueden degradar compuestos fenólicos (Esparza-Rivera y col., 2013).



**Figura 19.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre el contenido de fenólicos totales durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 9 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar LSD= 0.1170 ( $\alpha=0.05$ ).



Diversos autores han demostrado que la aplicación de recubrimientos comestibles adicionados con compuestos bioactivos incrementa el contenido de compuestos fenólicos. Un estudio realizado por Pérez-Soto y col. (2021) encontró un mayor contenido de fenólicos totales en frutos de tomate tratados con nanoemulsiones a base de aceite esencial de naranja y extracto de xoconostre con respecto al grupo control. Por su parte Sellamuthu y col. (2013) encontraron una mayor retención e incremento de compuestos fenólicos en frutos de aguacate recubiertos con aceite de tomillo. Al igual que los resultados obtenidos por Melgarejo-Flores y col. (2013) quienes demostraron que la aplicación de aceite de canela mantenía un mayor contenido en compuestos fenólicos en uvas, este efecto se atribuyó a la presencia de monoterpenoides fenólicos y polifenoles presentes en el aceite. Por su parte la curcumina es un diferuloilmetano un tipo de polifenol que presenta capacidad antioxidante que puede ayudar a mantener compuestos fenólicos presentes en el tejido vegetal.

En cuanto al efecto de la curcumina sobre el contenido de compuestos fenólicos, los resultados de la presente investigación no pudieron ser comparados con otros estudios ya que, a la fecha no se encontraron investigaciones publicadas sobre el efecto de la cúrcuma o curcumina sobre el contenido de compuestos fenólicos en frutas y hortalizas; sin embargo, se ha evidenciado que la aplicación de compuestos fenólicos puede mejorar la calidad y la vida útil de la lechuga además de incrementar el valor nutricional del producto final, por lo cual se puede abrir una línea de investigación sobre la implementación de dicha tecnología en el área poscosecha.

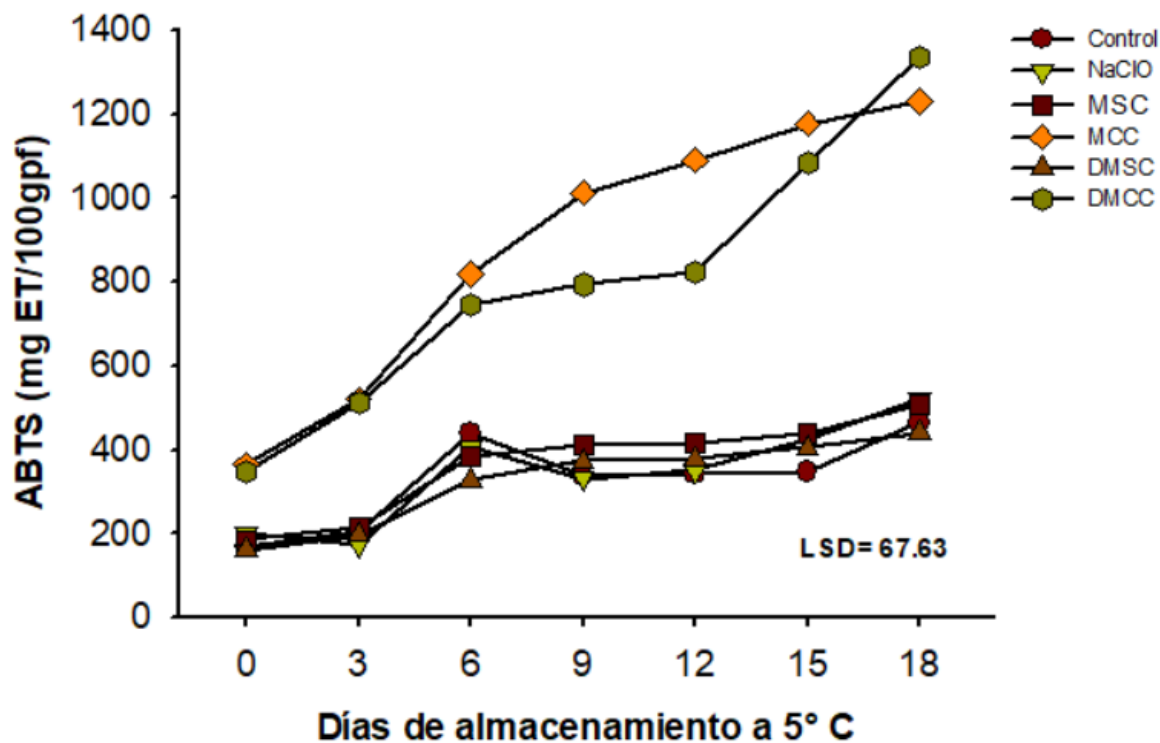
Contrario a los resultados obtenidos en esta investigación, Ayón (2009) observó una disminución en la concentración de fenoles totales a partir del tercer día de almacenamiento de rebanadas de piña MMP con diferentes antioxidantes (ácido ascórbico, ácido isoascórbico y N-acetilcisteína) mismo comportamiento se registró en el grupo control.

## **2. Capacidad antioxidante**

### **a. ABTS**

La actividad antioxidante medida por el método de ABTS aumentó conforme avanzaron los días almacenamiento, partiendo de valores promedio de 237.57 mg ET/100 gpf, se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos tratados con MCC y DMCC y el resto de los tratamientos durante todo el almacenamiento a 5 °C obteniendo valores promedio superiores al resto de los tratamientos incluidos microemulsiones simples y dobles sin curcumina (**Figura 20**).

Rodríguez y col. (2018) encontraron valores menores de capacidad antioxidantes a los encontrados en este trabajo en lechuga adicionada con ácidos orgánicos. Por otra parte, en un estudio aplicado en fresa tratada con timol esta aumentó su capacidad antioxidante aproximadamente 1.4 veces con respecto al grupo control. De manera similar Rodríguez (2013) observó un incremento de 2.12 veces en la capacidad antioxidante de frutos de tomate tratado con recubrimiento comestible enriquecido con aceite esencial de orégano. Contrastando con el presente trabajo, donde se obtuvo un incremento entre 3.37 y 3.56 veces más en hojas tratadas con microemulsiones con curcumina.



**Figura 20.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre la capacidad antioxidante obtenida por el método de ABTS durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 9 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar LSD=67.07 ( $\alpha=0.05$ ).

Esto puede deberse a que la curcumina tiene mayor actividad con respecto a compuestos activos presentes en diversos aceites esenciales. Wang y col. (2016) afirman que la curcumina podría descomponerse a compuestos con actividad antioxidante más alta, entre los que destacan la vainillina y el ácido ferúlico. Hasta el momento no se encontraron en la literatura estudios sobre el efecto del uso de emulsiones de curcumina sobre la capacidad antioxidante en frutas y hortalizas, sin embargo, se ha estudiado la actividad antioxidante de emulsiones de extractos de oleorresina de *cúrcuma longa* obteniendo como resultado con valores promedio de 47.79 mg ET/g (Vargas, 2011).

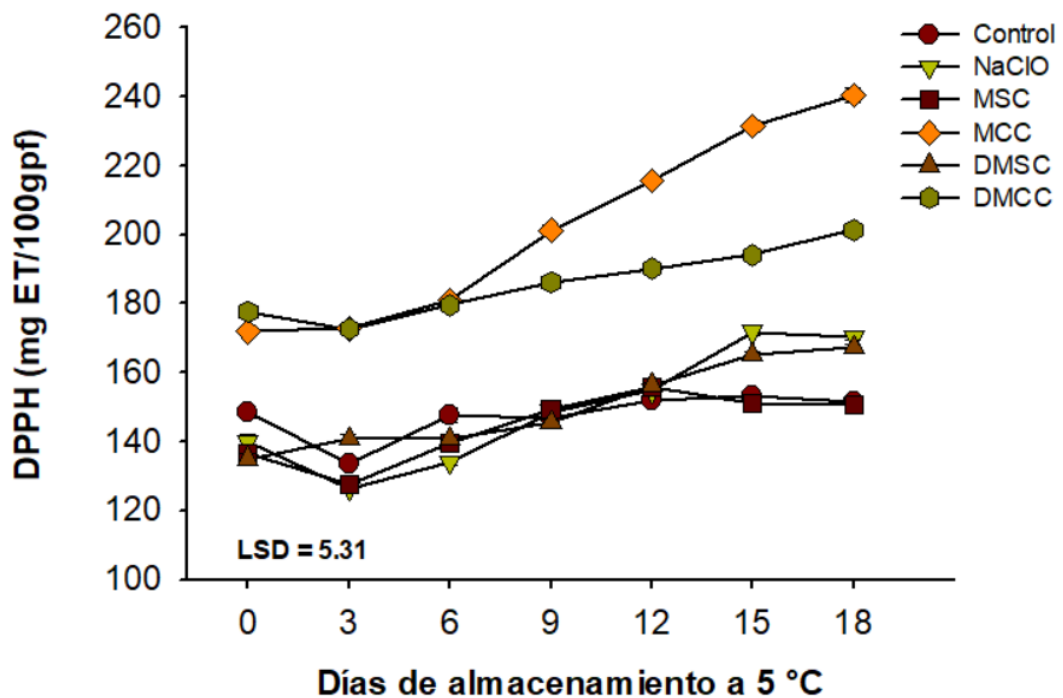
A partir del día 6 de almacenamiento la capacidad antioxidante de las hojas de lechuga tratadas con microemulsiones simples y dobles sin curcumina, así como el grupo control y el NaClO se mantuvieron casi sin cambios durante los 18 días; sin embargo, esta tendencia fue distinta para las hojas tratadas con microemulsiones con curcumina (MCC y DMCC) ya que se observó un aumento en los valores correspondientes. Observándose diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) desde el inicio del almacenamiento entre los tratamientos con curcumina y el resto de los tratamientos. Esto pudo deberse a la capacidad de las emulsiones de liberar progresivamente la curcumina en el medio, lo que favorece la protección del tejido vegetal contra el estrés oxidativo. Cenobio-Galindo y col (2018) observaron un efecto similar al utilizar emulsiones de aceite esencial de naranja y extracto de *Opuntia oligacantha*.

## **b. DPPH**

Durante el periodo de almacenamiento la capacidad antioxidante medida por el método de DPPH incrementó en todos los tratamientos durante los 18 días de almacenamiento (**Figura 21**). Se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre la actividad antioxidante de los grupos tratados con microemulsiones simples y dobles con curcumina (MCC y DMCC) y el resto de los tratamientos

El aumento de la actividad antioxidante de hojas de lechuga tratadas con microemulsiones enriquecidas con curcumina podría estar relacionado con el incremento de la concentración de fenoles totales observados previamente en la **Figura 19**.

Resultados similares fueron obtenidos por Akomolafe y Ajayi (2015) en una investigación en frutos de guanábana; dichos autores refieren que la capacidad de atrapar el radical DPPH está asociada con la cantidad compuestos fenólicos presentes en la matriz alimentaria, los cuales tienen la capacidad de actuar como agentes reductores y captadores de radicales libres, mediante la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. La curcumina es un compuesto polifenólico derivado de la cúrcuma, por lo que su incorporación a la matriz alimentaria de productos hortofrutícolas incrementa su capacidad antioxidante mediante varios mecanismos de acción: eliminación de radicales libres, actuando como donantes de hidrógeno, quelantes de metales de transición y capacidad de eliminación oxígeno singulete.



**Figura 21.** Efecto de la aplicación de microemulsiones MSC, MCC, DMSC, DMCC sobre la capacidad antioxidante obtenida por el método de DPPH durante el almacenamiento a 5 °C de lechuga cv. romana mínimamente procesada. Cada punto representa la media de 9 repeticiones. Las barras verticales indican la media  $\pm$  del error estándar LSD=5.31 ( $\alpha=0.05$ ).

Un estudio previo encontró que los extractos de cúrcuma mostraron un potencial antioxidante similar al del hidrotolueno butilado, un antioxidante sintético comúnmente utilizado en la industria de alimentos (Alvis y col., 2012). Sin embargo, hasta el momento no se encontraron en la literatura estudios sobre el efecto del uso de emulsiones de curcumina sobre la capacidad antioxidante en frutas y hortalizas; no obstante, se ha estudiado el uso y efecto de diversos compuestos bioactivos y agentes antioxidantes sobre la actividad antioxidante de productos hortofrutícolas.

Resultados similares al presente trabajo fueron obtenidos por Cenobio-Galindo y col. (2019) quienes refirieron mayor actividad antioxidante por el método de DPPH en frutos de aguacate tratados con nanoemulsiones enriquecidas con aceite esencial de naranja y extracto de *Opuntia oligacantha* con respecto al grupo control; asimismo, los autores observaron que los frutos tratados con emulsiones que integran concentraciones mayores de los compuestos bioactivos exhibieron una mayor capacidad antioxidante durante el almacenamiento. De igual manera, Sekarina y col. (2023) reportaron mayor actividad antioxidante en frutos de papaya mínimamente procesada tratada con RC a base de quitosano, gelatina de pescado y extracto de té negro la cual incremento durante el almacenamiento. Esta alta en actividad antioxidante también se observó al utilizar extractos de semilla de mango (Vega-Vega y col 2013), esto debido a su capacidad de donar átomos de hidrógeno o electrones, capturar radicales libres interrumpiendo la reacción en cadena del radical peróxido.

Sellamuthu y col. (2013) indicaron que la adición de compuestos bioactivos puede incrementar la capacidad antioxidante, ya que pueden actuar como

compuestos de señalización, provocando una ligera situación de estrés en el tejido vegetal, que se traduce en el incremento de determinados compuestos, como los fenólicos y flavonoides.

Por el contrario, Kim y col. (2014) observaron que la capacidad antioxidante determinada por DPPH disminuyó durante el almacenamiento de uvas tratadas con nanoemulsiones de aceite esencial de limoncillo; no obstante, los frutos tratados presentaron una pérdida más lenta de capacidad antioxidante durante el almacenamiento en comparación con grupo control. Una ventaja de la disminución en el tamaño de partículas de la emulsión es que poseen una adhesividad alta a las membranas biológicas, así como un incremento en la velocidad de disolución, permitiendo una disponibilidad casi completa del principio activo disuelto en el sitio de absorción, por lo que los efectos antioxidantes del compuesto activo pueden prolongar su efecto e incrementar el valor nutracéutico de la lechuga (Xu y col., 2017).



## X. CONCLUSIONES

1. Las microemulsiones dobles que presentaron mayor estabilidad durante el almacenamiento a 4 °C fueron las DMCC-GLI2, con un tamaño de partícula promedio de un 4.17 µm.

2. La DMCC-GLI 2 presenta una buena actividad antimicrobiana *In vitro* contra *Salmonella serovar albany*.

3. El tratamiento DMCC logró inhibir en un 100% las poblaciones de *Salmonella serovar albany*. Los grupos tratados con microemulsiones MCC y DMCC presentaron un menor desarrollo de mesófilos aerobios, ubicándose dentro de los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana y por la regulación española, el resto quedó fuera de los límites.

4. El tratamiento DMCC fue efectivo para reducir la pérdida de peso, la pérdida de firmeza y para mantener el color de hojas de lechuga romana MMP a 5 °C.

5. Los tratamientos MCC y DMSC no afectaron las características sensoriales (color, olor, sabor y textura) de las hojas de lechuga romana mínimamente procesadas

6.. Los grupos tratados con MCC y DMCC presentaron contenido mayor de compuestos fenólicos, así como una mayor actividad antioxidante por los métodos de ABTS y DPPH en hojas de lechuga romana MMP durante el almacenamiento a 5 °C.

7. De manera general los recubrimientos a base de microemulsiones adicionadas con curcumina presentan gran potencial para uso en frutas y hortalizas,

sin dañar al consumidor o el medio ambiente; su aplicación en hojas de lechuga MMP ayudó a mantener la calidad poscosecha, así como a inhibir el desarrollo microbiano, asimismo, incrementó el contenido compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. Este proceso representa una nueva alternativa de comercialización, que ayuda a reducir el uso de productos agroquímicos, incrementado a su vez el valor nutraceútico por lo que incluso podría llegar a aplicarse en otras matrices alimentarias.

## XI BIBLIOGRAFÍA

Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C y Viñas I. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology* 123(1): 121-129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>.

Abdou ES, Galhoum GF y Mohamed EN. 2018. Curcumin-loaded nanoemulsions/pectin coatings for refrigerated chicken fillets. *Food hydrocolloids*, 83, 445-453. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.026>.

Aditya NP, Aditya S, Yang HJ, Kim HW, Park SO, Lee J, Ko S. 2015 Curcumin and Catechin Co-Loaded Water-in-Oil-in-Water Emulsion and Its Beverage Application. *Journal of Functional Foods*, v. 15, p. 35-43.

Aditya NP, Aditya, Yang H, Kim HW, Park SO y Ko S. 2015. Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion. *Food Chemistry*, 173, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.131>.

Ahmad J y Nollet LML. 2021. *Nanoemulsions in Food Technology: Development, Characterization, and Applications (1st ed.)*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003121121>.

Ahmed M, Akter MS, Lee JC y Eun JB. 2010. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1307–1312.

Akomolafe SF y Ajayi OB. 2015. A comparative study on antioxidant properties, proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe *Annona muricata* (L.) fruit. *International Food Research Journal* 22:2381-2388.

Alarcón-moyano J y Matiacevich S. 2019. Active emulsions based on alginate and lemongrass/citral essential oils: effect of encapsulating agents on physical and antimicrobial properties. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1952-1965.

Ali A, Maqbool M, Ramachandran S y Alderson PG. 2014. Effect of chitosan coatings on the shelf-life of minimally processed lettuce. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 3276-3284. doi: 10.1007/s13197-012-0818-5

Alicante STDIU. 2022. Particle size and zeta potential analysis of suspensions. *Servicios Técnicos de Investigación*. Recuperado de: <https://ssti.ua.es/fr/instrumentacion-cientifica/unidad-de-analisis-termico/analisis-del-tamano-de-particula-y-potencial-zeta-de-suspensiones.html>

Al-Tayyar NA, Youssef AM, Al-Hindi RR. 2020. Edible coatings and antimicrobial nanoemulsions for enhancing shelf life and reducing foodborne pathogens of fruits and vegetables: a review, in: *Sustainable Materials and Technologies* vol. 26, Elsevier B.V, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2020.e00215>.

Althaus D, Hofer E, Corti, Julmi A y Stephan R. 2012. Bacteriological survey of ready-to-eat lettuce, fresh-cut fruit, and sprouts collected from the Swiss market. *Journal of Food Protection* 75(7): 1338-1341.

Alvarado-López G y Medina-Lezama E. 2019. Nanoemulsiones O/W de aceite esencial de naranja y tween 80. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2),

189-205. Recuperado en 06 de enero de 2023, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2019000200007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000200007&lng=es&tlng=es).

Alvis A, Arrazola G y Martínez W. 2012. Evaluación de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*). *Información tecnológica*, 23(2), 11-18. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000200003>.

Anuchapreeda SY, Fukumori S, Okonogi y Ichikawa H. 2011. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. *Journal of Nanotechnology*.2012: 1-14

AOAC, Association of Analytical Communities. 2005. Official methods of analysis. (18.a ed.).

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1998. Official Methods of Analysis. 16th ed. S William (ed). Published by the association of official analytical chemists. Washington, D.C. USA. CD–Rom.

Aranberri I, Binks BP, Clint JH, Fletcher, PDI. 2006. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Volúmen 7 (3)

Ávila R y López A. 2009. Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles.

Ayón LG. 2009. Cambios bioquímicos y de calidad de rebanadas de piña mínimamente procesada tratadas con antioxidantes empacadas en atmosferas

modificadas. (Tesis de maestría) Culiacán, Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Disponible en: Biblioteca de la maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Badillo-Solis K, Pérez-Soto E, Aguirre-Álvarez G, Ocampo-López J, Cenobio-Galindo AJ y Campos-Montiel RG. 2021. Uso de recubrimientos a base de nanoemulsión como alternativa para conservar la calidad poscosecha del jitomate. Publicación semestral, Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP, Vol. 7, No. 14 (2021) 14-18.

Bagale U, Kadi A, Abotaleb M, Potoroko I, Sonawane SH. 2023. Prospect of Bioactive Curcumin Nanoemulsion as Effective Agency to Improve Milk Based Soft Cheese by Using Ultrasound Encapsulation Approach. International Journal of Molecular Sciences; 24(3):2663. <https://doi.org/10.3390/ijms24032663>.

Bamba J, Shi C, Tranchant S, Xue C, Forney L, Lim W, X G. Xu. 2018. “Co-encapsulation of Polyphenols and Anthocyanins from Blueberry Pomace by Double emulsion Stabilized by Whey Proteins: Effect of Homogenization Parameters”, Molecules, vol.23, no.10, pp.2525.

Beech A. 2016. Lettuce linked to salmonella outbreak may have been exported overseas. <http://www.abc.net.au/news/2016-02-09/lettuce-linked-to-salmonella-outbreak-may-have-been-exported/7154112>.

Bhargava K, Conti DS, da Rocha SRP, Zhang Y. 2015. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. Food Microbiol. 47:69–73.

Borin T, Georges E, Moraes I, y Pinho S. 2016. Curcumin-loaded nanoemulsions produced by the emulsion inversion point (EIP) method: An evaluation of process parameters and physico-chemical stability. *Journal Of Food Engineering*, 169: 1-9.

Bruhn CM. 2007. Aspectos de calidad y seguridad alimentaria de interés para el consumidor. In *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 37-44.

Caivano JL, y Bueva M (2012). *Color in food "Technological and Psychophysical Aspect."* USA CRC: Press

Cámara M, Sánchez M y Torrija M. 2008. Frutas y verduras fuentes de salud. Colección Nutrición y Salud. Servicio de Promoción de la Salud. Instituto de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo. Madrid. Recuperado de: <http://tiny.cc/iju7tz>

Campo JA, Venegas P y Andrade -Mahecha M. 2017. Aceite esencial de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) como agente antifúngico en recubrimientos comestibles aplicados a zapallo (*Cucurbita maxima*) mínimamente procesado. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería, Cra. 32 no. 12-00 Chapinero, Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Cantwell, M. 2002. The dynamic fresh cut sector of the horticultural industry. In: *Encuentro Nacional sobre procesamiento de frutas y hortalizas*, 2. Vicoso. Palestra: Universidad de federal de Vicoso. Pages: 147-155.

Cardoso G y Jiménez M. 2015. Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones. Universidad de las Américas Puebla.

Casanova YHF y Cardona TSC. 2009). Emulsiones o/w estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína y temperatura. *Vitae*, 11(1). <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.448>

Castro-Rosas J, Rojas-Olvera M, Noguera-Ugalde Y, Santos-López EM, Zúñiga-Estrada A y Gómez-Aldapa CA. 2006. Calidad sanitaria de ensaladas de verduras crudas, listas para su consumo. Centro de Investigaciones Químicas, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México.

CDC-FDA. 2015. Center for disease control and prevention. Food and drug administration. Salmonella. Multistate outbreak of Salmonella poona infections linked to imported cucumbers. USA. <https://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/index.html>.

CDC-FDA. 2020. Center for disease control and prevention. Food and drug administration. Salmonella. Outbreak of Salmonella enteritidis infections linked to peaches. USA. <https://www.cdc.gov/salmonella/enteritidis-08-20/index.html>.

CDC-FDA. 2021. Center for disease control and prevention. Food and drug administration. Salmonella. Outbreak of Salmonella newport infections linked to onions. USA. <https://www.cdc.gov/salmonella/newport-07-20/index.html>.



Cenobio-Galindo AJ, Campos-Montiel R, Jiménez-Alvarado R, Almaraz-Buendía I, Medina-Pérez G y Fernández-Luqueno F. 2019. Development and incorporation of nanoemulsions in food. *Int. J. Food Stud*, 8, 105–124.

Chandra D, Matsui T, Suzuki H, Kosugi Y, Fujimura K y Bhowmik P. 2010. Textural and Compositional Changes of Stored Iceberg Lettuce in Relation to Harvest Season and Storage Condition. *International Journal of Vegetable Science*, 16, 44 - 59.

Chen X, Ren L, Li M, Qian J, Fan J y Du B. 2016. Effects of clove essential oil and eugenol on quality and browning control of fresh-cut lettuce, *Food Chemistry*. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.101>.

Cheng AL., Hsu CH, Lin JK, Hsu MM, Ho YF, Shen TS, Ko JY, Lin JT, Lin BR, Ming-Shiang W, Yu HS, Jee SH., Chen GS, Chen TM, Chen CA, Lai MK, Pu YS, Pan MH, Wang YJ, Tsai CC y Hsieh CY. 2001. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Research*, 21(4B), 2895-2900.

Cheng RA, Eade CR y Wiedmann M. 2019. "Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal Salmonella as a Foodborne Pathogen." *Front Microbiol* 10: 1368.

Chica-Barco V, Martínez-Correa HA, Pérez-Munive AM. 2022 Obtención de nanoemulsiones de Cúrcuma longa L. y su aplicación en bebida acuosa. *Revista*

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 20, n. 1, 2022, p. 136-151. Doi: <https://doi.org/10.18684/bsaa.v.n.2022.1861>

cinnamon leaf oil. *Postharvest Biology and Technology*. 86: 321-328.

Córdoba JA, Dorado MF, Zamudio SY, Junca JD y Ortiz DP. 2021. Control microbiológico en la preparación de ensaladas de vegetales frescos a través de aderezos. #ashtag, 2(17), 61-74. <https://doi.org/10.52143/2346139X.830>

Cortez-Higareda M, Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI, Landa-Salgado P y Hernández-López M. 2021. Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género salmonella. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 22, núm. 1, 2021 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C.

Crujisen JMM. 1996. Physical stability of caseinate stabilized emulsions during heating. PhD thesis, Agricultural University, Wageningen.

Dahll, R. 2016. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435-450, DOI: 10.1080/10408398.2010.541568.

Danafar H, Sharafi A, Kheiri S, Kheiri Manjili H. 2018. Co -delivery of Sulforaphane and Curcumin with PEGylated Iron Oxide-Gold Core Shell Nanoparticles for Delivery to Breast Cancer Cell Line. *Iran J Pharm Res*. 2018 Spring;17(2):480-494. PMID: 29881406; PMCID: PMC5985166.

Das S, Vishakha K, Banerjee S, Mondal S y Ganguli A. 2020. Sodium alginate-based edible coating containing nanoemulsion of Citrus sinensis essential oil

eradicates planktonic and sessile cells of food-borne pathogens and increased quality attributes of tomatoes, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 162.

De los Santos-Santos MA, Jiménez-Zurita JO, Balois-Morales R y Alia-Tejagal I. 2020. Evaluación de almidón como recubrimiento comestible sobre los compuestos fenólicos y actividad antioxidante en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.).

Defilippi B. y Campos R. 2006. Poscosecha de fruta mínimamente procesada. *Tierra Adentro* 71: 20-21.

Díaz LB y Avila RM. 2021. Tecnologías poscosecha para promover la vida de anaquel de frutos pequeños *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 22, núm. 1, Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C., México Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81367929004>

Dickinson E. 2011. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6: 1-11. DOI: 10.1007/s11483-010-9188-6.

Diezma B. 2016. Control de calidad de productos de iv gama. *Revista Simiente*, vol. 86(3-4): pp 1-8. Madrid, España.

Dussán K, González C y Torres F. 2014. Desarrollo de un recubrimiento comestible a partir de un biopolímero extraído de la semilla de mango (*Mangifera indica* L.) y evaluación de su efecto sobre la vida útil de mango (*Mangifera indica* L.) mínimamente procesado. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67(2), 7285-7296.

Elbarbary AM, Khozemy EE y El-Dein, AE. 2023 Radiation Synthesis of Edible Coating Films of Nanocurcumin Based on Carboxymethyl Chitosan/Polyvinyl Alcohol to Extend the Shelf Life of Sweet Orange "Valencia". *J Polym Environ* 31, 3783–3802 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10924-023-02854-6>.

Elguero J. 2015. Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies, and biological properties. *An. Real Acad. Nac. Farm.* 2015;81(4):278-310.

Ennis DM. 1993. The power of sensory discrimination methods. *Journal of sensory studies* 8: 353-370.

Esparza-Rivera JR, Navarro A, Kendall P, Fortis M, Preciado P y Meza JA. 2013. Aceptabilidad de lechuga de hoja fresca troceada, tratada con ácido ascórbico mediante hidrogenofriamiento. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(5), 767-778. Recuperado en 20 de enero de 2024, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342013000500009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000500009&lng=es&tlng=es).

Espino-Díaz M, Ornelas-Paz J, Martínez-Téllez M, Santillán C, Barbosa-Cánovas G, Zamudio-Flores PB, y Olivas Guadalupe I. 2010. Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal of Food Science*. 75: 347-352.

European Food Safety Authority (EFSA). 2013. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA J* 11:3025. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3025.

European Food Safety Authority (EFSA). 2022. Salmonella and Campylobacter continue to show high levels of antibiotic resistance. European Food Safety Authority. <https://www.efsa.europa.eu/es/news/salmonella-and-campylobacter-continue-show-high-levels-antibiotic-resistance>.

FAO. 2003. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Obtenido de Aspectos higiénicos y sanitarios: <http://www.fao.org/docrep/006/y4893s/y4893s07.htm>

FAOSTAT. 2020. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Consultado el 20 de abril, 2022.

Fasciglione G, Goñi MG, Yommi AK, Perez-Bravo JJ, Ortueta R, Scampini A, Buffa L, Andreu AB y Creus CM. 2020. Revaluation of waste from fishing industry through generation of chitosan coatings to improve quality and extend shelf-life of minimally processed lettuce, *Postharvest Biology and Technology*, Volume 170.

FDA. 2016. FDA investigated multistate outbreak of Salmonella infections linked to alfalfa sprouts. U.S. Department of Health and Human Services. FDA, Silver Spring, MD.

FDA. 2017. FDA Investiga Múltiples Brotes de Cepas de Salmonella vinculadas a Papayas. <https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm568393.html>.

Feyzioglu GC y Tornuk, F. 2016. 'Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and

antioxidant delivery applications', *LWT - Food Science and Technology*. Academic Press, 70, pp. 104–110. doi: 10.1016/j.lwt.2016.02.037.

Flores-Miranda GA, Valencia del Toro G, y Yáñez-Fernández J. 2015. Stability evaluation of  $\beta$ -Carotene nanoemulsions prepared by homogenization-emulsification process using stearic acid as oil phase. *Revista mexicana de ingeniería química*, 14(3), 667-680. Recuperado en 17 de junio de 2023, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382015000300010&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382015000300010&lng=es&tlng=en).

Florez LE., González G, Pulido SP, Wyckhuys K, Escobar H y Salamanca C. 2012. Lechuga (*Lactuca Sativa* L). En H. Pinzón Ramírez, *Manual para el cultivo de Hortalizas* (págs. 323-347). Bogotá: Producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO. (2014). faostat. Recuperado de <http://faostat.fao.org/>

Forghani F, Oh DH. 2013. Hurdle enhancement of slightly acidic electrolyzed water antimicrobial efficacy on Chinese cabbage, lettuce, sesame leaf and spinach using ultrasonication and water wash. *Food Microbiol.*

Forsythe SJ. 2011. *The Microbiology of Safe Food*. John Wiley & Sons.

Fuentes-Fanegas M, Londoño-Zapata A, Durango-Zuleta M, Gutiérrez-Buriticá M, Ochoa-Agudelo S, y Sepúlveda-Valencia J. 2017. Capacidad antimicrobiana de bacterias ácido-lácticas autóctonas aisladas de queso doble crema y quesillo colombiano. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(1), 45-55. Recuperado de <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/534/637>

Gadhawe AD. 2014. Nanoemulsion formation, stability, and applications. *International Journal of Reserch in Science & Advanced Technologies*, 2(3).

Galaviz-Venegas Ja, González GH y Vergara AF. 2010. Manual de procesamiento y conservación de lechugas (*lactuca sativa* L.) variedades verde y morada crespa mínimamente procesadas. Fundación Universitaria Agraria de Colombia UNIAGRARIA, Bogotá D.C.

Garret EH. 2002. Fresh-cut produce: tracks and trends. En: *Fresh-cut fruits and vegetables. Science, Tecnology and Market*. Lamikanra, O. (Ed). CRC Press, Boca Ratón, Florida EU. Pp. 1-20.

Ghosh T, Nakano K y Katiyar V. 2021. Curcumin doped functionalized cellulose nanofibers based edible chitosan coating on kiwifruits. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, 936–945. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.098  
10.1016/j.ijbiomac.2021.06.098.

Gil MI y Kader AA. 2008. The nutritional quality of particular fruit and vegetable products. Págs. 475–96 en: Tomas-Barberosa, T.A. y Gil, M.I. (eds.). *Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products*. CRC Press.

Gimferrer N. 2012. Ensaladas seguras: cuidado con los patógenos. Obtenido de Eroski Consumer: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-ytecnologia/2011/02/21/198983.php>

Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. 2008. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* 15;75(4):787-809. doi: 10.1016/j.bcp.2007.08.016. Epub 2007 Aug 19. PMID: 17900536.

Gómez-Mascaraque LG, Casagrande C, Gaziola de La Torre G y López-Rubio A. 2017. Microencapsulation structures based on protein-coated liposomes obtained through electrospraying for the stabilization and improved bioaccessibility of curcumin, *Food Chemistry*, Volume 233, pp. 343-350, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.133>.

González GA. 2009. Quality Index, Consumer Acceptability, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Fresh-Cut” Ataulfo” Mangoes (*Manguifera Indica* L.) as Affected by Low temperature Storage. *Journal of Food Science* 74:126-134.

González K, Pinto M, y Sineiro J. 2019. Edible coatings for fruits and vegetables: Natural antimicrobial agents. *Foods*, 8(6), 207.

González R. 2004. Aplicación de Antioxidantes naturales en la conservación de lechuga. Tesis de maestría Universidad de Santiago de Chile, 75 páginas.

González G y Ayala F. 2005. Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. Hermosillo, Sonora, México: CIAD. P 98.

González-Albadalejo J, Sanz D, Claramunt RM, Lavandera JL, Alkorta I, Elguero J. 2015. Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies, and biological properties. *A Real Acad Farm* Vol. 81, N° 4 (2015), pp. 278-310

Grupo Consultor de Mercados Agrícolas (GCMA). 2023. <https://gcma.com.mx/reportes/comercio-exterior/hortofruticola/>. Consultado el 06 de Enero, 2023.



Guija-Guerra H y Guija-Poma E. 2023. Radicales libres y sistema antioxidante. Horiz. Med. <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n2.12>.

Gutiérrez D, Ruiz G, Sgroppo S y Rodríguez S. 2016. Uso de la Radiación UV-C en el Proceso de Elaboración de Hortalizas de IV Gama, Agrociencia Uruguay, 20(2), 7-13.

Hernández-Huesca K. 2016. Caracterización y digestión gastrointestinal de cápsulas líquidas de curcumina (*Curcuma longa* L.). (Tesis de maestría) Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Básicas.

Huck C. 2013. Propiedades fisicoquímicas de microemulsiones estabilizadas con caseinato de sodio. (Tesis de doctorado) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Infoagro. (2023). El cultivo de la lechuga. [En línea] Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>. (Revisado 23 de junio del 2023).

Ita K. 2020. Microemulsions. En *Transdermal Drug Delivery Concepts and Application* (pp. 97-122). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822550-9.00006-5>.

Jajere SM. 2019. "A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance." *Vet World* 12(4): 504-521.

Jaramillo J, Aguilar P, Tamayo P, Argueño E, Guzman M, y CORPIOCA. 2016. Modelo tecnológico para el cultivo de lechuga bajo buenas prácticas agrícolas en el Oriente Antioqueño. pp.33, Medellín, Colombia.

Jiménez-Colmenero, F. 2013. Emulsiones múltiples; compuestos bioactivos y alimentos funcionales. *Nutrición Hospitalaria*, 28(5), 1413-1421.

Jung H y Aristippos G. 2005. Edible films and coatings: a review. *Innovations in Food Packaging*.

Katsouli, M., Giannou, V., y Tzia, C. 2020. Enhancement of physicochemical and encapsulation stability of O<sub>1</sub>/W/O<sub>2</sub> multiple nanoemulsions loaded with coenzyme Q<sub>10</sub> or conjugated linoleic acid by incorporating polyphenolic extract. *Food & Function* 11, 8878-8892, <https://doi.org/10.1039/D0FO01707H>.

Kharat M, Du Z, Zhang G., McClements DJ. 2017. Physical and Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Solutions and Emulsions: Impact of PH, Temperature, and Molecular Environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, n. 8, p. 1525-1532.

Kidd PM.2009. Bioavailability and activity of phytosome complexes from botanical polyphenols: the silymarin, curcumin, green tea, and grape seed extracts. *Altern Med Rev*. 2009 Sep;14(3):226-46. PMID: 19803548.

Kim IH, Oh Y, Lee H, Song K, y Min S. 2014. Grape berry coatings of lemongrass oil-incorporating nanoemulsion. *LWT-Food Science and Technology*, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.018>.

Landry KS, Chang Y, McClements DJ, McLandsborough L. 2015. Effectiveness of a novel spontaneous carvacrol nanoemulsion against *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* O157:H7 on contaminated mung bean and alfalfa seeds. *Int. J. Food Microbiol.* 187:15–21.

Li D, Zhang X, Li L, Aghdam MS, Wei X, Lui J, Xu Y, Lou Z. 2019. Elevated CO<sub>2</sub> delayed the chlorophyll degradation and anthocyanin accumulation in postharvest strawberry fruit, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.150>, Food Chemistry, 285, 163–170.

López MI, López-Caballero ME, Montero P y Gomez-Guillen MC. 2017. Effect of sodium alginate edible coating on quality characteristics of tomatoes during storage. Journal of Food Science and Technology, 54(1), 24-31.

López-Angulo G, Montes-Ávila J, Díaz-Camacho S, Vega-Ávila R, Ahumada-Santos Y, Delgado-Vargas F. 2014. Chemical composition and antioxidant, α-glucosidase inhibitory and antibacterial activities of three Echeveria DC.

López-López ME, López-Valenzuela J, Delgado-Vargas F, López G, Carrillo-López A, Ayón-Reyna LE y Vega M. 2018. A Treatment Combining Hot Water with Calcium Lactate Improves the Chilling Injury Tolerance of Mango Fruit. HortScience. 53. 217-223. 10.21273/HORTSCI12575-17.

Lound, L, Aleu, H, Broggi, L, Genaro, V, Tesouro, R, Favre, L, Plem, S y Tofolón, E. 2017. Resistencia térmica de Salmonella. Efecto del pH y la actividad del agua. Ciencia, Docencia y Tecnología – Suplemento, v. 7 p.01-17.

Maistro LC, Miya NTN, Sant’Ana AS y Pereira JL. 2012. Microbiological quality and safety of minimally processed vegetables marketed in Campinas, SP–Brazil, as assessed by traditional and alternative methods. Food Control 28(2): 258-264.

Marchi L, Dornellas F, Polonio J, Pamphile J, Monteiro A, Goncalves O y Perdoncini M. 2019, Antifungal Activity of Curcuma Longa L. (zingiberaceae) Against Degrading Filamentous Fungi, Chemical Engineering Transactions, 75, 319-324.

Márquez CJ., Trillos, OG, Cartagena JRV y Cotes, JMT. 2009. Evaluación físicoquímica y sensorial de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Vitae, 16(1), 42–48.

Martín-Diana AB, Rico D, Barry-Ryan C, Frías JM, Mulcahy J y Meneham GT. 2006. Calcium lactate washing treatments for salad-cut iceberg lettuce: effect of temperature and concentration on quality retention parameters. Food research international (38), 729-740.

Martínez-Romero D, Castillo S, Guillén F, Valero D, y Serrano M. 2016. Use of alginate or chitosan coatings enriched with mint essential oil to maintain quality, safety, and functional properties of fresh-cut lettuce. Food Control, 59, 797-803.

Martínez-Sánchez A, Tudela JA, Luna C, Allende A y Gil MI. 2011. Low Oxygen Levels and Light Exposure Affect Quality of Fresh-cut Romanie Lettuce. Postharvest Biology (59),34-42.

McClements DJ y Li Y. 2011. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. Advances in Colloid and Interface Science, 159(2), 213–228.

McClements DJ, 2005. Food emulsions: Principles, practice, and techniques. 2da ed. Boca Raton, Florida: CRC.

McClements DJ, Decker EA, Park Y, Weiss J. 2009. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceutical and functional foods. *Crit Rev Food Sci Nut* 2009; 49: 577-606.

McClements DJ. 2015. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.

mechanism to biological implications. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(35):7606-14.

Melgarejo-Flores BG, Ortega-Ramírez LA, Silva-Espinoza BA, González-Aguilar GA, Miranda MRA, Ayala-Zavala JF. 2013. Antifungal protection and antioxidant enhancement of table grapes treated with emulsions, vapors, and coatings of

Mendoza LG, Rodríguez M, Martínez J, García HS, De la Cruz J, Cano C y Monroy JA. 2021. Evaluación del desarrollo y la estabilidad de una nanoemulsión de vainilla (*Vanilla planifolia*) a partir de un extracto no alcohólico. *Biotecnia*, 23(3), 22-29. Epub 07 de marzo de 2022. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i3.1409>

Mesa MD, Ramírez MC, Aguilera CM, Ramírez-Bosca A y Gil A. 2000. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharm*, 41(1): 307-321. [<http://hdl.handle.net/10481/35289>].

Mihai, A. 2016. *Emulsions: Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. United Kingdom: Elsevier Editorial.

Miller R. 2016. *Emulsifiers: Types and Uses*, Editor(s): Benjamin Caballero, Paul M. Finglas, Fidel Toldrá, *Encyclopedia of Food and Health*, Academic Press, pp. 498-502, ISBN 9780123849533, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00249-X>.

Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, y Zandi K. 2014. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed research international*, 2014, 186864. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/186864>.

Moncada M, Astete C, Sabliov C, Olson, D, Boeneke C y Aryana K. 2015. Nano spray-dried sodium chloride and its effects on the microbiological and sensory characteristics of surface-salted cheese crackers. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 5946–5954.

Montes E, De Paula C y Ortega F. 2007. Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuya (*Passifloraedulis*). *Revista Temas Agrarios* 12: 5-12.

Montesdeoca NA. 2008. Caracterización física, química y funcional de la Lechuga rizada, para la creación de una norma técnica ecuatoriana, por parte del instituto ecuatoriano de normalización. Quito: Universidad tecnológica equinoccial.

Moreno HM y Patiño NR. 2010 elaboración de un recubrimiento comestible antimicrobial y antioxidante a partir de aceite de orégano (*origanum vulgare*) aplicado a la ensalada primavera mínimamente procesada de la empresa Defrescura. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos/149](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/149).

Moreno-Hernández CL, Sáyago-Ayerdi SG, García-Galindo HS, MataMontes de Oca M y Montalvo-González E. 2014. Effect of the application of 1-methylcyclopropene and wax emulsions on proximate analysis and some antioxidants of soursop (*Annona muricata* L.). *The Scientific World Journal* 2014:896853, <https://doi.org/10.1155/2014/896853>.

Muschiolik G. 2007. Multiple emulsions for food use. *Curr Opin Coll Interf Sci* 2007; 12: 213-20.

Nazari M, Mehrnia MA, Jooyandeh, H, y Barzegar H. 2019. Preparation and characterization of water in sesame oil microemulsion by spontaneous method. *Journal of Food Process Engineering.*; 42 (4): e13032. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13032>

Negahdari R, Ghavimi MA, Barzegar A, Memar MY, Balazadeh L, Bohlouli S, Maleki y Dizaj S. 2020. Antibacterial effect of nanocurcumin inside the implant fixture: An in vitro study. *Clin. Exp. Dent. Res.* 2020, 7, 163–169.

Nygård K, Lassen J, Vold L, Andersson Y, Fisher I, Löfdahl S, Threlfall J, Luzzi I, Peters T, Hampton M, Torpdahl M, Kapperud G, Aavitsland P. 2008. Outbreak of *Salmonella* Thompson infections linked to imported rucola lettuce. *Foodborne Pathog Dis* 5:165–173. doi: 10.1089/fpd.2007.0053.

Obón JM, Castellar MR, Alacid M y Fernández-López JA. 2009. Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 471–479.

Ochoa, A, Hernández-Becerra J, Cavazos-Garduño A, Vernon-Carter E y García H. 2016. Preparation and characterization of curcumin nanoemulsions obtained by thin-film hydration emulsification and ultrasonication methods. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1),79-90. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62045307009>

Olaimat AN, Holley RA. 2012. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol* 32:1–19. doi: 10.1016/j.fm.2012.04.016

Oliveira GHH, Souza, EL, Stamford TLM y Silva EP. 2017. Effect of chitosan coating enriched with rosemary essential oil on the quality of minimally processed lettuce. *Food Science and Technology*, 37(2), 266-272. doi: 10.1590/1678-457x.00016.

Pérez-Soto E, Badillo-Solis KI, Cenobio-Galindo AdJ, Ocampo-López J, Ludeña-Urquiza FE, Reyes-Munguía A, Pérez-Ríos SR y Campos-Montiel R. 2021 Coating of Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) Employing Nanoemulsions Containing the Bioactive Compounds of Cactus Acid Fruits: Quality and Shelf Life. *Processes*. 9(12):2173. <https://doi.org/10.3390/pr9122173>

Perumal AB, Huang L., Nambiar RB, , R. B., He Y, ., Li , X . y Sellamuthu PS. , P. S. 2(2022). Application of essential oils in packing films for the preservation of fruits and vegetables: a review. *Food Chemistry*, 375: 131810.

Plasencia D. 2010. Estudio de la proteína de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y quitosano como película comestible y su aplicación en la vida útil postcosecha en arándanos (*Vaccinium corymbosum* L., O'Neal) (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Trujillo. Facultad de ciencias agropecuarias. Trujillo-Perú.

Plaza L, Ouédraogo M y Ouoba LI. 2013. Microbial quality of minimally processed fruits and vegetables sold in Ouagadougou, Burkina Faso. *African Journal of Microbiology Research*, 7(47), 5298-5302.



Raduly FM, Raditoiu V, Raditoiu A y Purcar V. 2021. Curcumin: Modern Applications for a Versatile Additive. Coatings. <https://doi.org/10.3390/coatings11050519>.

Ramírez-Nieto N, Baena Y y Osorio C. 2019. Caracterización fisicoquímica de emulsiones aceite/agua a partir de uchuva (*Physalis peruviana*) como ingrediente para la industria alimenticia. *Información Tecnológica*. 30(3). 147-156.

Raybaudi, R. 2007. Uso de sustancias antimicrobianas naturales en combinación con compuestos estabilizadores de la calidad para controlar microorganismos patógenos y extender la vida útil de las frutas frescas cortadas. [Tesis Ph.D.]. Departamento de Tecnología de Alimentos de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria: Universidad de Lleida.

Reglamento (CE) n° 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) n° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos del EEE). (2007). *Official Journal*, L 322, 12-29. ELI: [http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1441/oj\[legislation\]](http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1441/oj[legislation]).

Restrepo JI y Aristizába ID. 2010. "Conservación de fresa (*fragaria x ananassa* duch cv. camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera de carnaúba", *Revista de la facultad de química farmacéutica*, ISSN-2145-2660., 17(3): 13, 2010.

Rodríguez D, Ortega R y Piñeros Y. 2018. Physicochemical, functional, and microbiological properties of lettuce (*Lactuca Sativa L.*) Added with Organic Acids.

Informacion Tecnologica, 29(4), 21-30. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000400021>

Rodríguez EN. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 7(1), 153-170.

Rodríguez I. 2013. Aceite esencial de orégano adicionado a recubrimientos de pectina como tratamiento antifúngico, antioxidante y saborizante en frutos de tomate (Tesis de maestría) Hermosillo, Sonora. Centro de Investigación en alimentación y Desarrollo, A. C (CIAD). Disponible en: <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/1007/1/RODRIGUEZ-GARCIA-I13.pdf>.

Rodriguez-Carpena JG, Moraga G, Garcia- Risco MR, Reglero G y Ibañez E. 2009. Application of edible films in fresh food packaging: a review. *Food Add Contam Part a Chem Anual Contr Expo Risk Asses* 26(5), 261-73.

Rojas A, Avena R, Olsen C, Friedman M, Henika P, Martín O, Pan Z y McHugh, T. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*. 81. 634-641

Rojas M, Soliva R, y Martín, O. 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. *Department of Food Technology*, 20(10). Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224409001769>.

Rosa M, Raybaudi-Masilía, Mosqueda-Melgar J, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2009; 8:157-180.

Ruíz N. 2020. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales encapsulados por las técnicas de emulsión o emulsión-atomización en sistemas modelos y alimentos. (Tesis de doctorado) Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla (UDLAP). Disponible en: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/dcl/ruiz\\_gonzález\\_n/etd\\_4063036175481.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/dcl/ruiz_gonzález_n/etd_4063036175481.pdf)

Salinas-Salazar VM, Trejo-Márquez MA y Lira Vargas AA. 2022. Aplicación de recubrimientos comestibles a base de mucílago de nopal, grenetina y cera de abeja en ciruela almacenada en refrigeración. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*.

Salvia-Trujillo L, Rojas-Graü, MA., Soliva-Fortuny R y Martín-Belloso O. 2015. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: Impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. *Postharvest Biology and Technology*, 105, 8–16.

Sanhueza LC. 2020. Encapsulación de extracto de cáscara de granada mediante emulsiones dobles y su aplicación como antimicrobiano en jugo de manzana no pasteurizado. (Tesis de maestría) Santiago, Chile. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/176820/Encapsulacion-de-extracto-de-cascara-de-granada-mediante-emulsiones-dobles.pdf>.

Schikora A, Carreri A, Charpentier E, Hirt H. 2008. The dark side of the salad: *Salmonella typhimurium* overcomes the innate immune response of *Arabidopsis thaliana* and shows an endopathogenic lifestyle. *PLoS One* 3: e2279. doi: 10.1371/journal.pone.0002279.

Segura Cantu, MSM. (2019). Aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum*) y alginato de sodio en la calidad postcosecha del arándano azul (*Vaccinium corymbosum*).

Sellamuthu PS, Mafune M, Sivakumar D, Soundy P. 2013. Thyme oil vapour and modified atmosphere packaging reduce anthracnose incidence and maintain fruit quality in avocado. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93: 3024-3031.

Sekarina AS, Supriyadi HSH, Munawaroh SAS, Susantoc E, Show PL, Ningrum A. 2023. Effects of edible coatings of chitosan - fish skin gelatine containing black tea extract on quality of minimally processed papaya during refrigerated storage, *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, Volume 5, <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100287>.

Simonazzi A, Cid AG, Villegas M, Romero AI y Palma SD. 2018. *Nanotechnology Applications in Drug Controlled Release*. Elsevier, 9, 81-116.

SINAVE-DGE-SSM. 2021. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección General de Epidemiología-Secretaría de Salud de México. Histórico Boletín Epidemiológico de 1985-2020. <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/historico-boletin-epidemiologico>.

Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar M, y Garcia-Celma MJ. 2005. Nano-emulsions, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Volume 10, 102-110, <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.06.004>.

Sothornvit R y Rodsamran P. 2008. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 407-415

Srinivasan M, Singh HB, y Munro P. 2003. Influence of retorting (121 °C for 15 min), before or after emulsification, on the properties of calcium caseinate oil- in-water emulsions. *Food Chemistry*, 80(1), 61-69. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00238-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00238-8).

Suslow T y Cantwel M. 2013. *Cucumber: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. Department of plant Sciencies, University of California Davis. Disponible en [http://postharvest.ucdavis.edu/Hortalizas/Pepino\\_796/](http://postharvest.ucdavis.edu/Hortalizas/Pepino_796/) (Consultado Enero, 2023).

Syed HK, Peh KK. (2014) Identification of phases of various oil, surfactant/ co-surfactants, and water system by ternary phase diagram. *Acta Pol Pharm*. 2014 Mar-Apr;71(2):301-9. PMID: 25272651.

Tariq M, Mohurle S, Patravale VB y Aruna K. 2016. Formulation of  $\beta$ -lactam antibiotic encapsulated micro-and multiple-emulsions, and evaluation of its antibacterial activity against  $\beta$ -lactamase producing uropathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(2), 190-201.

Theochari I, Xenakis A y Papadimitriou V. 2020. Nanocarriers for effective drug delivery. En Smart Nanocontainers (pp. 315-341). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816770-0.00019-8>.

Tirpanalan, Ö, Zunabovic M, Domig J y Kneifel W. 2011. Mini review: Antimicrobial Strategies in the Production of Fresh-Cut Lettuce Products, Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, 1ra edición, 176-188, Formatex, Vienna, Austria.

Ureña A y Campoverde P. 2010. Efecto de biofertilizantes en la producción de Lechuga. Uroapán Michoacán: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Valdés A. 2005. contenido de nitratos en lechuga (*Lactuca sativa L.*) cultivada en la 3<sup>a</sup> zona de riego de Rio de Mendoza. Facultad de ciencias agrarias.

Valle-Ortiz DJ, Gómez-Cruz A, Hernández-Fuentes AD y Valle-Guadarrama S. 2019. Control microbiano en frutos de tuna blanca con recubrimiento biopolimérico de quitosano, cera de candelilla y aceite esencial de tomillo. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 42 (3): 201 - 207, 2019.

Vargas SV. 2011. Caracterización de la oleoresina de cúrcuma encapsulada con fructanos de *Agave Angustifolia* Haw: capacidad antioxidante y absorción (Tesis de maestría) Yauatepec, Morelos. Instituto Politécnico Nacional (IPN).

Vasudevan S y Prabhune AA. 2018. Photophysical studies on curcumin-sophorolipid nanostructures: Applications in quorum quenching and imaging. R. Soc. Open Sci. 2018, 5, 170865.

Vega-Vega V, Silva-Espinoza BA, Cruz-Valenzuela MR, Bernal-Mercado AT, González-Aguilar GA, Vargas-Arispuro, I, Corrales-Maldonado CG y Ayala-Zavala JF. 2013. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 197-203.

Vistel-Vigo M, Ríos Silveira I, Freire González A y Silveira García D. 2003. *Curcuma longa* L., un estudio integrador. Infogest.

Wang LN, Lu L, Zhao C, Qi W, Zhan J, Dong y Hao X. 2016. Characterization of stress degradation products of curcumin and its two derivatives by UPLC–DAD–MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry*.

Wang X, Li K, Zhang X, Gao T, Zhang L, Shen Y y Yang L. 2023. Performance of chitosan/γ-polyglutamic acid/curcumin edible coating and application in fresh beef preservation. *Food Science and Technology*, 43, e103222. <https://doi.org/10.1590/fst.103222>

Wang Y, Li X y Li J. 2020. Efecto del recubrimiento de curcumina en la calidad de fresas durante el almacenamiento. *Revista de Investigación Agrícola*, 17(2), 1-10. Recuperado de <https://doi.org/10.17583/rca.2020.4666>.

Wang Y, Lu Z, Wu H y Lv F. 2009. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 136(1), 71–74. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.

Weiss J, Gaysinsky S, Davidson M y McClements J. 2009. Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In *Global issues in food science and technology* (pp. 425-479). Academic Press.

Xu G, Wang C, y Yao P. 2017. Stable emulsion produced from casein and soy polysaccharide compacted complex for protection and oral delivery of curcumin. *Food Hydrocolloids*, 71, 108-117.

Yan Z, Minying Z, Zonghui M, Benrong X, Ruihua G y Xuebing X. 2015. 8 - Sugar Fatty Acid Esters, Editor(s): Moghis U. Ahmad, Xuebing Xu, *Polar Lipids*, Elsevier, Pages 215-243, ISBN 9781630670443, <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-044-3.50012-1>

Yang X, Gil MI, Yang Q y Tomás-Barberán FA. 2022. Compuestos bioactivos en la lechuga: beneficios para la salud e impacto de las prácticas pre y poscosecha. *Biblioteca Horticultura*

Yerramilli M y Ghosh S. 2017. Long-term stability of sodium caseinate-stabilized nanoemulsions. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 82–92. doi:10.1007/s13197-016-2438-y

Ying Z, Yuanshan Y, Cheng L, Lu L, Zou B, Wu J, Zhou W, Li J y Xu Y. 2021. Effects of curcumin-based photodynamic treatment on quality attributes of fresh-cut pineapple. *LWT*, (), –. doi: 10.1016/j.lwt.2021.110902.

Yves T y Bourgeois MC. 2002. *Tecnología de las Hortalizas*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza (España), pág.: 485, 487- 489, 494.

Zhang C, Chen R y Yuan J. 2017. Effects of sodium hypochlorite on color, texture, and overall quality of fresh-cut lettuce. *Food Science and Technology*, 37(2), 309-314.



Zhang H, Cui Y, Zhu S, Feng F y Zheng X. 2010. Characterization and antimicrobial activity of a pharmaceutical microemulsion, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 395, Issues 1–2, 2010, Pages 154-160, ISSN 0378-5173, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.05.022>.

Zheng J, Allard S, Reynolds S, Millner P, Arce G, Blodgett RJ, y Brown EW. 2013. Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. *Applied and environmental microbiology*, 79(8), 2494–2502. <https://doi.org/10.1128/AEM.03704-12>.

## XII ABREVIATURAS

% Porcentaje

°C Grados Celsius

µg Microgramo (s)

µL Microlitro (s)

µm Micrómetro

AE: Aceite esencial

aprox: aproximadamente

aw: Actividad de agua

CAS: Caseinato de calcio

Col: Colaboradores

CUR: Curcumina

cv: Cultivar

DMCC: Doble microemulsión con curcumina

DMSC: Doble microemulsión sin curcumina

EOR: Especies de oxígeno reactivo

FO: Fase oleosa

HLB: Balance lipofílico-hidrofílico

Kcal: Kilocalorías

lt: lote

MC Maestro en Ciencias

MCC: Microemulsión con curcumina

mg Miligramo (s)

min Minuto (s)

mL Mililitro (s)

mm: Milímetros

MSC: Microemulsión sin curcumina

NaClO: Hipoclorito de sodio

NE: Nanoemulsiones

nm Nanometro (s)

O<sub>2</sub>: Oxígeno

OW: Aceite en agua

OWO: Aceite en agua en aceite

ppm: Partes por millón

RC: Recubrimiento comestible

SC: Sin curcumina

Span 80: Monoleato de Sorbitán

TSB: medio soya tripticaseína

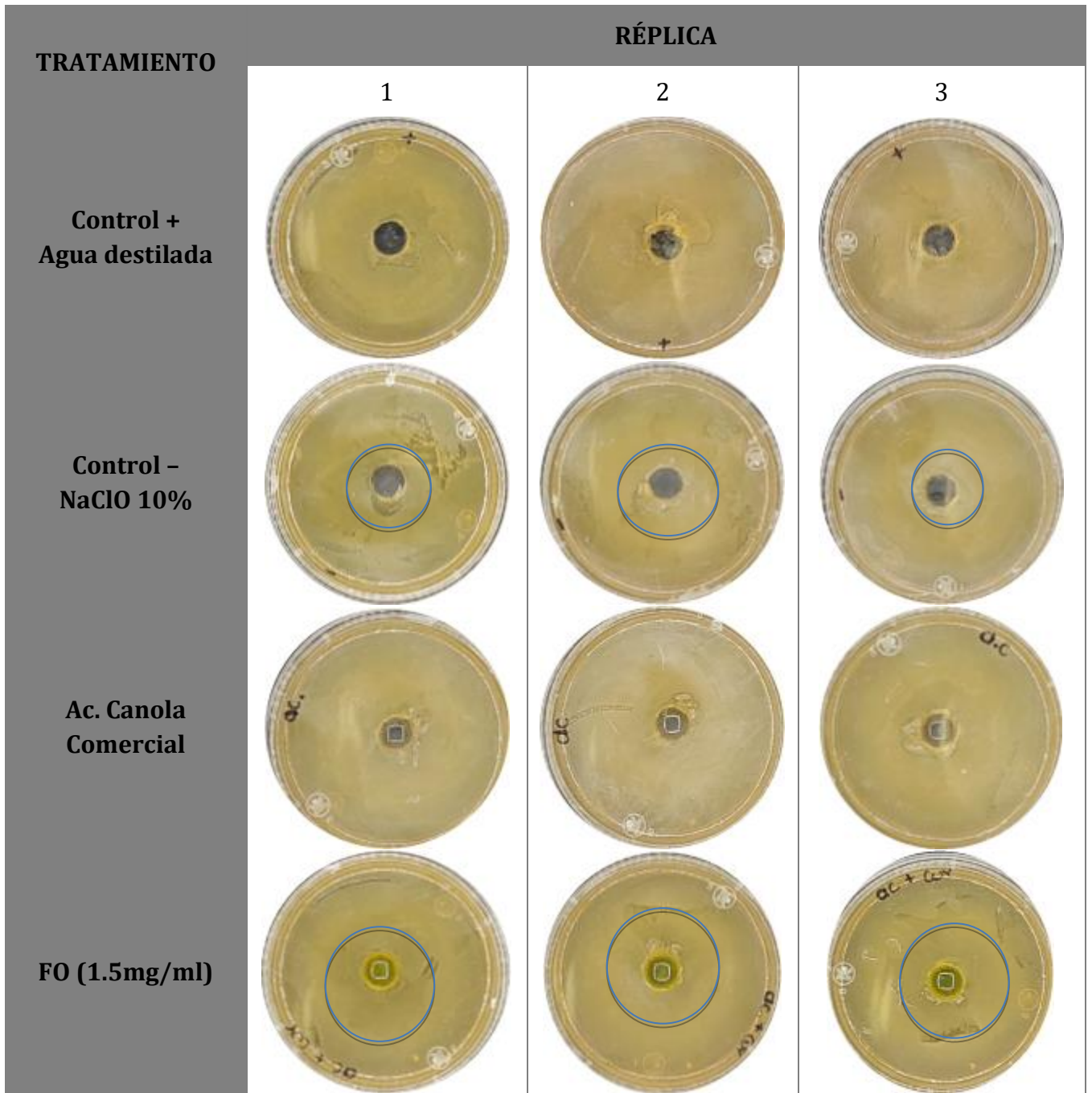
Tween 20: monolaurato de polioierilensorbitano

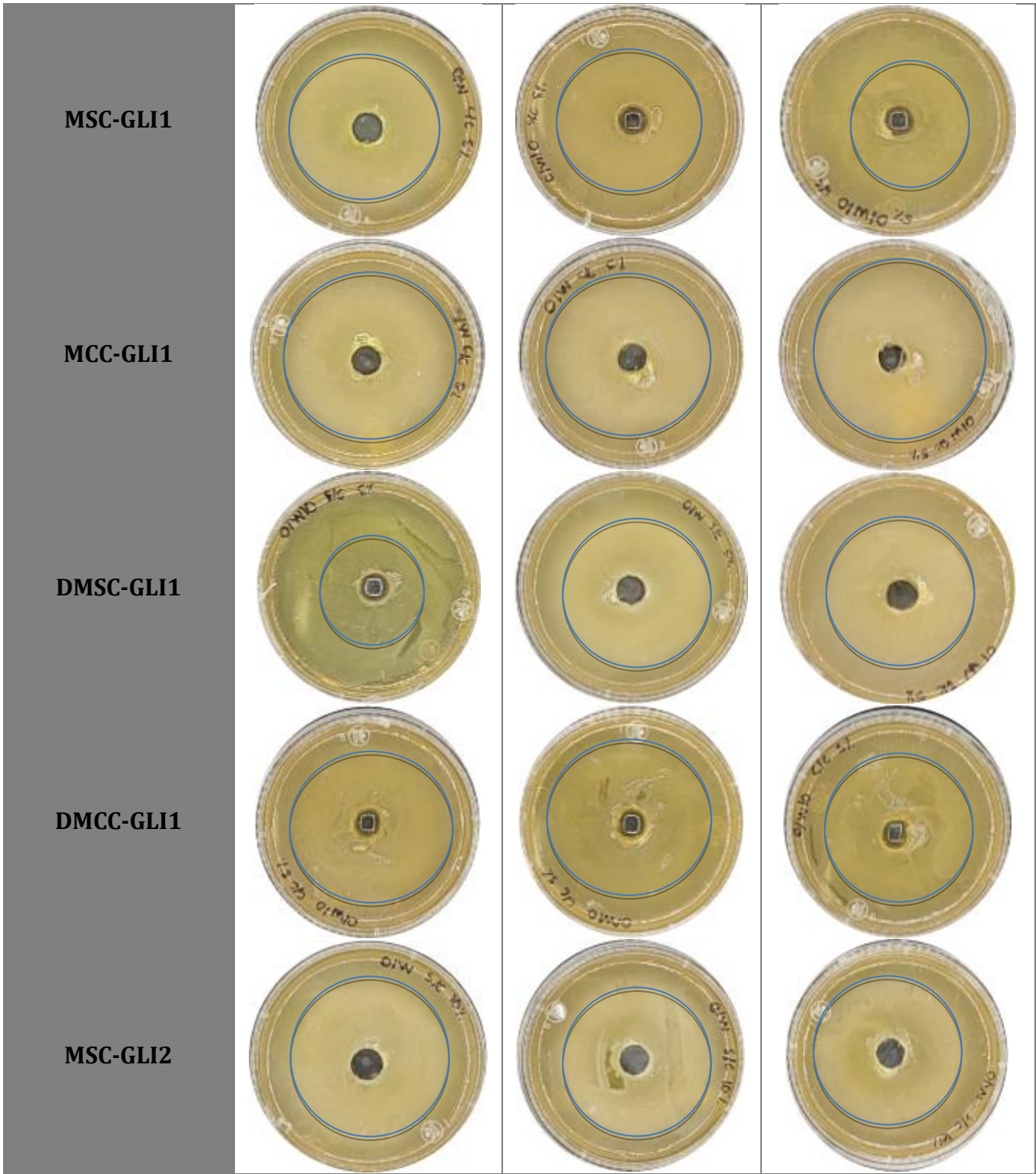
Tween 80: monoleato de polioxietilensorbitano

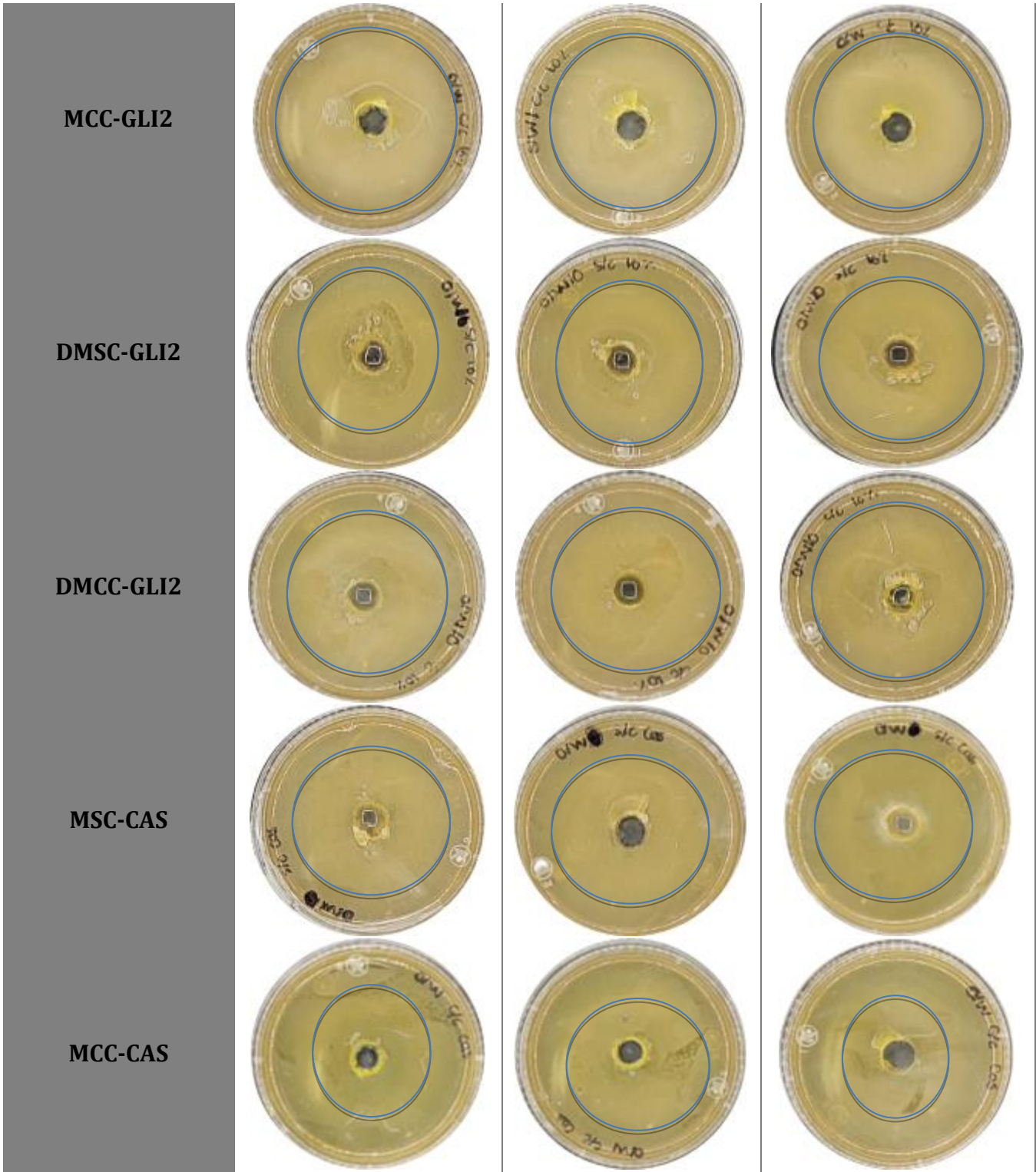
WO: Agua en aceite

WOW: Agua en aceite en agua

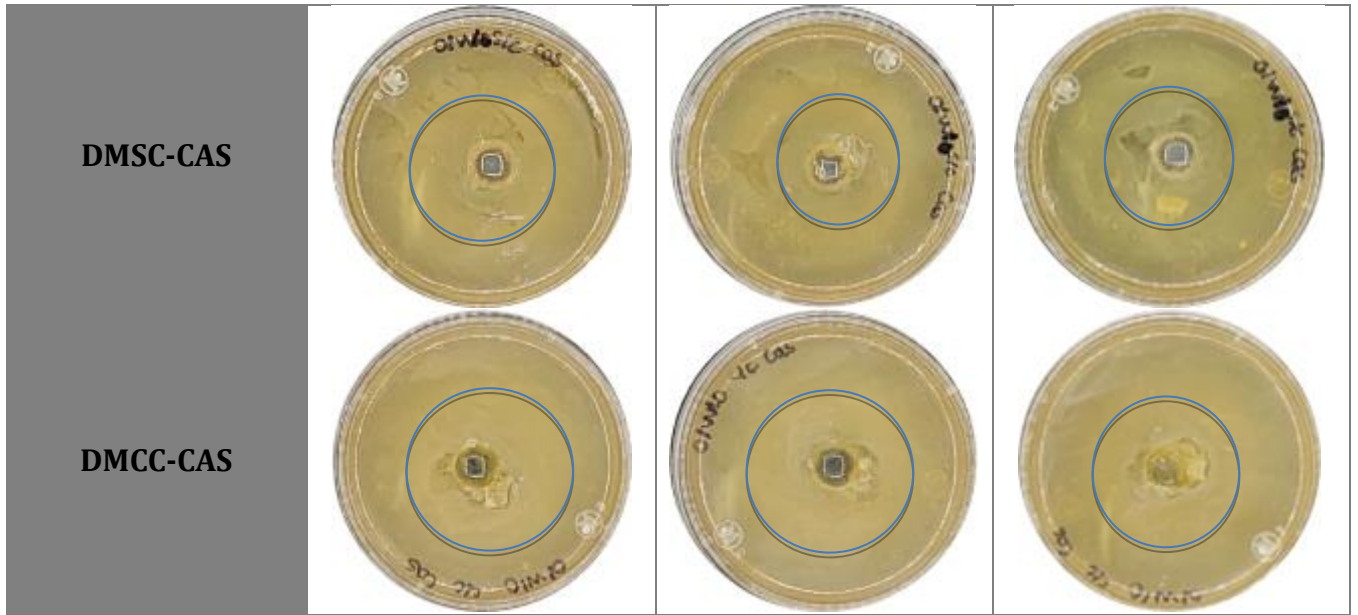
## XII ANEXOS





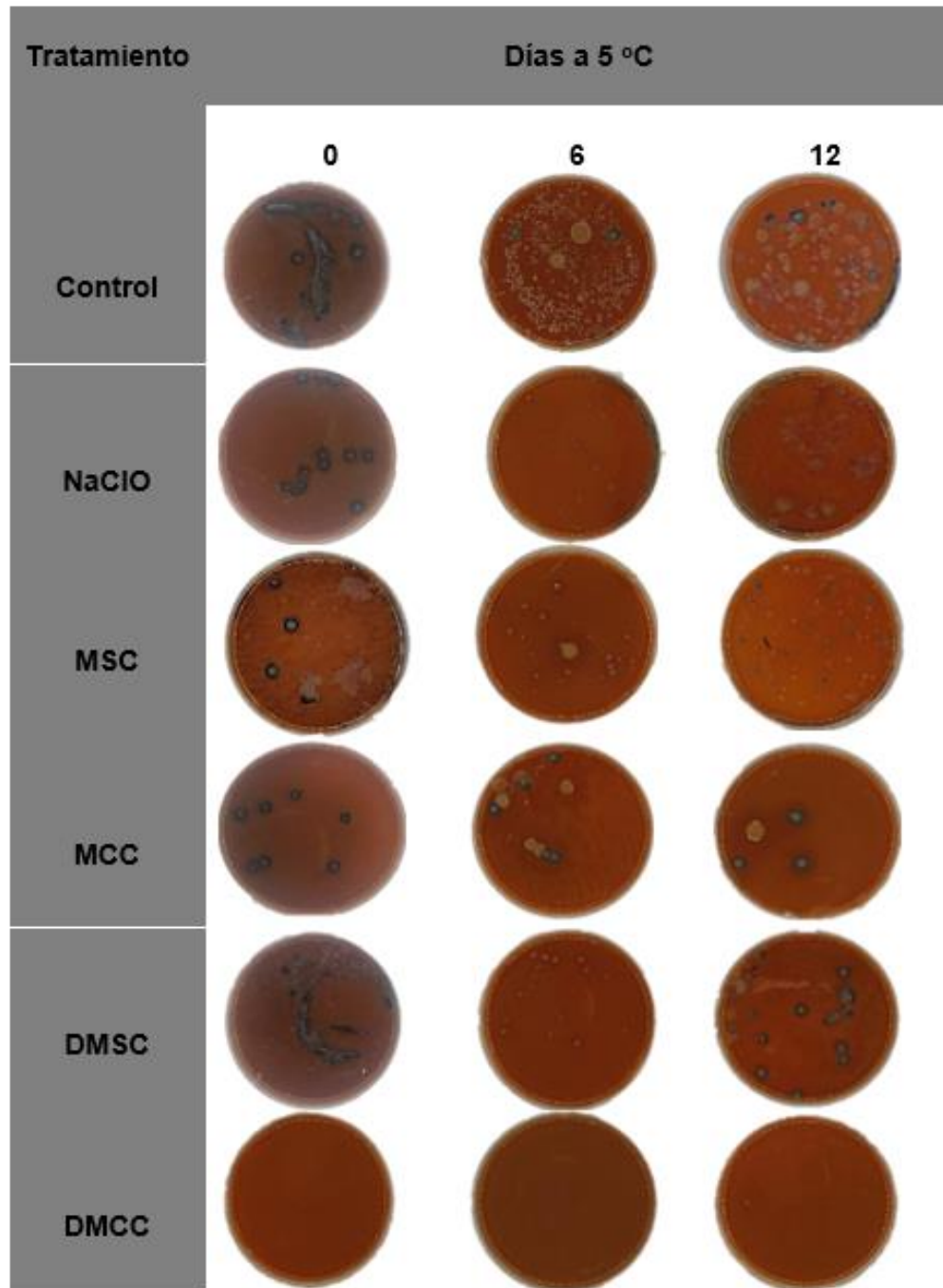




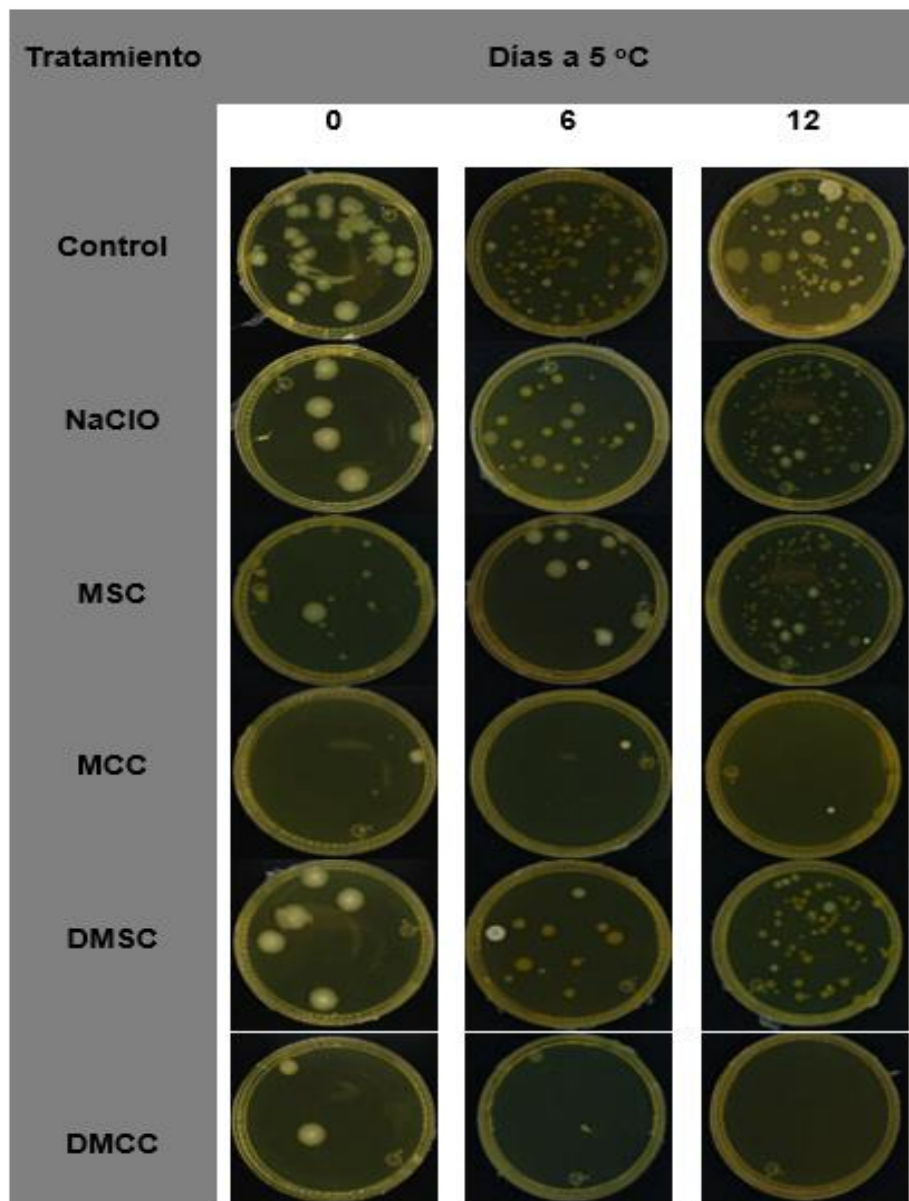


**Anexo 1.** Efecto de los diferentes tratamientos contra *Salmonella serovar albany*

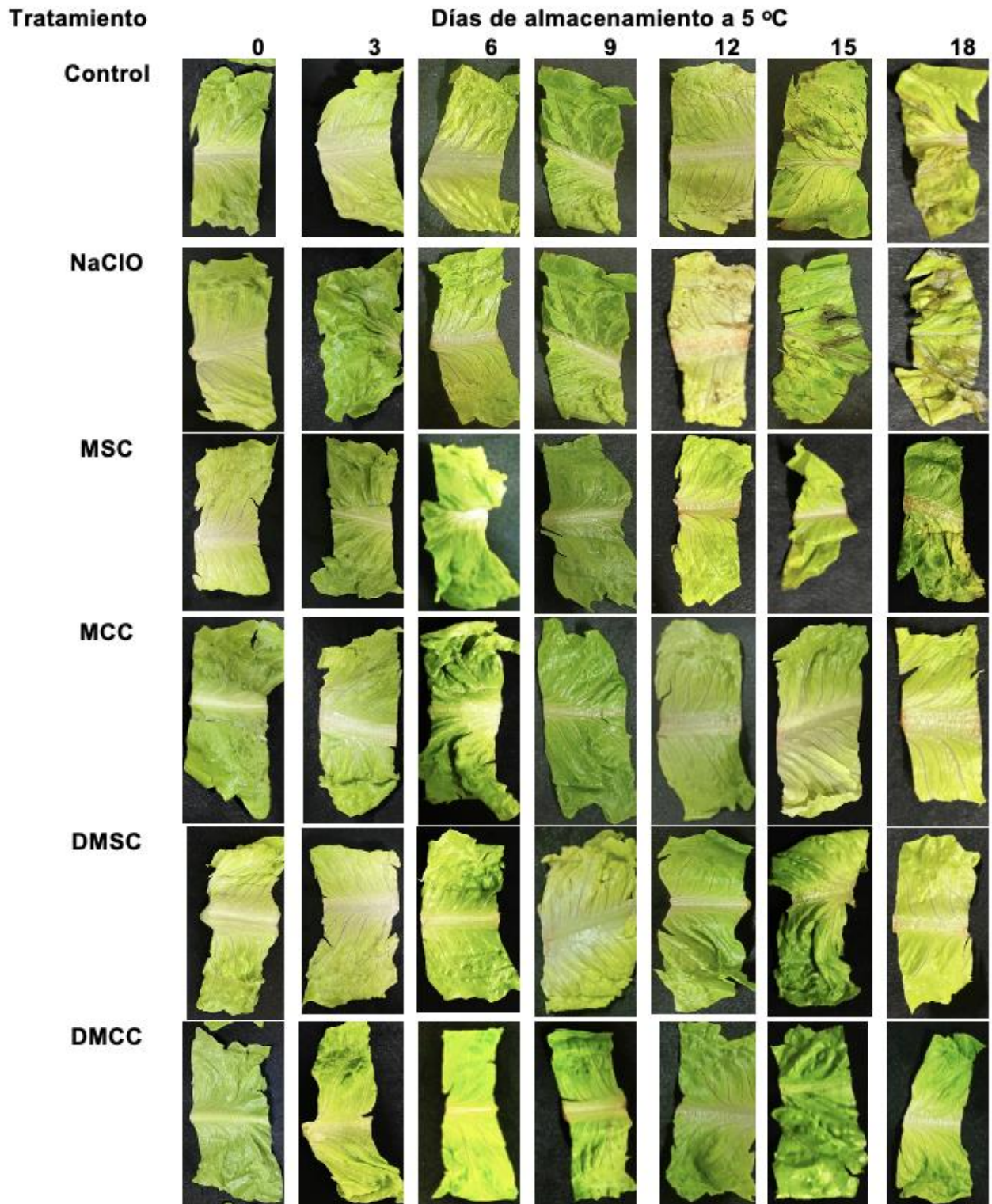




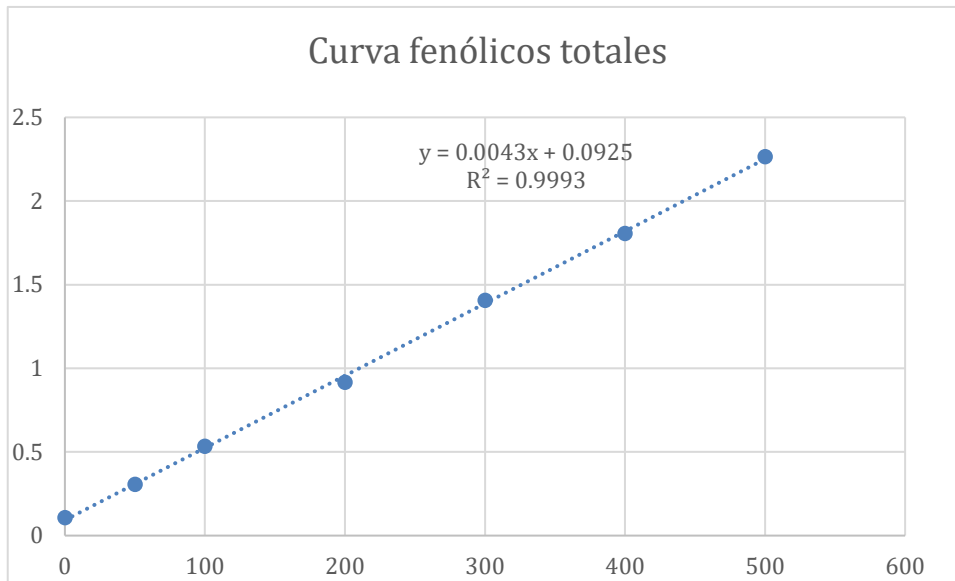
**Anexo 2.** Efecto de los diferentes tratamientos (aplicados a lechuga cv. romana MMP almacenada a 5 °C por 12 días sobre el crecimiento de *S. serovar albanus*)



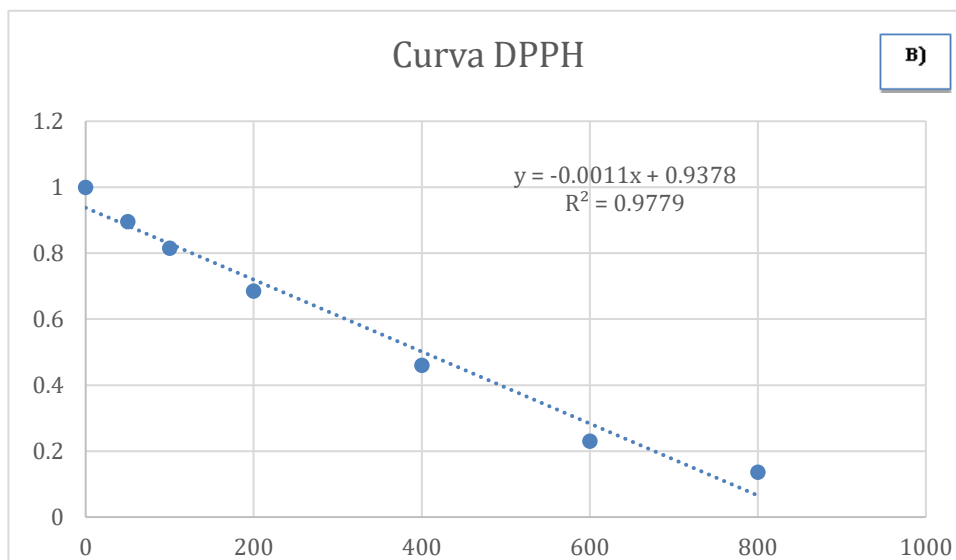
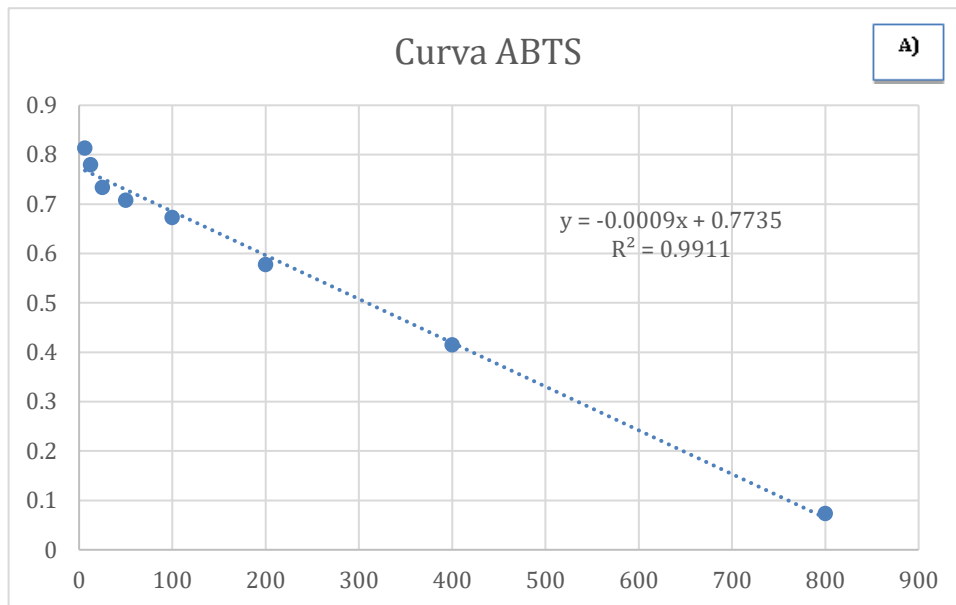
**Anexo 3.** Efecto de los diferentes tratamientos (control, NaClO, MSC, MCC, DMSC y DMCC) aplicados en lechuga cv. romana MMP almacenada a 5 °C por 12 días sobre el crecimiento de mesófilos aerobios.



**Anexo 4.** Cambios de color externo en hojas de lechuga cv. romana MMP tratadas con microemulsiones, almacenadas a 5 °C durante 18 días.



**Anexo 5.** Curva de calibración de los fenólicos totales.



**Anexo 6.** A). Curva de calibración de la capacidad antioxidante por el método ABTS; B). Curva de calibración de la capacidad antioxidante por el método DPPH.