

# BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias · Universidad del Cauca

## **PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LÍNEA**

El Comité Editorial de Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial informa que este manuscrito ha cumplido los requisitos editoriales y científicos y ha sido aprobado para publicación, con base en los conceptos emitidos por los pares evaluadores. Se publica anticipadamente, en versión pdf, de manera provisional, con base en la última versión electrónica del manuscrito y sin haber sido sometido a los procesos de edición, diagramación y corrección de estilo.

La versión anticipada de este manuscrito puede ser descargada, usada y citada, aclarando que la versión definitiva que se va a encontrar en la plataforma de la revista, puede diferir de ésta e aspectos de forma.

# Obtención de nanoemulsiones de *Cúrcuma longa* L. y su aplicación en bebida acuosa\*

## Obtention of nanoemulsions of *Curcuma longa* L. and its application in aqueous beverage

CHICA-BARCO, VANESSA<sup>1</sup>; MARTÍNEZ-CORREA, HUGO A.<sup>2</sup>; PEREZ-MUNIVE, ADRIANA M.<sup>3</sup>

### RESUMEN

La curcumina contrarresta diversas patologías como el cáncer o enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, su solubilidad es baja en soluciones acuosas limitando su aplicabilidad. Esta investigación elaboró una nanoemulsión estable de aceite en agua (O/W) a base de oleorresina de *Cúrcuma longa* (ORC) para ser aplicada a bebida acuosa como una posible alternativa al uso de colorantes artificiales como la tartrazina. Se formularon y prepararon dos tipos de nanoemulsión: Oleorresina (EORC) y curcumina comercial 75 % (ECC). Estas se caracterizaron mediante el porcentaje de retención de curcumina (CR), contenido de fenoles totales (TPC); estabilidad física y tamaño de partícula (TP) por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se obtuvieron nanoemulsiones estables con TP de 10,201 nm y 13,847 para EORC y ECC respectivamente. EL CR hallado fue de 67,13 % (EORC) y 81,991 % (ECC); y, el contenido de fenoles para EORC fue de 35,466 y 36,128 mg EAGL/L para ECC. Igualmente, se obtuvieron bebidas acuosas a base de EORC con un CR de 80, 014 %. La

---

\* Proyecto de investigación de origen: "Combinación de procesos de extracción de fluidos supercríticos y ultrasonido en la obtención de compuestos de cúrcuma (*Curcuma longa*) y su efecto en la estabilidad de sus emulsiones". Financiación: Universidad Nacional de Colombia-proyecto Hermes 42119. Culminación: marzo 2020,

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de investigación en procesos agroindustriales (GIPA). Ingeniera Agroindustrial. Palmira, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-3250-5516>

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de investigación en procesos agroindustriales (GIPA). Ph.D. Ingeniería de Alimentos. Palmira, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-9617-0033>

<sup>3</sup> Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de investigación en procesos agroindustriales (GIPA). Ingeniera Agroindustrial. Palmira, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-0467-8743>

**Correspondencia:** hamartinezco@unal.edu.co

### Cómo citar este artículo

CHICA-BARCO, VANESSA; MARTÍNEZ-CORREA, HUGO A.; PEREZ-MUNIVE, ADRIANA M. (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. xx-xx. Doi:

### Historial del artículo

Recibido para evaluación: 17 de Febrero 2021

Aprobado para publicación: 9 de Julio 2021

bebida con EORC presentó mayor turbidez en comparación a la ECC y la tartrazina (control). Se obtuvieron nanoemulsiones y bebidas estables con aspectos diferenciados como color, turbidez, tamaño de partícula, separación de fases/tiempo. La EORC presentó mayor CR, por lo tanto, puede ser una alternativa potencial como colorante y antioxidante en bebidas acuosas.

**PALABRAS CLAVE:** Emulsión; Nanoemulsión; Curcumina; Actividad antioxidante; Extracción asistida por ultrasonido (EAU); Bebida acuosa; Compuestos fenólicos; Tamaño de partícula; Tartrazina; Estabilidad; Índice de cremado.

## ABSTRACT

Curcumin counteracts over different pathologies like cancer or neurodegenerative diseases. However, its solubility is low in aqueous solutions therefore limiting its applicability. This study worked on obtaining an oil-in-water (O/W) stable oleoresin-based emulsion of *Curcuma longa* (ORC) to be applied into an aqueous beverage as an alternative to artificial colorants such as tartrazine. Two types of nanoemulsion were formulated and prepared: Oleoresin (EORC), and commercial curcumin 75 % (ECC). They were differentiated by percentage curcumin retention (CR), total phenol content (TPC); physical stability, and particle size (TP) under a Transmission Electron Microscopy (TEM). Two stable nanoemulsions were obtained with a TP of 10,201nm (EORC), and 13,847 nm for ECC. CR observed for EORC was 67,136 %, and 8,991 % for ECC. Total Phenol content of 35,466 and 36,128 mg EAG/L respectively. Same way, aqueous beverages with EORC were processed and showed a CR of 80,014 %. EORC beverage presented higher turbidity compared to ECC and tartrazine (as control). Emulsions and beverages revealed settle aspects like color, turbidity; particles size or phase/time division. EORC exhibited greater CR which could be a possible alternative as colorant and antioxidant in aqueous beverages

**KEYWORDS:** Emulsion; Nanoemulsion; Curcumin; Antioxidant activity; Ultrasound-assisted extraction (UAE); Aqueous beverage; Phenolic compounds; Particle size; Tartrazine; Stability; Cremation index.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, la investigación y el desarrollo de alimentos funcionales ha cobrado gran importancia en el campo alimentario, industrial y de la medicina, debido a sus propiedades funcionales que contrarrestan y/o previenen enfermedades (Granato *et al.*, 2020). La *Curcuma longa* L., es una planta perenne, pertenece a la familia *Zingiberaceae*, se produce en China, Malasia, Perú, Brasil, India (Sandeep *et al.*, 2018); posee una coloración entre amarillo y naranja que hace que sea atractiva para proporcionar color a los alimentos, debida a la presencia de curcuminoides en su composición, principalmente la curcumina (75 %), la demetoxicurcumina (10-25 %) y la bisdemetoxicurcumina (5 %) (Patil *et al.*, 2019). La curcumina, principal compuesto fenólico posee un alto potencial terapéutico (Araiza-Calahorra *et al.*, 2018; Aswathanarayan & Vittal, 2019; Azmi *et al.*, 2019), debido que puede actuar frente a diferentes patologías como son: enfermedades cardiovasculares, intestinales, neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson), contra el cáncer, diabetes, Enfermedades metabólicas, SIDA, cálculo biliar, enfermedades de las articulaciones y del hígado, anemia, infecciones bacterianas e infecciones virales, entre otras (Araiza-Calahorra *et al.*, 2018; Bhatt *et al.*, 2018; Danafar *et al.*, 2018; Azmi *et al.*, 2019; Bagheri *et al.*, 2020).

A pesar de los beneficios que tiene la curcumina, su biodisponibilidad y aplicación en la industria está limitada debido a su baja solubilidad en soluciones acuosas y su susceptibilidad a cambios de pH especialmente a condiciones alcalinas, a la luz, a la oxidación, al calor,

humedad e iones de hierro y temperatura, que también limitan su eficacia clínica (Danafar *et al.*, 2018). Debido a lo anterior, en la industria es común el uso de colorantes sintéticos por su estabilidad y poder colorante como la tartrazina (FD&C Yellow No. 5 y E102). Sin embargo, este tipo de aditivo se ha restringido en diferentes países como Noruega, Austria, Suecia y Alemania (Bonciu *et al.*, 2018), ya que puede provocar efectos adversos y alterar los marcadores bioquímicos en el cerebro, daño a microvellosidades y permeabilidad intestinal debido al agotamiento crónico de zinc (Bhatt *et al.*, 2018). Por lo anterior, existen alternativas para contrarrestar dichas limitaciones mediante sistemas de administración basados en emulsiones, los cuales se dividen en macroemulsiones, microemulsiones o nanoemulsiones. Las nanoemulsiones se consideran cinéticamente estables, pero termodinámicamente inestables. Los métodos de producción de nanoemulsión pueden ser métodos de alta intensidad como dispositivos ultrasónicos, o métodos de baja intensidad como temperatura de inversión de fase (McClements & Jafari, 2018). Según Azmi *et al.* (2019), a mayor superficie del sistema de emulsión permite mejorar la absorción de activos o drogas a través de muchas rutas, además determina la entrega sostenida y selectiva.

Debido a lo anterior, con esta investigación se busca obtener una emulsión estable aceite en agua (O/W) a base de extractos de oleorresina de cúrcuma con alta capacidad antioxidante y retención de curcumina, con el fin de aplicarla en una bebida acuosa como alternativa al uso de colorantes sintéticos como la tartrazina.

## **MÉTODO**

Los rizomas de cúrcuma se obtuvieron en el municipio de Palmira, Valle del Cauca (Colombia) (temperatura media  $27,2 \pm 1,13$  °C, humedad relativa:  $61,67 \pm 3,21$  %, altitud: 1001 msnm, latitud:  $3^{\circ}31'48''$ , longitud:  $76^{\circ}81'13''$ ). Estos rizomas se cortaron en rodajas de 5 mm de espesor y se secaron a 40 °C hasta peso constante, obteniendo una humedad final de 14,38 % en base seca, posteriormente, se procesaron en un molino de martillos de acero inoxidable-calibre 14 (DIDACONTROL SAS) hasta un diámetro medio de partícula de 0,402 mm. Posteriormente, se almacenaron en refrigeración (4 °C) en recipientes herméticos hasta su uso.

## **Materiales**

Curcumina de síntesis 1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona (Merck,  $\geq 75$  %). Curcumina estándar (Eastman Kodak Company, Rochester, Nueva York, 98,45 %). Aceite de soya, girasol y oliva obtenidos en el mercado local (Palmira, Colombia). Monooleato de sorbitán (Span 80, HLB=4,3); Monooleato de polioxietilensorbitano, o polisorbato 80 (Tween 80, HLB=15), se obtuvieron de Panreac. Alcohol etílico al 95 %, metanol absoluto, azida de sodio  $\text{NaN}_3$  (Merck).

## **Extracción de oleorresina de cúrcuma (ORC)**

Oleorresina de *Cúrcuma longa* (ORC) se obtuvo mediante metodología presentada por Wakte *et al.* (2011) y Li *et al.* (2014). La Cúrcuma deshidratada (6,4 % de humedad) se llevó a microondas (140 W por 1 min), luego se mezcló con etanol:agua (40:60, relación sólido/solvente de 1:15 (g/mL)), y se sometió a extracción asistida por ultrasonido (Amplitud 45 % por 10 min con pulsos on:off (3:1), circulación de agua a 40 °C (Branson Digital Sonifier 450, USA). El extracto se filtró al vacío y se rotoevaporó (IKA RV8-S S99, Suiza) a una temperatura de 53 °C y una velocidad de 30 rpm, posteriormente se liofilizó (Labconco freezezone 6 plus, USA) a una presión de vacío de 0,120 mBar y una temperatura de -60 °C por 24 horas y se conservó en refrigeración (4 °C) hasta su uso.

## Caracterización de oleorresina de cúrcuma (ORC)

La caracterización de ORC obtenida se realizó con la determinación de rendimiento, fenoles totales (TPC) (Singleton *et al.*, 1999), ensayo ABTS (ácido 2'2-azino-bis-[3-etilbenzotiazol-6-sulfónico]) (Machado *et al.*, 2015) y contenido de curcumina (%C) (Syed *et al.*, 2015). El porcentaje de curcumina se obtuvo mediante la ecuación 1 reportada por Patil *et al.* (2018).

$$\%C = \frac{M_C}{M_M} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

%C: Porcentaje de curcumina

$M_C$ : Masa de la curcumina extraída (g)

$M_M$ : Masa de la muestra en base seca (g)

## Solubilidad de curcumina en aceites

La solubilidad de la curcumina se determinó utilizando método espectrofotométrico planteado por Ahmed *et al.* (2012) con modificaciones. Brevemente, se añadió curcumina en exceso en 20 mL de cada aceite a una temperatura de 80 °C por 10 min. La mezcla se sonicó (20 min) y se centrifugó (1750 rpm por 10 min). Las soluciones se mantuvieron a 25 °C por 24 h. Posteriormente, el sobrenadante fue diluido en aceite para lectura en el espectrofotómetro (Shimadzu UV 1800, Suiza). Se empleó una celda cero con aceite puro según el caso como referencia. Se calculó el contenido de curcumina utilizando una curva de calibración estándar para curcumina comercial en aceite de: soya ( $R^2 = 0,9835$ ,  $\lambda = 418,8$  nm), girasol ( $R^2 = 0,9978$ ,  $\lambda = 418,2$  nm) y oliva ( $R^2 = 0,9913$ ,  $\lambda = 417,8$  nm). Para la oleorresina de cúrcuma (ORC) se obtuvo una curva de calibración con un  $R^2 = 0,9867$ ,  $\lambda = 417,8$  nm.

## Formulaciones y preparación de nanoemulsiones

**Preparación de la fase oleosa.** Una vez se obtuvo el aceite en el cual la curcumina es más soluble, éste se calentó a 80 °C y se adicionaron 0,1890 mg ORC/g emulsión y el SPAN 80 agitando por un periodo de 1 hora.

**Preparación de la fase acuosa.** En paralelo con la fase oleosa, se preparó la fase acuosa, la cual acuosa contiene azida de sodio ( $\text{Na}_3\text{N}_3$ ) como antimicrobiano, según lo reportado por Kharat *et al.* (2018). La fase acuosa se llevó a 80 °C y se adicionó Tween 80 hasta observar su completa dilución.

**Preparación de nanoemulsiones.** Posteriormente, se mezclaron las fases y se llevaron a homogenización (Ultraturrax IKA, T18 digital, Brasil) (14.000 rpm por 15 min). Esta mezcla se sometió a ultrasonido (Branson Digital Sonifier 450, USA) (Amplitud 40 %, 15 min, baño de circulación de agua a 12 °C); estas condiciones fueron establecidas mediante pruebas previas. Finalmente, las emulsiones se conservaron a temperatura de refrigeración alrededor de  $5 \pm 1$  °C hasta su aplicación. Para realizar la emulsión control se realizó el mismo procedimiento, pero reemplazando la oleorresina por curcumina comercial al 75 % (0,00191 mg de curcumina comercial/ g emulsión).

## Pruebas de caracterización de nanoemulsiones

**Cuantificación de curcumina.** El contenido de curcumina en las nanoemulsiones se determinó según la metodología implementada por Syed *et al.* (2015), con modificaciones. Se mezclaron 0,5 g de emulsión (p/p) en 25 mL de metanol, se calentó en baño de agua a 60 °C hasta disolución completa (10 min), se agitó manualmente (15 min) y se sonicó (15 min) (Branson 2510R-DTH, USA). Luego se centrifugó (4.000 rpm por 10 min). Para cuantificar la cantidad de curcumina presente se utilizó la regresión lineal ( $R^2 = 0,9989$ ). El contenido de curcumina se expresó como porcentaje de retención (%CR) mediante ecuación 2 similar a lo reportado por Aditya *et al.* (2015) con modificaciones.

$$\%CR = \frac{C_f}{C_i} * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

$C_i$ : Contenido de curcumina inicial en emulsión ( $\mu\text{g/mL}$ )

$C_f$ : Contenido de curcumina ( $\mu\text{g/mL}$ ) día final de análisis (día 15)

**Fenoles Totales.** Se determinó el contenido de fenoles (TPC) de acuerdo con lo reportado por Wolfe *et al.* (2003). Se preparó la curva de calibración de ácido gálico ( $R^2 = 0,9986$ ). Luego, se agregaron 60  $\mu\text{L}$  de muestra a la concentración adecuada y 60  $\mu\text{L}$  de RFC en todos los pozos, seguido de 180  $\mu\text{L}$  de disolución de carbonato de sodio, siguiendo el proceso se llevó la microplaca a incubación 30 °C por 30 min, se llevó a vortex y se procedió a leer las muestras a 750 nm en el lector de microplacas.

**Tamaño de partícula y morfología de emulsiones (TEM).** Las emulsiones se caracterizaron por su tamaño y morfología teniendo como base el estudio realizado por Lu *et al.* (2018), mediante el uso de microscopio electrónico de transmisión (TEM) (JEOL, JEM 1011, Tokio, Japón) (100 kV). Se secó una muestra a temperatura ambiente por 24 h antes de obtener imágenes de las partículas bajo TEM. Las imágenes se analizaron con el software libre Image J (versión 1.50i).

**Estabilidad.** La estabilidad de las emulsiones fue determinada mediante el procedimiento presentado por Sugumar *et al.* (2015). Inicialmente, se centrifugó para probar la estabilidad a 3.500 rpm durante 30 min y se evidenció si había separación de fases, seguido de un ciclo de calentamiento-enfriamiento a temperaturas de 40 y 5 °C alternativamente cada día durante 15 días.

**Índice de cremado.** El índice de cremado (%IC) se midió de acuerdo con la metodología reportada por Aditya *et al.* (2015). Las emulsiones se almacenaron en probetas de vidrio a  $4 \pm 1$  °C y  $25 \pm 2$  °C. Las mediciones se hicieron a intervalos de tiempo específicos (5, 10 y 15 días). El porcentaje de cremado expresado como porcentaje que permanece estable se determinó utilizando la ecuación 3:

$$\%IC = \left(1 - \frac{h_c}{h_T}\right) * 100 \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

%IC: Porcentaje que permanece estable sin formación de crema

$h_c$ : Altura de cremado

$h_f$ : Altura total inicial

### Características fisicoquímicas de las emulsiones

**Determinación de pH.** El valor de pH de las emulsiones se midió por triplicado, usando un medidor de pH (Mettler Toledo, modelo FE20).

**Determinación de color.** Se determinaron las coordenadas de color de las emulsiones ( $b^*$ ) con un colorímetro Konica Minolta (CHROMA METER CR-400, Japón). El equipo se calibró, posteriormente se colocó una muestra (10 mL) en una caja de Petri y se iluminó con luz diurna artificial D65 (2 ángulos estándar).

**Obtención bebidas acuosas.** Las bebidas se desarrollaron de acuerdo con la formulación planteada por Kim *et al.* (2014). Brevemente, sacarosa (7,5 % p/v), ácido cítrico (0,2 % p/v), ácido ascórbico (0,1 % p/v) y benzoato de sodio (0,05 % p/v) se añadieron al agua y se disolvieron completamente. Para aportar color a las bebidas se incorporaron las emulsiones preparadas con anterioridad a base de oleoresina (EORC) y curcumina comercial (ECC), ambas con una concentración de curcumina de 1,88  $\mu\text{g/mL}$ . La bebida control (tartrazina) se preparó mediante incorporación de 5 mL de solución (60  $\mu\text{g/mL}$ , dentro de la dosis permitida). Se utilizaron botellas de vidrio esterilizado para almacenar el sistema de bebidas fortificadas con curcumina bajo refrigeración ( $4\pm 1$  °C).

### Pruebas de evaluación en bebida acuosa

**Contenido de curcumina.** Se usó la metodología reportada por Aditya *et al.* (2015), con modificaciones. Para ello se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de bebida, se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de metanol y se mezclaron completamente. Se usó un vortex (BOECO, V1 Plus), para romper la emulsión y solubilizar la curcumina, luego se centrifugó (16.000 x g por 40 min). El sobrenadante se diluyó adicionalmente con metanol según se requirió (200  $\mu\text{L}$  de sobrenadante en 5 mL de metanol) y se cuantificaron utilizando espectrofotómetro UV vis y la curva de calibración para curcumina patrón ( $R^2 = 0,9989$ ). Se expresó como porcentaje de retención de curcumina (%CR) como se hizo para emulsiones (Ecuación 2).

**Turbidez.** Las pruebas de turbidez se utilizaron para medir la formación de cristales de curcumina en sistemas acuosos. Se usó un método espectrofotométrico reportado por Kharat *et al.* (2017). La turbidez en las bebidas se midió cada 24 horas, utilizando un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys 10S UV-vis, China) a 600 nm, usando una plancha de agitación (Thermo scientific SP131325Q) y un agitador magnético. La turbidez se calculó a partir de cada valor de absorbancia utilizando la ecuación 4:

$$T = 2,03 * \frac{Abs}{L_c} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

$T$ : Turbidez ( $\text{cm}^{-1}$ )

$Abs$ : Absorbancia

$L_c$ : Longitud del trayecto de la celda (cm)

**Características fisicoquímicas de las bebidas.** Las características fisicoquímicas se determinaron de igual manera que en las emulsiones.

**Tamaño de partícula y morfología de curcumina en bebida (TEM).** El tamaño de partícula se determinó con la misma metodología usada en emulsiones.

### **Análisis estadístico**

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y se presentaron como media  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) utilizando el software InfoStat y prueba de Tukey a un nivel de significación del 5 %. Por otra parte, para analizar estadísticamente el comportamiento de los datos en el tiempo se usó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), donde los bloques son los días de estudio.

## **RESULTADOS**

### **Caracterización oleorresina de cúrcuma (ORC)**

El cuadro 1 muestra los resultados para la caracterización de la oleorresina de cúrcuma obtenidos mediante ultrasonido con un rendimiento del 20,303 %. Además, se obtuvo una concentración de compuestos fenólicos totales (TPC) en la oleorresina de 2583,762 mg EAG/100 g harina. Vijayan *et al.* (2019) obtuvieron extractos de *Cúrcuma aromática salisb* mediante fluidos supercríticos SCCO<sub>2</sub> (45 °C a 40 MPa por 60 min) con un valor de actividad antioxidante por ABTS de  $64,2 \pm 1,2$   $\mu$ mol TE/g oleorresina, con isopropanol (20 % v/w) como solvente.

Se obtuvo un contenido de curcumina de 0,062 mg/mg oleorresina, lo cual es equivalente a 1,259 % de curcumina (Cuadro 1). Patil *et al.* (2018) reportaron contenido de curcumina obtenida por soxlhet con etanol a partir de tres variedades de *cúrcuma salem*, *Krishna*, *Rajapuri* con valores de 3,8, 2,5 y 4,2 % respectivamente.

**Cuadro 1.** Caracterización ORC.

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
Rendimiento (%)	20,303
Fenoles (mg EqAG/100 g muestra)	2583,762 $\pm$ 40,488
ABTS ( $\mu$ mol TE/g muestra)	2375,159 $\pm$ 52,716
Contenido de curcumina (mg curcumina/mg oleorresina)	0,062 $\pm$ 0,001

### **Solubilidad de curcumina comercial y oleorresina**

En cuanto a la solubilidad, se encontró que la curcumina comercial es más soluble en aceite de oliva, seguido de soya y girasol con valores de 2,911 $\pm$ 0,047, 1,940 $\pm$ 0,165 y 1,519 $\pm$ 0,024 mg de curcumina/mL de aceite (mg/mL). Por lo anterior, se seleccionó el aceite de oliva como fase oleosa para las emulsiones. Para ORC, la solubilidad fue 2,289 $\pm$ 0,004 mg de oleorresina/mL aceite (0,142 $\pm$ 0,003 mg curcumina /mL aceite).

Los resultados obtenidos mostraron que la solubilidad es alta en relación a la solubilidad de curcumina pura en agua reportada en otros estudios (456  $\mu$ g/L) (Jakubek *et al.*, 2019). Además, la solubilidad obtenida en aceite de oliva tanto para CC como para el ORC es mayor a la reportado por Araiza-Calahorra *et al.* (2018) para curcumina aislada con un valor de 0,080 mg/mL (60 °C, 10 min). Lo anterior se debe al coeficiente de partición relativamente alto de la



curcumina-P entre 2,3 y 2,6 (medida de la preferencia de la fase lipídica sobre la fase acuosa en un sistema disolvente bifásico, inmiscible) (Jamwal, 2018).

### Formulaciones y preparación de emulsiones

Las formulaciones obtenidas tanto para ECC como para EORC están compuestas por fase acuosa (FA) (84 %) y fase oleosa (FO) (16 %), la relación entre FA y FO fue de 5,25. La relación entre los surfactantes fue de 2,01 teniendo en cuenta sus balances hidrofóbicos (HLB): Tween 80= 15 y Span 80= 4,3. También se encontró que FO fue menor al 33 %, el uso de surfactantes fue menor al 32 % y el agua fue mayor al 50 %.

### Pruebas de caracterización de emulsiones

El mayor %CR de curcumina fue para ECC con un valor de 81,991 % con respecto a EORC (67,136 %). Esto se podría explicar debido a la influencia del pH (Cuadro 2), porque EORC tiene un pH inicial de 6,943 cercano a la neutralidad y esto puede ocasionar cambios en la estructura y estabilidad fisicoquímica de la curcumina (Kharat *et al.*, 2017); los mismos autores mencionan que la curcumina es relativamente estable en emulsiones acidas con %CR entre 85 y 95 %, pero inestables en emulsiones alcalinas neutras con porcentajes de retención entre 53 y 62 % en su estudio durante 30 días. Por su parte, Aditya *et al.* (2015) reportaron que la estabilidad de la curcumina en emulsiones fue 91 y 87 % después de 15 días de almacenamiento a 4 y 23 °C, respectivamente, con un pH de 2,85±0,3, por tanto su estabilidad es mayor. Además, los resultados de color (coordenada b\*), demuestran que las coordenadas presentaron cambios entre el día 1 y 15, especialmente EORC (Figura 1, cuadro 2) con un pH cercano a la neutralidad (6,707±0,131), lo que indicaría que se produjo una leve degradación química de la curcumina (Martínez-Guerra *et al.*, 2019). Kharat *et al.* (2018) analizaron color (coordenada b\*) en emulsiones O/W en función de surfactantes como caseinato de sodio, Tween 80, quillaja saponina y soluciones de goma arábiga, bajo condiciones de pH neutro (pH= 7,55 °C, 15 días), donde se nota una disminución del color entre los días 1 y 15 similar al comportamiento que se ha obtenido en el presente estudio.

**Cuadro 2.** Resultados para EORC y ECC, día 1 y 15.

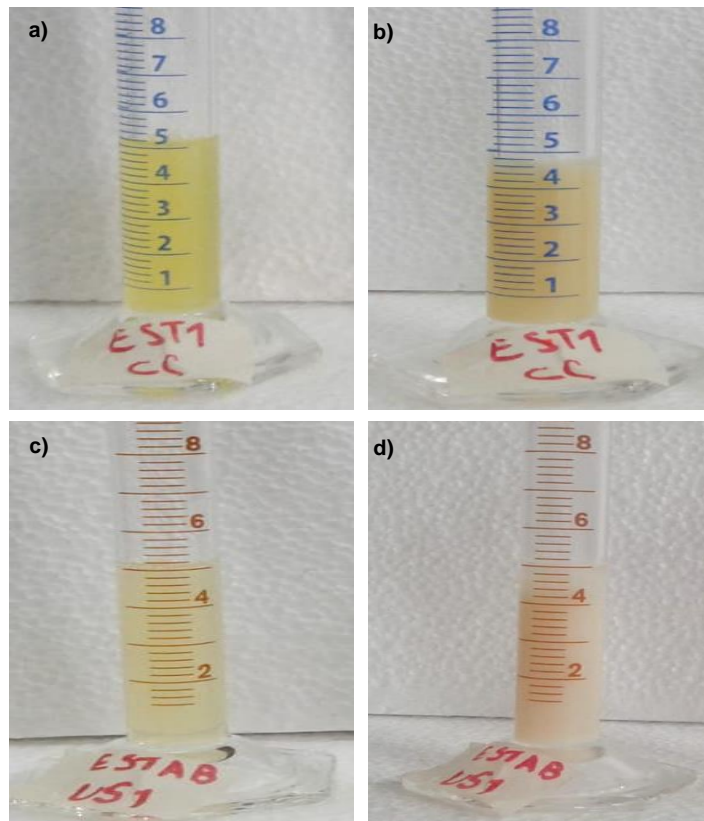
Emulsión (día)	pH	Color (b*)
EORC (1)	6,943±0,287 <sup>a</sup>	13,990±0,593 <sup>b</sup>
EORC (15)	6,740±0,114 <sup>c</sup>	13,690±0,470 <sup>d</sup>
ECC (1)	6,470±0,061 <sup>e</sup>	15,790±0,799 <sup>f</sup>
ECC (15)	6,457±0,035 <sup>g</sup>	15,010±0,179 <sup>h</sup>

\*letras diferentes evidencian diferencias significativas respecto al tipo de emulsión (EORC y ECC) y al tiempo (día 1 y 15).

Los resultados de %CR se relacionan con los resultados obtenidos en TPC, para ECC pasó de 37,552 en el día 1 a 36,128 mg EAG/L en el día 15, estos valores son ligeramente superiores en comparación con EORC los cuales variaron de 35,830 a 35,466 mg EAG/L en el mismo tiempo. Además, los análisis ANOVA mostraron diferencias significativas entre el tipo de emulsión y entre los días 1 y 15.

Teniendo en cuenta los resultados TPC obtenidos en las emulsiones (EORC y ECC) son inferiores a los obtenidos para ORC antes de su encapsulación, es decir que es posible que las propiedades antioxidantes se hayan visto afectadas por las condiciones de emulsificación (ultrasonido y homogeneización) (Liu *et al.*, 2019). Sin embargo, más del 60 % de curcumina permaneció estable en ambos tipos de emulsión y según Kumar *et al.* (2019), las fuerzas de cavitación creadas por el ultrasonido hacen que se produzca nanoemulsiones estables.

Además, los resultados de estabilidad física en las emulsiones ECC y EORC en el periodo de estudio (15 días) permiten evidenciar que no se presentaron cambios importantes en cuanto a consistencia, debido a que las emulsiones se mantuvieron físicamente en fase homogénea (Figura 1), de color amarillo claro, sin formación de cremas, ni separación de fases después del almacenamiento, lo que demuestra que la curcumina en las emulsiones fue estable, esto se puede atribuir a que las nanoemulsiones a menudo tienen mejor estabilidad a la separación gravitacional, floculación y coalescencia que las emulsiones convencionales (Aswathanarayan & Vittal, 2019).



**Figura 1.** Estabilidad en emulsiones.  
**a)** ECC día 1. **b)** ECC día 16. **c)** EORC día 1. **d)** EORC día 16

De acuerdo con la ANOVA se encontró que los resultados de %IC para ECC a 4 y 25 °C no presentaron diferencias significativas ante los cambios de temperatura, contrario a EORC a 4 y 25 °C (Cuadro 3), pero en relación con el tiempo ambas emulsiones presentaron diferencias significativas.

**Cuadro 3.** Resultados índices de cremado para EORC como ECC.

	EORC (4 °C)	EORC (25 °C)	ECC (4 °C)	ECC (25 °C)
<b>1</b>	100± 0,000 <sup>aC</sup>	100± 0,000 <sup>bBC</sup>	100± 0,000 <sup>abC</sup>	100± 0,000 <sup>abC</sup>
<b>5</b>	99,167± 0,722 <sup>aBC</sup>	100± 0,000 <sup>bBC</sup>	100± 0,000 <sup>abBC</sup>	100± 0,000 <sup>abBC</sup>
<b>10</b>	98,542± 0,361 <sup>aB</sup>	99,625± 0,722 <sup>bB</sup>	99,583± 0,217 <sup>aBB</sup>	99,292± 0,505 <sup>aBB</sup>
<b>15</b>	97,5± 0,000 <sup>aA</sup>	98,333± 0,361 <sup>bA</sup>	97,917± 0,722 <sup>abA</sup>	97,292± 0,361 <sup>a</sup> <sup>bA</sup>

\*letras minúsculas indican diferencias significativas respecto a los tratamientos EORC y ECC a 4 °C y 25 °C.

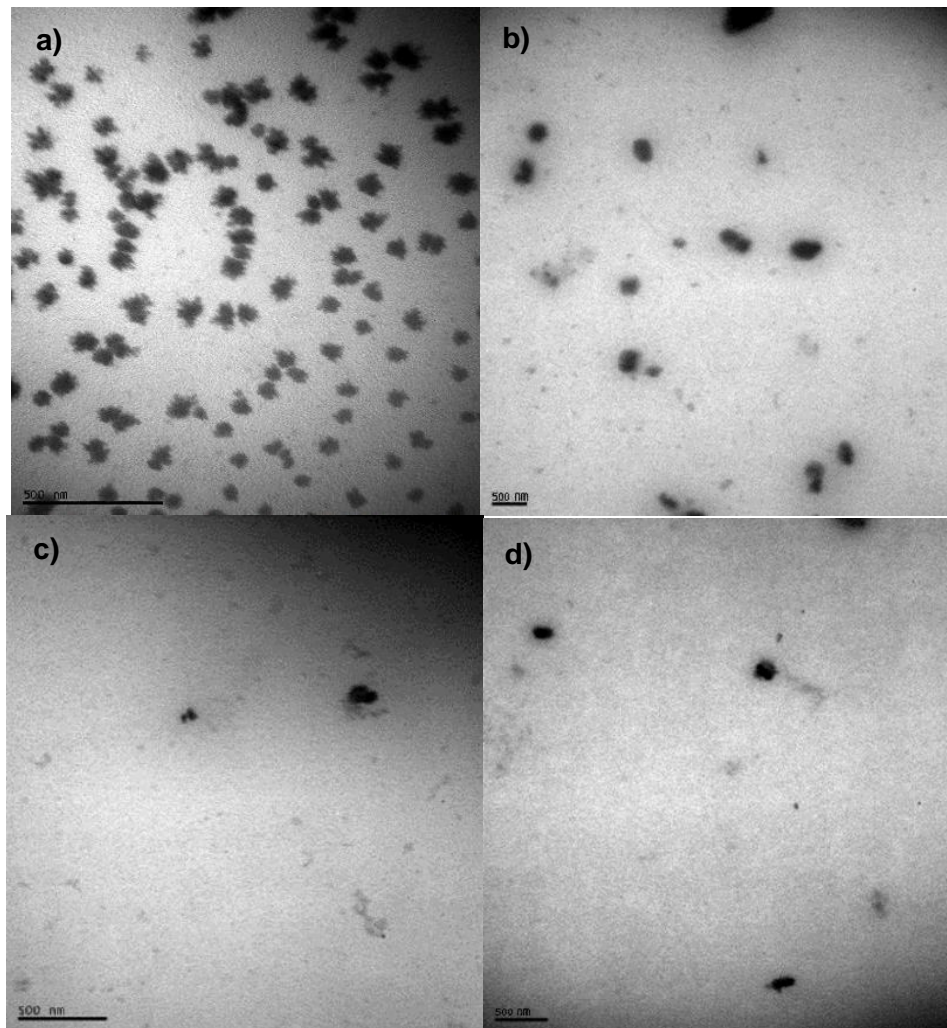
\*Letras mayúsculas indican diferencias significativas respecto al tiempo (día 1 y 15).

La estabilidad de EORC y ECC fue mayor con relación a otros estudios. Por ejemplo, Aditya *et al.* (2015) desarrollaron emulsiones a base de aceite de soya, aceite de oliva, aceite de girasol y triglicéridos de cadena media (MCT) y encontraron que el índice de cremado (%IC) es mayor para las emulsiones a base de aceite de oliva y soja ya que alrededor de 90 % permaneció estable.

### **Tamaño de partícula de las emulsiones y morfología**

Teniendo en cuenta los resultados y el ANOVA, existen diferencias entre el TP obtenido tanto para los tipos de emulsión como su cambio en el tiempo (Cuadro 4). En el caso de ECC el TP aumentó, el cual puede estar relacionado con la maduración de Ostwald (Liu *et al.*, 2019), sin embargo, es importante mencionar que en este estudio se encontraron nanoemulsiones (10-100 nm), las cuales tienen una estabilidad mucho mejor a la agregación en comparación con la de las emulsiones convencionales debido a su tamaño de gota muy pequeño (Liu *et al.*, 2019). En otros estudios, Lu *et al.*, (2018) obtuvieron una nanoemulsión almacenada por 6 meses a 4 y 25 °C, con un TP de  $12,4 \pm 0,5$  nm y  $16,7 \pm 0,6$  nm respectivamente. Lo anterior es comparable con los resultados obtenidos para ECC con TP entre 7,083 y 13,847 nm entre el día 1 y día 15 respectivamente.

En cuanto a la morfología en emulsiones (Figura 2), las nanoemulsiones presentan forma esférica con glóbulos relativamente uniformes, sin formación de agregados. Sin embargo, EORC día 1 presenta forma esférica pero con ciertos bordes irregulares como estructuras dentadas en su superficie similar a los resultados obtenidos por Ghayour *et al.* (2019) quienes nanoencapsularon curcumina y quercetina en nanoestructuras micelares o las nanopartículas de caseína.



**Figura 2.** Tamaño de partícula en emulsiones.

a) EORC día 1 b) EORC día 15 c) ECC día 1 d) ECC día 15 obtenidas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) (escala: 500 nm).

### Pruebas de evaluación en bebida acuosa

Según los análisis estadísticos ANOVA, se observa que hay diferencias significativas entre los tipos de bebida y el tiempo de análisis. La bebida con EORC presentó mayor %CR que la bebida con ECC con valores de 80,014 y 20,048 % respectivamente (Cuadro 4). EORC presentó resultados superiores a los reportados por Aditya *et al.* (2015), quienes obtuvieron una estabilidad de la curcumina en la bebida alrededor del 40 %. Sin embargo, para la bebida con ECC se puede afirmar que hubo una degradación de curcumina en el tiempo, lo cual va acorde con resultados anteriores que han mostrado una degradación hidrolítica de la curcumina en la fase acuosa bajo condiciones de pH ácidos (Cuadro 4) (Wang *et al.*, 2019). Además, de la posible degradación de curcumina por cristalización en medio ácido (Kharat *et al.*, 2017), acorde con la disminución de color (Cuadro 4, Figura 3).

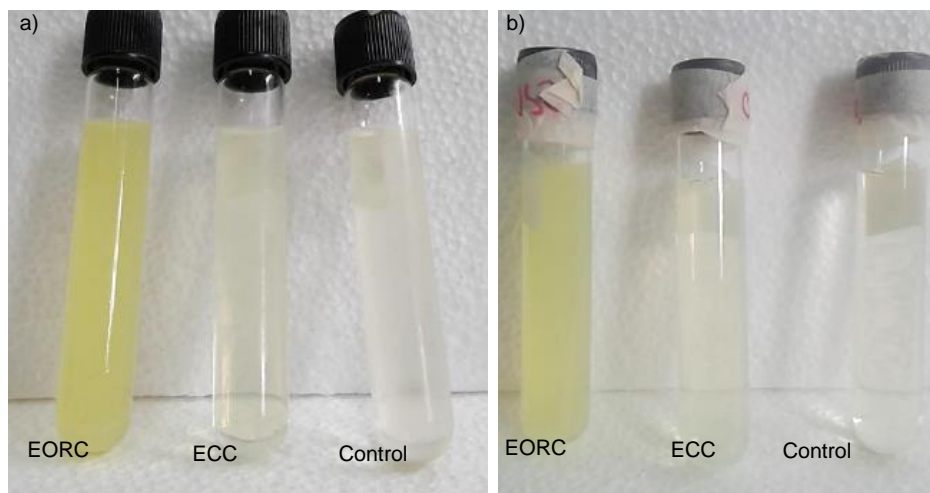
**Cuadro 4.** Resultados bebida a base de EORC como ECC y bebida control (día 1 y 15).

Prueba	EORC		ECC		Tartrazina (Control)	
	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15
%CR	-	80,014 <sup>a</sup>	-	20,048 <sup>b</sup>	-	-

Turbidez (cm <sup>-1</sup> )	0,379±0,001 <sup>a</sup>	0,456±0,001 <sup>a</sup>	0,075±0,002 <sup>b</sup>	0,127±0,001 <sup>b</sup>	0,020±0,001 <sup>b</sup>	0,021±0,001 <sup>b</sup>
TP(nm)	22,355 <sup>a</sup>	5,732 <sup>b</sup>	41,028 <sup>c</sup>	5,309 <sup>d</sup>	-	-
pH	3,033±0,006 <sup>a</sup>	3,043±0,006 <sup>a</sup>	2,943±0,006 <sup>b</sup>	2,920±0,000 <sup>b</sup>	2,903±0,006 <sup>b</sup>	2,883±0,006 <sup>b</sup>
Color (b*)	13,373±0,650 <sup>a</sup>	12,987±0,506 <sup>c</sup>	6,113±0,250 <sup>b</sup>	5,850±0,229 <sup>d</sup>	4,517±0,257 <sup>c</sup>	4,133±0,121 <sup>e</sup>

\*letras diferentes evidencian diferencias significativas respecto al tipo de bebida y al tiempo (día 1 y 15).

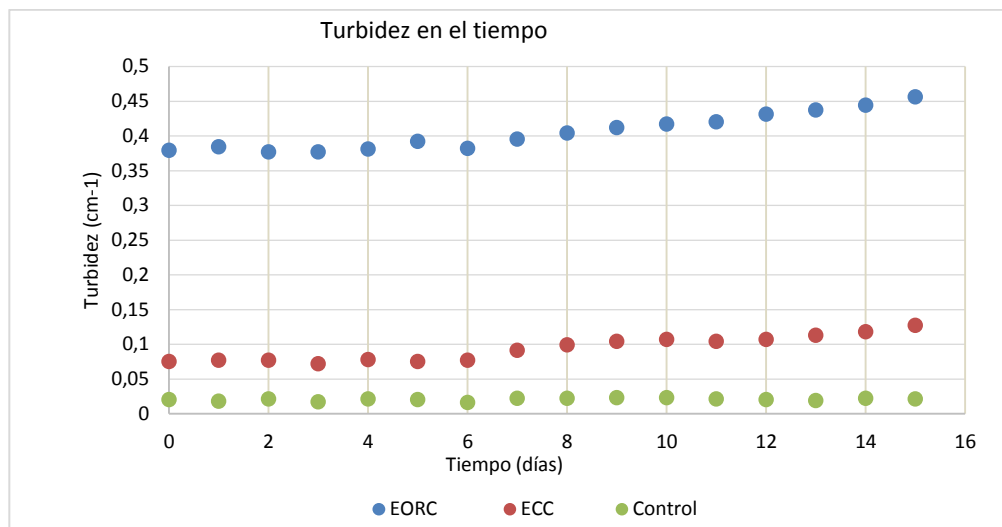
\*letras iguales no evidencian diferencias significativas respecto al tipo de bebida y al tiempo (día 1 y 15).



**Figura 3.** Estabilidad física de bebidas en el tiempo (EORC y ECC) y al tiempo (día 1 y 15).  
**a)** Bebidas EORC, ECC y tartrazina (Control) día 1 **b)** bebidas EORC, ECC y tartrazina (Control) día 15.

En otros estudios, Kharat *et al.* (2017) analizaron curcumina en bebidas acuosas y encontraron que la muestra comercial de curcumina ( $\geq 65\%$ ), que en realidad consistía en una mezcla de curcuminoides, parecía tener una mejor estabilidad a pH 7 que la muestra de curcumina pura. Este resultado es acorde con estudios previos realizados por Gordon *et al.* (2015)(Gordon *et al.*, 2015)(Gordon *et al.*, 2015), quienes mencionan que la lenta degradación del extracto de cúrcuma en relación con la curcumina pura sugirió diferentes tasas de degradación para los curcuminoides en la mezcla de extracto en comparación con los compuestos puros, lo cual confiere mayor estabilidad de la curcumina en extracto ante el pH fisiológico, esto va de acuerdo con lo encontrado en el presente estudio, teniendo en cuenta que se usó oleorresina de *Cúrcuma longa*, la cual contiene carbohidratos, curcuminoides, aceites esenciales, ácidos grasos, entre otros, en comparación a CC, la cual está compuesta por curcumina  $\geq 75\%$ , bisdemetoxicurcumina  $\leq 5\%$  y demetoxicurcumina  $\leq 20\%$ , mediante análisis HPLC (Merck, 2019).

Por otra parte, analizando los resultados de turbidez como una medida de estabilidad física, muestran que no existen diferencias significativas entre la bebida con ECC y tartrazina, pero si hay diferencias con la bebida con EORC y en el tiempo para los tres tipos de bebida (Cuadro 4), siendo más turbia la bebida con EORC. En todos los casos se presenta un aumento de la turbidez con el tiempo (Figura 4). Es decir que la curcumina es estable químicamente pero susceptible a formación de cristales y por tanto aumento en la turbidez (Kharat *et al.*, 2017). Además, la bebida con EORC posee diferentes curcuminoides ya que no se realizó purificación y por tanto estos tienen diferentes estabilidades según el pH, lo cual es importante entender y analizar con mayor profundidad para tomar decisiones durante el proceso de desarrollo de sistemas de entrega efectivos para este componente bioactivo.

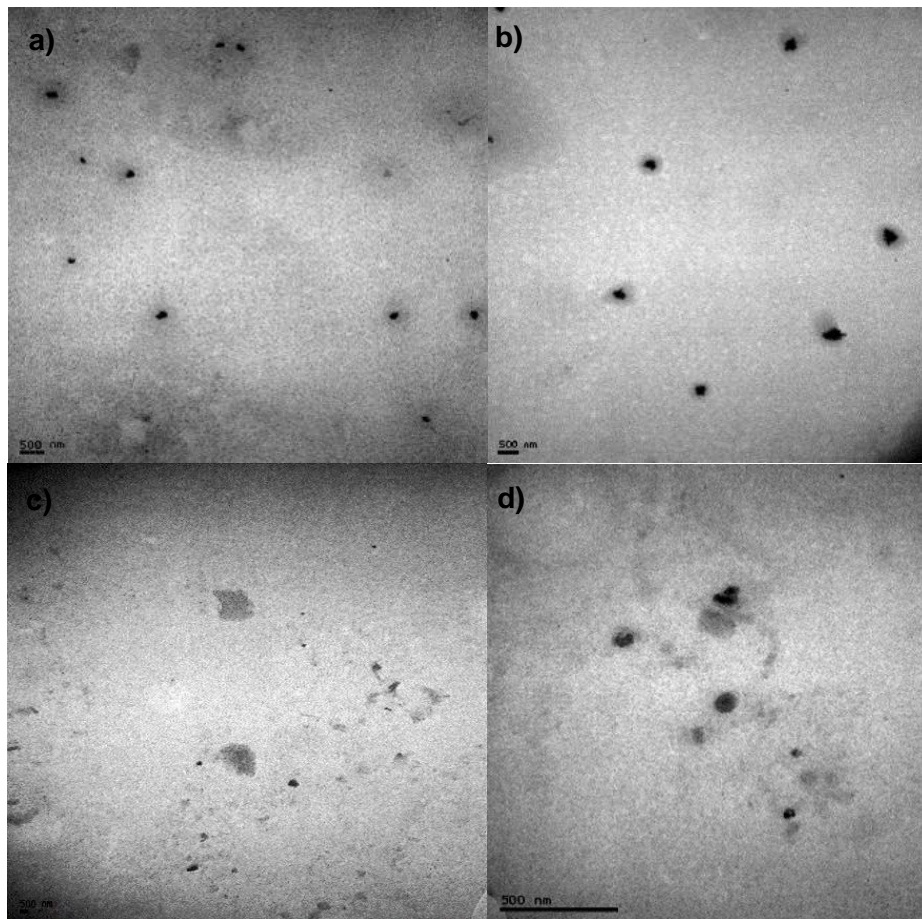


**Figura 4.** Turbidez en el tiempo para los tres tipos de bebida.

### **Tamaño de partícula y morfología de curcumina en bebida (TEM)**

En cuanto a los resultados de TP obtenidos para las bebidas en estudio (Cuadro 4), se puede encontrar que a menor TP, la turbidez aumenta y, en el caso de la bebida con EORC, el TP inicial es la mitad en comparación a la bebida con ECC por tanto su turbidez es mayor, debido a que estas partículas dispersan la luz de manera más efectiva (Kharat *et al.*, 2017). Para la bebida con EORC se obtiene una disminución del TP de 22,355 nm a 5,732 nm y para la bebida con ECC de 41,028 nm a 5,309 nm.

En cuanto a la morfología en bebidas, se evidencia mediante imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Figura 5) que las partículas presentan forma esférica con glóbulos relativamente uniformes, sin formación de agregados, con bordes lisos tal como se observó para las emulsiones, pero en este caso las partículas son dispersas en cuanto a cantidad por área.



**Figura 5.** Tamaño de partícula en bebidas a) EORC día 1 b) EORC día 15 c) ECC día 1 d) ECC día 15 obtenidas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) (escala: 500 nm).

## CONCLUSIONES

La solubilidad de curcumina comercial fue mayor en el aceite de oliva, seguido de soya y girasol con valores de  $2,911 \pm 0,047$ ,  $1,940 \pm 0,165$  y  $1,519 \pm 0,024$  mg de curcumina/mL de aceite. La solubilidad para oleorresina fue de  $0,142 \pm 0,003$  mg curcumina /mL aceite.

Se obtuvieron nanoemulsiones O/W a partir de ORC y CC estables durante 15 días con TP de 10,201 y 13,847 nm y %CR de 67,136 y 81,991 % respectivamente. La actividad antioxidante para EORC y ECC el día 1 fue de 35,830 y 37,552 mg EAG/L de emulsión respectivamente, lo cual tuvo una leve disminución en el día 15 con valores de 35,466 y 36,128 mg EAG/L de emulsión para EORC y ECC respectivamente. Por lo tanto, ECC presentó mejores características que EORC.

La bebida con EORC presentó mejor resultado principalmente con relación al %CR con un valor de 80,014 % respecto a la bebida con ECC y una diferencia de color con coordenadas \*b de  $13,373 \pm 0,650$  y  $12,987 \pm 0,506$  entre los días 1 y 15. Sin embargo, la bebida EORC tuvo mayor turbidez posiblemente debido al bajo TP inicial con un valor de 22,355 nm aproximadamente la mitad en comparación a la bebida con ECC.

Se concluye que la emulsión a base de EORC tiene potencial de aplicación como colorante en bebidas acuosas conservando su capacidad antioxidante.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia por la financiación del proyecto HERMES (código 42119), al Laboratorio de Microscopía Electrónica & al Laboratorio de Tecnología de Leches

## REFERENCIAS

- ADITYA, N.P.; ADITYA, S.; YANG, H.J.; KIM, H.W.; PARK, S.O.; LEE, J.; KO, S. Curcumin and Catechin Co-Loaded Water-in-Oil-in-Water Emulsion and Its Beverage Application. *Journal of Functional Foods*, v. 15, 2015, p. 35–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.013>
- AHMED, K.; LI, Y.; MCCLEMENTS, D.J.; XIAO, H. Nanoemulsion- and Emulsion-Based Delivery Systems for Curcumin: Encapsulation and Release Properties. *Food Chemistry*, v. 132, n. 2, 2012, p. 799–807.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.039>
- ARAIZA-CALAHORRA, A.; AKHTAR, M.; SARKAR, A. Recent Advances in Emulsion-Based Delivery Approaches for Curcumin: From Encapsulation to Bioaccessibility. *Trends in Food Science and Technology*, v. 71, 2018, p. 155–169.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.009>
- ASWATHANARAYAN, J.B.; VITTAL, R.R. Nanoemulsions and Their Potential Applications in Food Industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 3, 2019, p. 1–21.  
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00095>
- AZMI, N.A.N.; ELGHARBAWY, A.A.M.; MOTLAGH, S.R.; SAMSUDIN, N.; SALLEH, H.M. Nanoemulsions: Factory for Food, Pharmaceutical and Cosmetics. *Processes*, v. 7, n. 9 2019, p. 617.  
<https://doi.org/10.3390/pr7090617>
- BAGHERI, H.; GHASEMI, F.; BARRETO, G.E.; RAFIEE, R.; SATHYAPALAN, T.; SAHEBKAR, A. Effects of Curcumin on Mitochondria in Neurodegenerative Diseases. *BioFactors*, v. 46, n. 1, 2020, p. 5–20.  
<https://doi.org/10.1002/biof.1566>
- BHATT, D.; VYAS, K.; SINGH, S.; JOHN, P.J.; SONI, I. Tartrazine Induced Neurobiochemical Alterations in Rat Brain Sub-Regions. *Food and Chemical Toxicology*, v. 113, 2018, p. 322–327.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.011>
- BONCIU, E.; ROSCULETE, E.; ROSCULETE, C.A. The clastogenic effect of tartrazine, a synthetic yellow dye, in plant meristematic tissues. *Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series*. v. 49, 2019.  
<http://anale.agro-craiova.ro/index.php/aamc/article/view/876>
- DANAFAR, H.; SHARAFI, A.; KHEIRI, S.; MANJILI, H.K. CoDelivery of Sulforaphane and Curcumin with Pegylated Iron Oxide-Gold Core Shell Nanoparticles for Delivery to Breast Cancer Cell Line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 17, n. 2, 2018, p. 480–494.  
<https://doi.org/10.292037/ijpr.2018.2239>
- GHAYOUR, N.; HOSSEINI, S.M.H.; ESKANDARI, M.H.; ESTEGHLAL, S.; NEKOEI, A.R.; HASHEMI-GAHRUIE, H.; TATAR, M.; NAGHIBALHOSSAINI, F. Nanoencapsulation of Quercetin and Curcumin in Casein-Based Delivery Systems. *Food Hydrocolloids*, v. 87, 2019, p. 394–403.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.031>
- GORDON, O.N.; LUIS, P.B.; ASHLEY, R.E.; OSHEROFF, N.; SCHNEIDER, C. Oxidative Transformation of Demethoxy and Bisdemethoxycurcumin: Products, Mechanism of



- Formation, and Poisoning of Human Topoisomerase II $\alpha$ . *Chemical Research in Toxicology*, v. 28, n. 5, 2015, p. 989–996.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00009>
- GRANATO, D.; BARBA, F.J.; KOVAČEVIĆ, D.B.; LORENZO, J.M.; CRUZ, A.G.; PUTNIK, P. Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 11, n.1, 2020, p. 93-118.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- JAKUBEK, M.; KEJÍK, Z.; KAPLÁNEK, R.; HROMÁDKA, R.; ŠANDRIKOVÁ, V.; SÝKORA, D.; ANTONYOVÁ, V.; URBAN, M.; DYTRYCH, P.; MIKULA, I.; MARTÁSEK, P.; KRÁL, V. Strategy for Improved Therapeutic Efficiency of Curcumin in the Treatment of Gastric Cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 118, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109278>
- JAMWAL, R. Bioavailable Curcumin Formulations: A Review of Pharmacokinetic Studies in Healthy Volunteers. *Journal of Integrative Medicine*, v. 16, n. 6, 2018, p. 367–374.  
<https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.07.001>
- KHARAT, M.; DU, Z.; ZHANG, G.; MCCLEMENTS, D.J. 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, 2017, p. 1525–1532.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04815>
- KHARAT, M.; ZHANG, G.; MCCLEMENTS, D.J. Stability of Curcumin in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Emulsifier Type and Concentration on Chemical Degradation. *Food Research International*, v. 111, 2018, p. 178–186.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.021>
- KIM, S.O.; HA, T.V.A.; CHOI, Y.J.; KO, S. Optimization of Homogenization-Evaporation Process for Lycopene Nanoemulsion Production and Its Beverage Applications. *Journal of Food Science*, v. 79, n. 8, 2014, p. 12–14.  
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12472>
- KUMAR, M.; BISHNOI, R.S.; SHUKLA, A.K.; JAIN, C.P. Techniques for Formulation of Nanoemulsion Drug Delivery System: A Review. *Preventive Nutrition and Food Science*, v. 24, n. 3, 2019, p. 225–234.  
<https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.3.225>
- LI, M.; NGADI, M.O.; MA, Y. Optimization of Pulsed Ultrasonic and Microwave-Assisted Extraction for Curcuminoids by Response Surface Methodology and Kinetic Study. *Food Chemistry*, v. 165, 2014, p. 29–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.115>
- LIU, Q.; HUANG, H.; CHEN, H.; LIN, J.; WANG, Q. Food-Grade Nanoemulsions: Preparation, Stability and Application in Encapsulation of Bioactive Compounds. *Molecules*, v. 24, n. 23, 2019, p. 1–37.  
<https://doi.org/10.3390/molecules24234242>
- LU, P.S.; INBARAJ, B.S.; CHEN, B.H. Determination of Oral Bioavailability of Curcuminoid Dispersions and Nanoemulsions Prepared from *Curcuma longa* Linnaeus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 1, 2018, p. 51–63.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.8437>
- MACHADO, A.P.D.F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J.L.; BARBERO, G.F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized Liquid Extraction of Bioactive Compounds from Blackberry (*Rubus Fruticosus* L.) Residues: A Comparison with Conventional Methods. *Food Research International*, v. 77, 2015, p. 675–683.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.042>
- MARTÍNEZ-GUERRA, J.; PALOMAR-PARDAVÉ, M.; ROMERO-ROMO, M.; CORONA-AVENDAÑO, S.; ROJAS-HERNÁNDEZ, A.; RAMÍREZ-SILVA, M.T. New Insights on the Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Media at Different PH: Influence of the

- Experimental Conditions. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 14, n. 6, 2019, p. 5373–5385.  
<https://doi.org/10.20964/2019.06.24>
- MC CLEMENTS, D.J.; JAFARI, S.M. General Aspects of Nanoemulsions and Their Formulation. *Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization*, 2018, p. 3–20.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811838-2.00001-1>
- PATIL, S.; RANVEER, R.C.; DEBAJE, P.P.; KADAM, J.H.; SAHOO, A.K. Ultrasound Assisted Extraction of Curcumin. *Asian J. Dairy & Food Res*, v. 37, n. 3, 2018, p. 250–252.  
<https://doi.org/10.18805/ajdfr.DR-1356>
- PATIL, S.S.; BHASARKAR, S.; RATHOD, V.K. Extraction of Curcuminoids from *Curcuma longa*: Comparative Study between Batch Extraction and Novel Three Phase Partitioning. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, v. 49, n. 4, 2019, p. 407–418.  
<https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1575859>
- SANDEEP, I.S.; DAS, S.; NAYAK, S.; MOHANTY, S. Chemometric Profile of *Curcuma longa* L. Towards Standardization of Factors for High Essential Oil Yield and Quality. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, v. 88, n. 3, 2018, p. 949–957.  
<https://doi.org/10.1007/s40011-016-0831-y>
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, v. 299, 1999, p. 152–178.  
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- SUGUMAR, S.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsion Formation and Characterization by Spontaneous Emulsification: Investigation of Its Antibacterial Effects on *Listeria monocytogenes*. *Asian Journal of Pharmaceutics*, v. 9, n. 1, 2015, p. 23.  
<https://doi.org/10.4103/0973-8398.150033>
- SYED, H.K.; LIEW, BIN; LOH, G.O.K.; PEH, K.K. Stability Indicating HPLC-UV Method for Detection of Curcumin in *Curcuma longa* Extract and Emulsion Formulation. *Food Chemistry*, v. 170, 2015, p. 321–326.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.066>
- VIJAYAN, U.K.; VARAKUMAR, S.; SINGHAL, R.S. A Comparative Account of Extraction of Oleoresin from *Curcuma Aromatica* Salisb by Solvent and Supercritical Carbon Dioxide: Characterization and Bioactivities. *LWT*, v. 116, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108564>
- WAKTE, P.S.; SACHIN, B.S.; PATIL, A.A.; MOHATO, D.M.; BAND, T.H.; SHINDE, D.B. Optimization of Microwave, Ultra-Sonic and Supercritical Carbon Dioxide Assisted Extraction Techniques for Curcumin from *Curcuma longa*. *Separation and Purification Technology*, v. 79, n. 1, 2011, p. 50–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.03.010>
- WANG, L.; LU, N.; ZHAO, L.; QI, C.; ZHANG, W.; DONG, J.; HOU, X. Characterization of Stress Degradation Products of Curcumin and Its Two Derivatives by UPLC–DAD–MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 12, n. 8, 2019, p. 3998–4005.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.02.003>
- WOLFE, K.; Wu, X.; Liu, R. H. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 3, 2003, p. 609–614.  
<https://doi.org/10.1021/jf020782a>