



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA.

**“EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ENCAPSULANTES DE ÁCIDOS
GRASOS POLI-INSATURADOS MICROENCAPSULADOS EN DIFERENTES
MATRICES PROTEÍNICAS”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO**

PRESENTA:

MIRIAM CONTRERAS MARTÍNEZ

DIRIGIDO POR:

DR. CÉSAR PÉREZ ALONSO

M. EN C.Q. ERIK ALPIZAR REYES

TOLUCA, MÉXICO, ABRIL DE 2019.

ÍNDICE GENERAL

1	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN	3
3	ANTECEDENTES.....	5
3.1	AJONJOLÍ (SESAMUM INDICUM L.).....	5
3.2	CHÍA (SALVIA HISPÁNICA).....	6
3.3	ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES (AGE).....	7
3.4	ENCAPSULACIÓN	8
3.5	MICROENCAPSULACIÓN.....	9
3.6	TÉCNICAS DE ENCAPSULACIÓN	10
3.6.1	Recubrimiento por lecho fluidizado	10
3.6.2	Aspersión por enfriamiento o congelamiento.....	11
3.6.3	Coacervación	12
3.6.4	Gelificación iónica.....	13
3.6.5	Coalescencia.....	14
3.6.6	Polimerización interfacial.....	14
3.6.7	Emulsificación.....	15
3.6.8	Atrapamiento en liposomas	15
3.6.9	Extrusión.....	16
3.6.10	Co-cristalización.....	17
3.6.11	Inclusión molecular	18
3.6.12	Tecnología de fluido supercrítico	18
3.6.13	Incompatibilidad polimérica.....	19
3.6.14	Liofilización.....	19
3.6.15	Secado por aspersión	20
3.7	MATERIALES EMPLEADOS COMO AGENTES ENCAPSULANTES	22
3.7.1	Carbohidratos	23
3.7.2	Maltodextrinas	24
3.7.3	Gomas.....	24
3.7.4	Lípidos.....	25

3.7.5	Proteínas	25
4	JUSTIFICACIÓN.....	27
5	OBJETIVOS.....	28
5.1	OBJETIVO GENERAL.....	28
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
6	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	29
7	METODOLOGÍA	30
7.1	MATERIALES	30
7.2	MÉTODOS	30
7.2.1	Extracción de aceite de chía y ajonjolí	30
7.2.2	Formulación de emulsiones aceite en agua (o/w).....	30
7.2.3	Potencial zeta y tamaño de gota promedio	31
7.2.4	Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersion	32
7.2.5	Contenido de humedad	32
7.2.6	Ángulo de reposo.....	32
7.2.7	Densidad empacada y aparente.....	32
7.2.8	Prueba de disolución.....	33
7.2.9	Índice de compresibilidad.....	33
7.2.10	Radio de hausner	33
7.2.11	Dispersabilidad	34
7.2.12	Distribución de tamaño de partícula.....	34
7.2.13	Determinación de aceite superficial	34
7.2.14	Determinación de aceite total	35
7.2.15	Eficiencia de encapsulación.....	35
7.2.16	Oxidación lipídica por valor de peróxido	35
7.2.17	Espectroscopia infrarroja de transformada de fourier (FT-IR).....	36
7.2.18	Difracción de rayos x.....	37
7.2.19	Análisis de microscopia electrónica de barrido	37
8	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
8.1	POTENCIAL ZETA	38
8.2	CONTENIDO DE HUMEDAD	38
8.3	ÁNGULO DE REPOSO	39

8.4	DENSIDAD EMPACADA Y APARENTE.....	40
8.5	PRUEBA DE DISOLUCIÓN.....	41
8.6	ÍNDICE DE COMPRESIBILIDAD.....	42
8.7	RADIO DE HAUSNER.....	43
8.8	DISPERSABILIDAD.....	44
8.9	DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA.....	44
8.10	EFICIENCIA DE ENCAPSULACIÓN.....	46
8.11	OXIDACIÓN LIPÍDICA POR VALOR DE PERÓXIDO.....	47
8.12	ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DE TRANSFORMADA DE FOURIER...	51
8.13	DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	54
8.14	ANÁLISIS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	56
9	CONCLUSIONES.....	59
10	BIBLIOGRAFÍA.....	61
11	ANEXOS.....	71
11.1	ANEXO 1. PERFILES DE OXIDACIÓN.....	71
11.2	ANEXO 2. MICROGRAFÍAS DE LAS MICROCÁPSULAS CON PSL Y PC.	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de los perfiles de oxidación a 25 °C.....	71
Tabla 2. Resultados de los perfiles de oxidación a 35 °C.....	71
Tabla 3. Resultados de los perfiles de oxidación a 40 °C.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Representación esquemática del equipo de secado por aspersión	21
Fig. 2 Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas con proteína de suero de leche y proteína de chícharo.	45
Fig. 3 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 25 °C.	49
Fig. 4 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 35 °C.	50
Fig. 5 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 40 °C.	51
Fig. 6 Espectro FT-IR para el sistema con PSL	53
Fig. 7 Espectro FT-IR para el sistema con PC	54
Fig. 8 Difractograma de rayos equis de las microcápsulas con proteína de suero de leche.	55
Fig. 9 Difractograma de rayos equis de las microcápsulas con proteína de chícharo	56
Fig. 10 Micrografías de la topología superficial de las microcápsulas con PSL	57
Fig. 11 Micrografías de la topología superficial de las microcápsulas con PC	58
Fig. 12 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm	72
Fig. 13 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm	72
Fig. 14 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 µm	73
Fig. 15 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm	73
Fig. 16 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm	73
Fig. 17 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 µm	73
Fig. 18 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 µm	74

Fig. 19	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 μm	74
Fig. 20	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 5 μm	74
Fig. 21	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	74
Fig. 22	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	75
Fig. 23	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	75
Fig. 24	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	75
Fig. 25	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	75
Fig. 26	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm	76
Fig. 27	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm	76
Fig. 28	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm	76
Fig. 29	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 5 μm	76
Fig. 30	Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm	77

1 RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue establecer una metodología para desarrollar sistemas microencapsulantes de mezclas de ácidos grasos poli-insaturados (Omega 3 y Omega-6) empleando como agentes encapsulantes matrices de origen animal (proteína de suero de leche) y de origen vegetal (proteína de chícharo), evaluando su funcionalidad como posibles agentes encapsulantes.

La primera parte del trabajo consistió en la obtención de dos tipos de emulsiones del tipo aceite en agua utilizando proteína de suero de leche (PSL) y proteína de chícharo (PC) como agente emulsionante, y una mezcla de aceites esenciales de chía y ajonjolí como material encapsulante con una fracción volumétrica dispersa ($\phi_{O/W}$) de 0.066, con una relación de material de pared respecto al material encapsulado (Wa:Co) de 2:1 teniendo un contenido de sólidos totales de 20%.

Se obtuvieron microcápsulas a partir de las emulsiones deshidratadas mediante la técnica de secado por aspersión. Estas microcápsulas fueron objeto de análisis de propiedades de flujo, se determinó el contenido de humedad (obteniendo 3.64% para las microcápsulas con PSL y 5.14% para las microcápsulas con PC), ángulo de reposo (con un valor de 41.75° para los polvos con PSL y 50.07° para los polvos con PC), densidad empacada (registrando 0.322 g/mL para la formulación con PSL y 0.333 g/mL para la formulación con PC), densidad aparente (obteniendo un resultado de 0.268 g/mL para las microcápsulas con PSL y 0.278 g/mL para las microcápsulas con PC), radio de Hausner (con un valor de 1.2 en ambas formulaciones) y compresibilidad de Carr (obteniendo un valor de 16.66% en ambos casos); encontrando resultados homólogos a excepción de un mayor contenido de humedad y ángulo de reposo en las microcápsulas con PC.

Se evaluaron las propiedades encapsulantes de las microcápsulas por medio de la eficiencia de encapsulamiento y su estabilidad oxidativa. Los resultados de la formación de peróxidos destacaron el hecho de que ambos polímeros son aptos para la protección de los aceites lábiles ante factores ambientales, retardando la oxidación de la mezcla de aceites y prolongando la

vida útil de los microencapsulados de manera análoga a través del tiempo (seis semanas). Sin embargo, la formulación compuesta con PSL tiene una mayor capacidad para retener la mezcla de aceites en el núcleo esto en base a una eficiencia de encapsulamiento mayor (86.85%) respecto a la eficiencia de encapsulamiento de la formulación compuesta con PC (64.12%).

Finalmente, se obtuvieron imágenes de la estructura externa de las microcápsulas de ambos sistemas, por medio de un análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés). Las microcápsulas con PSL tuvieron una morfología esférica y estructurada, mientras que las microcápsulas con PC fueron semiesféricas amorfas. A pesar de las características anteriormente descritas, se obtuvieron sistemas con microcápsulas semejantes, ya que no presentaron ruptura o aglomeración, lo cual ayudó a retardar fenómenos de difusión al interior y al exterior de las microcápsulas.

2 INTRODUCCIÓN

La alimentación ha sido una importante fuerza en la evolución humana. Desde los inicios de la humanidad los ácidos grasos han sido parte de nuestra dieta; en estos tiempos los humanos incorporaban, a través de la dieta, cantidades iguales de las dos principales familias de ácidos grasos (omega-3 y omega-6).

Estas dos familias de ácidos grasos se consideran como ácidos grasos esenciales (AGE), porque el organismo los requiere para su normal funcionamiento y no los pueden sintetizar endógenamente, además constituyen, sin lugar a dudas, los componentes estructurales y funcionales de las membranas de todas las células, especialmente para el correcto funcionamiento del sistema nervioso central y del sistema cardiovascular.

Debido a su importancia para la salud humana, el interés mundial en estas sustancias de origen natural está en franco crecimiento. Sin embargo, estudios de investigación han demostrado que el problema al que se enfrentan este tipo de moléculas es que son inactivadas por las condiciones del medio al cual están expuestas o el tiempo de su efectividad se reduce.

Es por ello que la industria de los alimentos ha buscado diferentes procesos que una vez empleados permitan conservar las propiedades funcionales de los ácidos grasos, y fue así que se descubrió la tecnología de la microencapsulación.

La microencapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, vitaminas, colorantes, oleorresinas o aceites) pueden ser cubiertas de manera individual para protegerlas del ambiente y de reacciones deteriorativas debido a la luz, temperatura u oxígeno. Para que el proceso de microencapsulación sea llevado a cabo, es necesario elegir un material de pared apto para uso alimenticio y actualmente los lípidos y proteínas juegan un papel importante en dicho ramo.

Además, el proceso de la microencapsulación ha ido muy de la mano del método del secado por aspersión, ya que resulta ventajoso pues es simple, de bajo costo, reproducible y fácil de escalar. También es útil debido a sus cortos tiempos de secado y con él se producen micropartículas de polvo propiedades que simplifican el transporte, la manipulación y el almacenamiento, y garantiza la calidad microbiológica.

En el marco de referencia anteriormente descrito, en este estudio se establece una metodología para desarrollar sistemas microencapsulantes de mezclas de ácidos grasos poli-insaturados (Omega 3 y Omega-6) empleando como agentes encapsulantes matrices proteínicas provenientes del suero de leche y chícharo, evaluando su funcionalidad como posibles agentes encapsulantes.

3 ANTECEDENTES

3.1 AJONJOLÍ (*Sesamum indicum* L.)

El ajonjolí es una planta herbácea que pertenece a la familia de las *Pedaliáceas* que alcanza alturas de hasta 1.5 metros. Las semillas de ajonjolí son cultivadas en México en diferentes condiciones de suelo. El fruto de la planta son unas cápsulas algodonosas que contienen varias semillas aplanadas de 2 a 5 mm de longitud, las cuales son normalmente color marrón (Fuentes-Ortega *et al.*, 2017a).

El ajonjolí es un importante cultivo de semillas oleaginosas. La mayoría de las semillas se utilizan para la extracción de aceite y el resto se utilizan para ingredientes alimentarios. Las semillas de ajonjolí no solo se usan como materia prima para extraer aceite de cocina, sino también como semillas enteras o tostadas en confitería y pan. Además de usarse para cocinar, las semillas se usan a menudo en las industrias nutricional, industrial y farmacéutica (Onsaard *et al.*, 2018).

El aceite de ajonjolí se utiliza con fines culinarios en países asiáticos y europeos por el sabor que atribuye a los alimentos, además por su alto valor nutricional y terapéutico es utilizado como antiinflamatorio y presenta actividad anti-mutagénica. Además, la semilla de ajonjolí no contiene colesterol, posee alrededor de un 25% de proteínas, además de calcio, hierro, fibra dietética. El perfil de ácidos grasos presente en el aceite de ajonjolí está constituido principalmente por ácido α -linoleico (42-54%), ácido oleico y palmítico (9%) esteárico (4%) (Xu-Yan *et al.*, 2012).

Este aceite tiene un antioxidante llamado sésamo. Contiene una sustancia fenólica, el sesamol que es un potente antioxidante natural el que junto a las pequeñas proporciones de tocoferoles que contiene, hacen que el aceite sea resistente a la rancidez oxidativa más que los otros aceites vegetales comestibles (Cortez & Sánchez, 2017).

El aceite de ajonjolí contiene más del 80% de ácidos grasos insaturados y menos del 20% de ácidos grasos saturados. Ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) (~ 42.0%) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) (~ 40%) también se encuentran en el aceite de ajonjolí.

El alto contenido de MUFAs y PUFAs en aceite de ajonjolí aumenta la calidad del aceite para consumo humano, porque la alta proporción de ácidos grasos insaturados se relaciona con una fuente de ácidos grasos esenciales, con ácido linoleico importante para la estructura de la membrana celular y transporte de colesterol en la sangre. Las semillas son ricas en importantes compuestos biológicamente activos, como la vitamina E y las ligninas (sesamina y sesamolina), que desempeñan un papel importante en la salud (Onsaard *et al.*, 2018).

3.2 CHÍA (SALVIA HISPÁNICA)

La chía es una planta originaria de la región comprendida entre México y Guatemala que fue cultivada desde la antigüedad por los pueblos mesoamericanos. Es una hierba anual, de hasta 1 m de altura; presenta hojas opuestas, las flores son hermafroditas y su semilla es rica en mucílago, fécula y aceite; tiene unos 2 mm de largo por 1,5 mm de ancho, es ovalada y lustrosa, de color pardo grisáceo a rojizo (Goitia & Amurrio, 2016; Ayerza, 1995).

El término chía se refiere a un pequeño grupo de plantas anuales pertenecientes a la familia Lamiaceae, nativas del suroeste de California, Texas, México y América Central.

Respecto a su composición, la semilla de chía contiene 18-30% de proteínas y 32-40% de aceite con un alto contenido de ácidos grasos insaturados. Un aspecto relevante es que se ubica como el aceite comestible con mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (aproximadamente 83%) y uno de los más bajos en grasas saturadas, además de no contener colesterol. Dentro de las grasas insaturadas más importantes de este aceite se encuentran los ácidos grasos linoléico y α -linolénico en una proporción en masa respecto al aceite del 17-26% y 50-57%, respectivamente, que son de los más importantes ácidos grasos esenciales (AGE). No obstante, estas composiciones pueden variar según la zona geográfica y condiciones ambientales (Escalona-García *et al.*, 2016).

La chía es la fuente vegetal con el mayor contenido de ácidos grasos esenciales, su aceite contiene propiedades físico-químicas de interés para la industria alimentaria, considerado como ingrediente alimentario potencial debido a sus beneficios en salud humana (López *et al.*, 2017).

El aceite de la semilla de chía pertenece a la familia ω -3, que es esencial para el crecimiento y desarrollo normal del cuerpo humano y desempeña un papel importante en la prevención y tratamiento de la enfermedad arterial coronaria, hipertensión, diabetes, artritis y otros procesos inflamatorios y trastornos autoinmunes y cáncer. El aceite de la semilla de chía también contiene un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados. Aunque el perfil de ácidos grasos del aceite de la semilla de chía es nutricionalmente favorable, puede dar como resultado una estabilidad oxidativa y una vida útil deficiente (Ixtaina *et al.*, 2012).

3.3 ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES (AGE)

Los ácidos grasos son un conjunto amplio de moléculas con distintas características; son moléculas formadas por una larga cadena hidrocarbonada de tipo lineal y con un número par de átomos de carbono. Por ejemplo, los hay de cadena corta, de cadena larga, insaturados, saturados y una mezcla de lo anterior. Los ácidos grasos saturados sólo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono, mientras que los ácidos grasos insaturados tienen uno o varios enlaces dobles en su cadena (Rodea-González *et al.*, 2012; Catalán *et al.*, 2015).

Existe un grupo de ácidos grasos que se denominan ácidos grasos esenciales (AGE), la historia de su descubrimiento se remonta a las investigaciones de un par de esposos a finales de la década de 1920. Se les conoce con el nombre de AGE porque el ser humano carece de las enzimas necesarias para sintetizarlos por sí solo, por ello es necesaria su ingesta a través de la dieta, de aquí su relevancia. (Escalona-García *et al.*, 2016; Cabezas-Zábala *et al.*, 2016).

Los AGE son ácidos grasos poliinsaturados de cadena relativamente larga que son necesarios para la estructura y flexibilidad de las membranas celulares.

Los AGE para el hombre son los ácidos grasos Omega-3 (ácido α -linolénico) y los ácidos grasos Omega-6 (ácido linoleico). Se les suele llamar Omega-3 (ω -3) u Omega-6 (ω -6) dependiendo el lugar en el que aparezca su primer doble enlace. Se sabe que son compuestos fundamentales para la salud humana en aspectos muy variados, como el crecimiento y desarrollo correctos del cuerpo, la regulación de la presión sanguínea y son precursores de prostaglandinas (Escalona-García *et al.*, 2016).

Además, el ω -3 y el ω -6 están presentes en varios procesos biológicos, tales como la agregación de las plaquetas en sangre y la contracción de los vasos sanguíneos, además que tienen muchas otras funciones biológicas importantes, como participar de los procesos inflamatorios y del desarrollo del tejido nervioso. Son necesarios para el crecimiento, para el desarrollo y para mantener una buena salud; entre sus funciones se encuentran el ser reguladores metabólicos en los sistemas cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor, el ser imprescindibles para preservar la funcionalidad de las membranas celulares y la participación en los procesos de transcripción genética. El interés mundial en estas sustancias de origen natural está en franco crecimiento (Zabka *et al.*, 2009; Cabezas-Zábala *et al.*, 2016).

A pesar de que los AGE poseen propiedades benéficas para el ser humano, presentan una inherente desventaja: estos son lábiles ante factores ambientales como la oxidación, la cual se ve favorecida por la temperatura y presencia de oxígeno en el aire, debido a su estructura insaturada. Para preservar las propiedades nutrimentales de este aceite es necesario utilizar una técnica de protección de los compuestos susceptibles a deterioro, al proveer una barrera física entre el componente a proteger y el agente que provoca su deterioro (Escalona-García *et al.*, 2016).

3.4 ENCAPSULACIÓN

La encapsulación es un proceso aplicado para proteger, mediante un material de recubrimiento o material de pared, la estabilidad, biodisponibilidad y conservación de los componentes bioactivos y así mismo la viabilidad en microorganismos (Rodríguez *et al.*, 2016).

La encapsulación es el recubrimiento de ingredientes sólidos, líquidos o gaseosos sensibles, como sabores, enzimas, microorganismos, vitaminas, minerales, colorantes y lípidos, conocidos como material del núcleo, con una capa protectora que se llama material de pared.

Los propósitos de la encapsulación son los siguientes:

- Protección del material del núcleo de los factores ambientales (oxígeno, temperatura, luz, humedad, pH, etc.)
- Liberación controlada de los materiales del núcleo
- Enmascaramiento de olores indeseados
- Mejora de las propiedades de manejo y flujo de los materiales del núcleo

Además de estos, el objetivo principal de la encapsulación es evitar la oxidación y, por lo tanto, extender la vida útil de estos productos.

Los polvos obtenidos por encapsulación se llaman con diferentes nombres según el tamaño de las partículas. Estas son:

- Macrocápsulas (>5000 μm)
- Microcápsulas (1 –5000 μm)
- Nanocápsulas (<1 μm) (Özbek & Ergönül, 2017).

3.5 MICROENCAPSULACIÓN

La microencapsulación es un proceso de construcción de una barrera funcional entre el núcleo y el material de pared para evitar reacciones químicas y físicas y para mantener las propiedades biológicas, funcionales y fisicoquímicas de los materiales del núcleo (Bakry *et al.*, 2016a).

Las microcápsulas están constituidas por una membrana robusta, delgada, esférica y semipermeable que envuelve a un núcleo sólido o líquido con un diámetro desde pocas micras a varios milímetros. Ellas son producidas también en forma de gel suave (cápsulas de gel) o en forma de polvo seco. La morfología de la superficie de las cápsulas puede ser lisa (regular y esférica) o irregular (desigual) con o sin presencia de poros, los cuales son los responsables de reducir la eficiencia de encapsulación (Pérez-Leonard *et al.*, 2013).

La microencapsulación tiene la capacidad de mejorar la estabilidad oxidativa, la termoestabilidad, la vida útil y la actividad biológica de aceites. Además, también puede ser útil para controlar la volatilidad y las propiedades de liberación de los aceites esenciales. Ayuda, además, a que los materiales frágiles resistan las condiciones de procesamiento y

empacado mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia (Bakry *et al.*, 2016a; Villena *et al.*, 2009).

El desarrollo de productos de microencapsulación comenzó en 1950 en la investigación en recubrimientos sensibles a la presión para la fabricación de papel de copiado sin carbón. La tecnología de encapsulación es ahora bien desarrollada y aceptada dentro de las industrias farmacéutica, química, cosmética, de alimentos e impresión (Madene *et al.*, 2006).

3.6 TÉCNICAS DE ENCAPSULACIÓN

Se pueden usar diversas técnicas para la encapsulación. Los métodos de mayor aplicación se clasifican en:

- Métodos físicos: Secado por aspersión, aspersión por enfriamiento, liofilización, recubrimiento por lecho fluidizado, extrusión, co-extrusión, extrusión-fusión.
- Métodos físico-químicos: Coalescencia, inclusión molecular, encapsulación por liposomas, coacervación, gelificación iónica, polimerización interfacial, co-cristalización, gelificación interna, incompatibilidad polimérica (Pérez-Leonard *et al.*, 2013; Villena *et al.*, 2009; Huertas, 2010; Yañez *et al.*, 2002).

3.6.1 Recubrimiento por lecho fluidizado

El recubrimiento por lecho fluidizado es una técnica de encapsulación en la que se aplica un recubrimiento sobre partículas de polvo en proceso discontinuo o continuo. El recubrimiento por lecho fluidizado es un proceso mediante el cual se producen partículas recubiertas pulverizando un agente de encapsulación sobre un lecho de polvo fluidizado.

Se suspenden partículas sólidas en aire a alta velocidad dentro de una cámara con temperatura y humedad controlada, donde el material de pared es atomizado. La cantidad de partículas cubiertas depende de la longitud de la cámara y del tiempo de residencia dentro de ésta.

Las variables de proceso en el lecho fluido como la velocidad de circulación del sólido, la presión de atomización de la boquilla, la velocidad de alimentación del recubrimiento y la

temperatura son importantes ya que tienen un impacto en la aglomeración y formación de película de las partículas, influyendo en la eficiencia del recubrimiento (Ray *et al.*, 2016; Yañez *et al.*, 2002).

En este proceso, los ingredientes se pueden mezclar, granular y secar en el mismo recipiente, lo que reduce los tiempos de manipulación y procesamiento del material en comparación con otros procesos de granulación húmeda (Bakry *et al.*, 2016a).

La técnica es aplicable a coberturas que funden fácilmente (como aceites vegetales hidrogenados, estearinas, ácidos grasos, emulsificantes, ceras) o coberturas solubles (como almidones, gomas y maltodextrinas). Para coberturas fundibles se usa aire frío para endurecer el acarreador, mientras que para las coberturas solubles se usa aire caliente para evaporar el disolvente. Los ingredientes con facilidad de fundir son liberados al incrementar la temperatura o por ruptura física, mientras que las coberturas solubles liberan su contenido al adicionar agua. Alimentos fortificados y mezclas nutricionales contienen ingredientes encapsulados por lecho fluidizado; algunos ejemplos son: ácidos cítrico, láctico y sórbico; bicarbonato de sodio utilizado en productos de panificación (Yañez *et al.*, 2002).

3.6.2 Aspersión por enfriamiento o congelamiento

Una variante del secado por aspersión consiste en enfriamiento o congelamiento, donde el material a encapsular es mezclado con el acarreador y es atomizado por medio de aire frío. Las microcápsulas son producidas por nebulización de la emulsión o suspensión que contiene el material pared y la sustancia activa sólida o líquida. Las coberturas empleadas usualmente son aceites vegetales en el caso de aspersión por enfriamiento o aceite vegetal hidrogenado para la aspersión por congelamiento; así pueden encapsularse líquidos sensibles al calor y materiales que no son solubles en disolventes convencionales.

La reducción de la temperatura produce una solidificación del lípido pared y el atrapamiento de la sustancia activa en el centro de la cápsula. La aspersión por enfriamiento es usualmente empleada para encapsular sulfato ferroso, vitaminas, minerales o acidulantes. Las aplicaciones más comunes de la aspersión por congelamiento incluyen el secado de sopas y los alimentos con altos contenidos de grasa. Las microcápsulas producidas por enfriamiento o congelamiento son insolubles en agua debido a su cobertura de lípidos por lo que se

encapsulan materiales solubles como enzimas, vitaminas solubles en agua y acidulantes (Yañez *et al.*, 2002).

3.6.3 Coacervación

La coacervación, que es un fenómeno que ocurre en soluciones coloidales, se considera a menudo como el método original de encapsulación. Esta técnica fue el primer proceso de encapsulación estudiado y fue empleada inicialmente por Green & Scheicher para producir microcápsulas de colorante sensibles a la presión para la fabricación de papel de copiado sin carbón (Madene *et al.*, 2006).

Consiste en un soluto polimérico separado en forma de pequeñas gotas líquidas, que constituye el coacervado.

Durante la coacervación, la separación de fases es inducida por la adición lenta de un “no-solvente” sobre una solución del polímero formador de cubierta, conteniendo suspendido el material que va a encapsularse. Se entiende por “no-solvente” aquel disolvente que es miscible con el disolvente del polímero y en el cual el polímero es insoluble. A medida que se adiciona el no-solvente se provoca la insolubilización del polímero, el cual, a su vez se va depositando alrededor de las partículas presentes en suspensión. Al final del proceso, se añade un volumen elevado del no-solvente con la finalidad de endurecer las microcápsulas (Huertas, 2010).

El proceso de coacervación se ha clasificado en coacervación simple y compleja.

En la coacervación simple, el polímero es salado por la acción de electrolitos, tales como sulfato de sodio, o se desolvata mediante la adición de un no disolvente miscible en agua, tal como etanol, o aumentando / disminuyendo la temperatura. Estas condiciones promueven las interacciones macromolécula-macromolécula; permite fácilmente la producción de microcápsulas que contienen sustancias hidrófobas, como las de aceites marinos, vegetales y aceites esenciales. La coacervación simple ofrece ventajas importantes sobre la coacervación compleja con respecto a las operaciones flexibles y de ahorro de costos. Para inducir la separación de fases, la coacervación simple usa sales inorgánicas de bajo costo, mientras que

la coacervación compleja es más sensible incluso a un pequeño cambio de pH. Además, la coacervación compleja usa hidrocoloides relativamente caros.

La coacervación compleja es un proceso en el que están implicados 2 o más polímeros con carga opuesta. El primer paso en la microencapsulación del aceite implica la emulsificación del aceite en una solución acuosa que contiene 2 polímeros diferentes (más comúnmente un polisacárido y una proteína), generalmente a una temperatura y pH superiores a la gelificación y al punto isoeléctrico de la proteína. El segundo paso es la separación de la fase líquida de la fase rica en polímeros insolubles como resultado de la atracción electrostática entre polímeros cargados opuestamente causada por la disminución del pH de la solución por debajo del punto isoeléctrico de la proteína. El tercer paso consiste en la formación de la pared debido a la deposición de la fase rica en polímeros alrededor de las gotitas hidrófobas, seguido de un enfriamiento controlado por debajo de la temperatura de gelificación. En el último paso, el endurecimiento de la pared de las microcápsulas se logra mediante la adición de agentes de reticulación.

La técnica de coacervación compleja produce microcápsulas con bajo contenido de aceite superficial y mayor contenido de aceite y estabilidad, en comparación con las emulsiones secadas por aspersion. Las microcápsulas producidas por coacervación poseen excelentes características de liberación controlada y propiedades resistentes al calor. La principal ventaja de la coacervación compleja sobre otros métodos es que tiene una carga útil muy alta (hasta 99%). Además, este método es simple, escalable, de bajo costo, libre de solventes y reproducible para obtener aceites microencapsulados (Bakry *et al.*, 2016a).

3.6.4 Gelificación iónica

Existen dos técnicas de gelificación:

- **Gelificación externa:** En la gelificación externa, la sal de calcio soluble es agregada a una emulsión A/O. El tamaño de partícula no puede ser bien controlado y las partículas tienden a coagular en grandes masas antes de adquirir la consistencia apropiada. Además, el tamaño de partícula que se obtiene es grande entre 400 μm y 1 mm.

- **Gelificación interna:** La gelificación interna se basa en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble en una solución de alginato de sodio. Esto se lleva a cabo por acidificación de un sistema aceite-ácido soluble, con participación en la fase acuosa del alginato. Esta técnica permite obtener partículas de un tamaño de aproximadamente 50 μm . De acuerdo con esta técnica, a la fase acuosa, generalmente formada por alginato y carbonato cálcico, se le adiciona la fase oleosa (aceite vegetal, Span 80 y ácido acético) (Huertas, 2010).

3.6.5 Coalescencia

Es el único método químico que se aplica en alimentos. Consiste en disolver una proteína gelificante y formar una emulsión con el material central. Una vez que la emulsión está lista, la coalescencia se inicia de diferentes formas como cambio de temperatura, pH o adición de sustancias (sales iónicas). En este punto la proteína se aglomera adhiriéndose al aceite, formando pequeñas partículas que empiezan a precipitarse. Las cápsulas se recuperan por filtración o centrifugación, los pasos posteriores pueden ser un secado por aspersión, o proporcionar mayor rigidez a la cápsula adicionando un aldehído que entrecruza las moléculas (Aldana *et al.*, 2011).

3.6.6 Polimerización interfacial

En este proceso se produce la polimerización de un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana, que dará lugar a la pared de la microcápsulas. Este proceso tiene lugar en tres pasos:

- Dispersión de una solución acuosa de un reactante soluble en agua, en una fase orgánica para producir una emulsión agua en aceite.
- Formación de una membrana polimérica en la superficie de las gotas de agua, iniciada por la adición de un complejo soluble en aceite a la emulsión anterior.
- Separación de las microcápsulas de la fase orgánica y su transferencia en agua para dar una suspensión acuosa. La separación de las microcápsulas se puede llevar a cabo por centrifugación (Villena *et al.*, 2009).

3.6.7 Emulsificación

Las emulsiones se usan en una amplia variedad de productos alimenticios y farmacéuticos. La tecnología de emulsificación es un paso clave en la microencapsulación de aceites. Generalmente se aplica para la encapsulación de bioactivos en soluciones acuosas, que pueden usarse directamente en estado líquido o se puede secar para formar polvos después de la emulsificación. Por lo tanto, es una parte del proceso de microencapsulación.

Por ejemplo, en la microencapsulación por liofilización y secado por aspersion, los materiales del núcleo y de pared podrían prepararse mediante técnicas de emulsión antes del secado final. Las gotitas de emulsión también se pueden incorporar a la matriz durante el proceso de extrusión, o actuar como plantillas para el procesamiento de coacervación.

Básicamente, una emulsión consiste en al menos 2 líquidos inmiscibles, generalmente aceite y agua, con uno de los líquidos dispersos como pequeñas gotas esféricas en el otro. Un sistema que consiste en gotitas de aceite dispersas en una fase acuosa se llama emulsión de aceite en agua (O / W), mientras que un sistema que consiste en gotitas de agua dispersas en una fase oleosa se llama emulsión de agua en aceite (W/O); aunque también se han desarrollado emulsiones múltiples.

Las emulsiones se preparan homogeneizando aceite y agua usando un dispositivo mecánico conocido como homogeneizador. La emulsión O / W consiste en pequeñas gotas de aceite dispersas en un medio acuoso, con las gotitas de aceite rodeadas por una delgada capa interfacial que consiste en moléculas emulsionantes. Las ventajas de estos sistemas son relativamente fáciles de preparar y de bajo costo, pero tienen los inconvenientes de la inestabilidad física (cuando se exponen a calor, frío, congelación, secado, pH extremo y altas concentraciones de minerales) y una liberación de control limitada (Bakry *et al.*, 2016a).

3.6.8 Atrapamiento en liposomas

Son una única o multicapa de fosfolípidos conteniendo cualquier componente lipofílico. Puede describirse como vesículas que se forman cuando películas de fosfolípidos son

dispersadas en un medio acuoso, son selectivamente permeables a iones y se pueden formar cuando una solución acuosa de sustancia activa, es mezclada con la película del lípido.

Materiales hidrofóbicos e hidrofílicos pueden ser atrapados en liposomas que también pueden ser utilizados para la liberación de vacunas, enzimas y vitaminas del cuerpo; estos materiales consisten de una o más capas de lípidos no tóxicos y aceptables en alimentos; sin embargo, la permeabilidad, estabilidad, actividad superficial y afinidad pueden variar con el tamaño y composición del lípido. La liberación del principio activo se realiza por difusión a través de la bicapa, por destrucción de la vesícula, por medio de una concentración crítica de iones de calcio o por un cambio de pH (Huertas, 2010).

3.6.9 Extrusión

La microencapsulación de aceites por extrusión no se usa con frecuencia en comparación con el secado por aspersión. Se ha utilizado casi exclusivamente para la microencapsulación de aceites en una matriz de hidratos de carbono. En general, la microencapsulación por extrusión incluye 3 procesos:

- Inyección en estado fundido
- Extrusión por fusión
- Extrusión centrífuga (coextrusión)

En el proceso de inyección en estado fundido, el material del núcleo se dispersa en carbohidratos fundidos, y luego se presiona a través de uno o más troqueles (orificios) en un baño de líquido deshidratante frío tal como isopropanol y nitrógeno líquido. El material de la pared se solidifica con líquido, formando una matriz encapsulante para atrapar el material del núcleo. Los gránulos se recuperan por filtración o centrifugación. El solvente residual se elimina por secado al aire o por secado al vacío.

El proceso de fusión-extrusión es similar al de la inyección. Las principales diferencias son que este último es un proceso vertical sin tornillos con partículas lavadas en la superficie, mientras que el primero es un proceso de tornillo horizontal, con partículas que no se lavan superficialmente. Los extrusores utilizados en la extrusión por fusión son un cilindro que

contiene mezcladores termomecánicos que consisten en uno o más tornillos, y los extrusores de doble tornillo equipados con tornillos autorroscantes son los preferidos para la encapsulación. Se ha demostrado que la adición del material del núcleo a la matriz portadora plastificada en una etapa posterior del proceso de extrusión del tornillo protege los bioactivos sensibles de las duras condiciones de extrusión.

La extrusión centrífuga (coextrusión) es otro tipo especial de extrusión que consiste en un tubo de alimentación concéntrico a través del cual se bombean los materiales de pared y núcleo separadamente a las muchas boquillas montadas en la superficie exterior del dispositivo. Mientras el material central fluye a través del tubo central, el material de la pared fluye a través del tubo exterior.

La principal ventaja de la microencapsulación de aceites por extrusión es la estabilidad de los aceites frente a la oxidación, el bajo aceite superficial y una vida útil prolongada en comparación con la de los aceites esenciales secados por aspersión. Además, esta técnica ayuda a reducir la tasa de evaporación de los aceites esenciales; sin embargo, este proceso es más costoso (el doble del costo) que el secado por aspersión. Otro inconveniente son las partículas bastante grandes (de 150 a 2000 μm), que limitan el uso de aceites esenciales extruidos en diversas aplicaciones (Bakry *et al.*, 2016a).

3.6.10 Co-cristalización

Es la inclusión de compuestos dentro de agregados de sacarosa, al cambiar la estructura perfecta del cristal a un conglomerado, el cual admite la adición de un segundo ingrediente. La cápsula obtenida es granular, de fácil manejo y con buenas características de flujo. El paso inicial para la encapsulación es la concentración de los jarabes de sacarosa hasta su supersaturación, posteriormente se adiciona el material central y se agita constantemente para inducir la nucleación y la aglomeración. La encapsulación de sabores por este método es una alternativa económica y flexible, sin embargo, requiere la adición de un antioxidante que prolongue el tiempo de vida útil (Aldana *et al.*, 2011).

3.6.11 Inclusión molecular

Esta técnica es definida como el resultado de interacciones entre componentes en los cuales una pequeña molécula se ajusta dentro de otra y es rodeada por la forma circular de la otra molécula que es el agente encapsulante.

A través de este proceso se pueden proteger sabores y otros ingredientes sensibles al calor que son adicionados en alimentos, aceite de ajo, cebolla y vitaminas A, E, K.

(Huertas, 2010).

3.6.12 Tecnología de fluido supercrítico

La microencapsulación de aceites esenciales mediante el uso de tecnología de fluido supercrítico tiene mucha relevancia para las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria y, en particular, tiene varias ventajas inherentes: no toxicidad, eliminación fácil del disolvente, no degradación del producto y el proceso utiliza una gran variedad de materiales que producen tamaños de partículas y morfologías controladas. Los fluidos supercríticos son gases altamente compactados que poseen varias propiedades ventajosas tanto de gases como de líquidos.

Los aceites esenciales pueden degradarse por las altas temperaturas de procesamiento utilizadas por el secado por aspersión (por encima de 80 ° C) y la presencia de oxígeno, ya que el gas de secado normal es aire comprimido. Alternativamente, la impregnación con disolvente supercrítico se denominó "proceso más suave", que es un proceso ecológico en el que se usa dióxido de carbono supercrítico como disolvente verde.

El aparato utilizado para la impregnación supercrítica se opera en modo por lotes y consiste en un recipiente de impregnación de acero inoxidable de alta presión, un baño de temperatura controlada, una placa de agitación magnética, un transductor de presión y una bomba de líquido de dióxido de carbono de alta presión. La celda de impregnación se alimenta con una cantidad fija de aceites esenciales en la parte inferior. Los materiales de pared se colocan en una malla de acero inoxidable elevada desde la parte inferior mediante un soporte.

Después de cargar los aceites y los materiales de la pared, la celda de impregnación se sumerge en el baño de agua a baja temperatura de menos de 80 ° C y luego se alimenta dióxido de carbono a la celda hasta que se logra la presión deseada para asegurar la solubilización de los ingredientes en dióxido de carbono supercrítico (Bakry *et al.*, 2016a).

3.6.13 Incompatibilidad polimérica

En este método se utiliza el fenómeno de separación de fases, en una mezcla de dos polímeros químicamente diferentes e incompatibles en un mismo solvente. El material a encapsular interaccionará solo con uno de los dos polímeros, el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular formando una película que los engloba. De manera general, este proceso se lleva a cabo en solventes orgánicos y cuando el material a encapsular es sólido (Villena *et al.*, 2009).

3.6.14 Liofilización

La liofilización también conocida como secado en frío o criodesecación es la técnica más adecuada para la deshidratación de todos los materiales sensibles al calor y también para la microencapsulación. Este proceso de deshidratación se realiza a temperaturas y presiones bajas garantizando así alta retención de compuestos volátiles.

Es una operación multietapa que estabiliza los materiales a través de cuatro operaciones principales, como la congelación, la sublimación, la desorción y finalmente el almacenamiento.

La liofilización es un proceso de secado para la conservación a largo plazo de alimentos sensibles al calor y otros materiales biológicos basados en los fenómenos de sublimación.

En primer lugar, el producto se congela y, a continuación, el hielo se sublima desde el estado sólido al vacío (paso de sublimación). Finalmente, el agua no congelada se elimina por evaporación a presión reducida (etapa de desorción).

Un proceso exitoso de liofilización conserva la mayoría de las propiedades iniciales de la materia prima, como la forma, las dimensiones, el aspecto, el sabor, el color, la textura y la actividad biológica.

La eficacia de la protección o la liberación controlada depende principalmente de la composición y la estructura del material de pared. Los materiales de pared más utilizados son goma arábica, maltodextrina, almidones emulsionantes, proteína de suero de leche, etc.

Las ventajas de la liofilización en términos de encapsulación de aceites se pueden resumir de la siguiente manera:

- Disminución del deterioro de compuestos sensibles al calor (ácidos grasos insaturados, tocoferoles, etc.)
- La humedad controlable de los productos finales
- Reconstrucción más fácil de microcápsulas de aceite liofilizado

Las principales desventajas de la liofilización son la alta entrada de energía y el largo tiempo de procesamiento. Además, durante el procesamiento se forma una barrera con una estructura porosa abierta entre el agente activo y su entorno; esta pared de alta porosidad ofrece poca protección cuando se requiere una liberación prolongada de un activo. Sin embargo, las estructuras porosas de productos bioactivos liofilizados ofrecen una mayor liberación de fármaco (Ray *et al.*, 2016; Özbek & Ergönül, 2017; Aldana *et al.*, 2011).

3.6.15 Secado por aspersion

El secado por aspersion es una técnica para convertir una alimentación (solución o dispersión) en un polvo seco en un solo paso continuo.

Esta técnica comprende los siguientes pasos:

1. Pulverizar la solución de alimentación o la emulsión en pequeñas gotas por medio de un atomizador. La entrada se atomiza en forma de gotas finas en un medio de secado caliente (aire o nitrógeno).

2. Colocar la dispersión previa en contacto con la corriente de gas a la temperatura necesaria para la evaporación completa del disolvente. Cuando las gotitas pequeñas entran en contacto con el medio de secado a alta temperatura, se produce una evaporación rápida del disolvente (principalmente agua) y se produce instantáneamente un polvo. Al evaporarse el agua los sólidos remanentes forman una capsula alrededor del material central por atracción másica.
3. Separar las partículas sólidas transportadas por la fase gaseosa mediante ciclones y/o filtros.

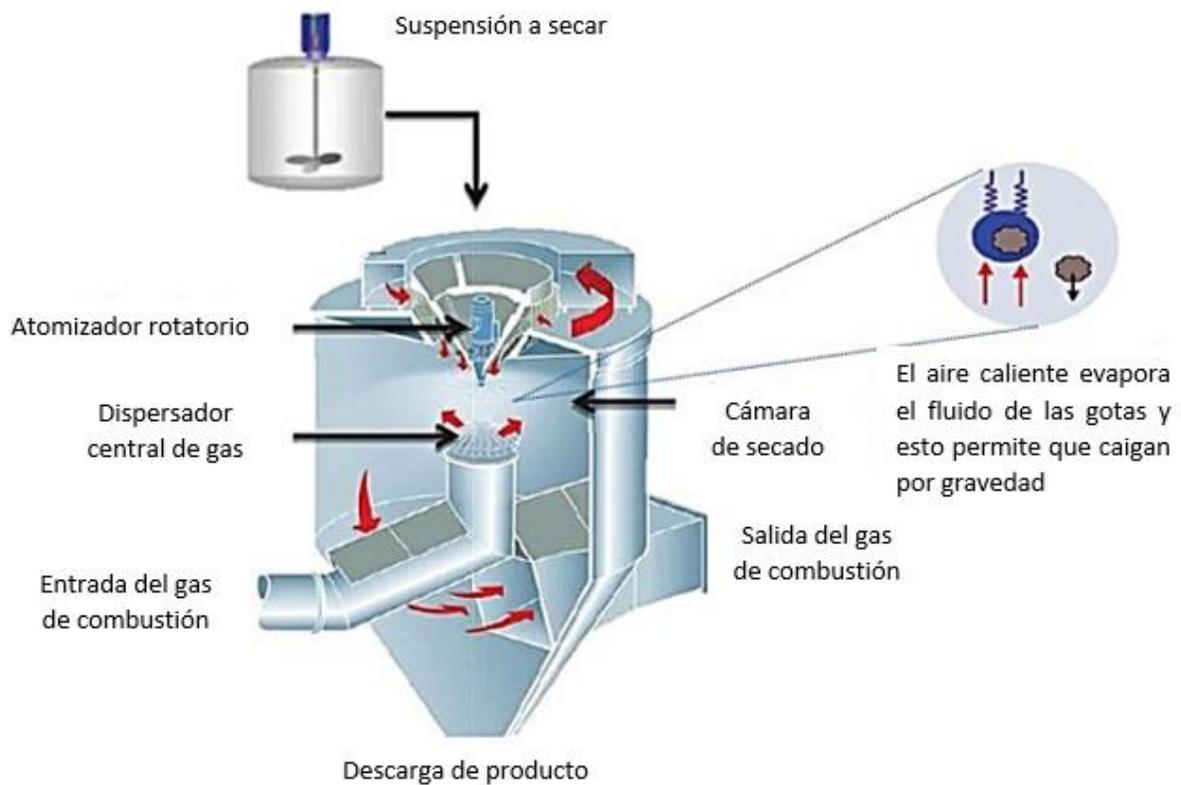


Fig. 1 Representación esquemática del equipo de secado por aspersión

El proceso de secado por aspersión se realiza típicamente con una alimentación de solución acuosa, que limita el agente de encapsulación y el compuesto activo a compuestos solubles en agua a una concentración aceptable.

Los materiales de pared para microcápsulas mediante secado por aspersión deben comprender preferiblemente biopolímeros que posean buena actividad superficial (que

afectará la eficacia de emulsificación / encapsulación), sean altamente solubles y exhiban baja viscosidad a altas concentraciones (porque habitualmente las proporciones de material de pared a núcleo son altas en microcápsulas, y debido a que el secado por aspersion requiere una alta concentración de sólidos para ser económicamente factible), y formen capas adsorbidas densas alrededor del lípido que se encapsula (para minimizar la difusión de agentes pro-oxidantes).

El secado por aspersion es ventajoso para la encapsulación de compuestos activos ya que es simple, de bajo costo, reproducible y fácil de escalar. Además, es útil debido a sus cortos tiempos de secado (5-30 s). Este método produce micropartículas de polvo con baja actividad de agua (a_w), lo que simplifica el transporte, la manipulación y el almacenamiento, y garantiza la calidad microbiológica (Encina *et al.*, 2016; Jamekhorshid *et al.*, 2014; Aldana *et al.*, 2011; Pérez-Alonso *et al.*, 2009).

A pesar de los aspectos positivos anteriores, el método presenta algunas desventajas como: ocupa gran espacio en planta, el producto húmedo puede incrustarse en las paredes del equipo, puede sufrir pérdidas significativas de materiales volátiles y degradación térmica de materiales sensibles al calor debido a la operación a altas temperaturas de entrada (Ishwarya *et al.*, 2015).

3.7 MATERIALES EMPLEADOS COMO AGENTES ENCAPSULANTES

La elección correcta del material de la pared está determinada generalmente por los requerimientos del sistema en cuestión y su aplicación final, así como el método de microencapsulación seleccionado y las condiciones ambientales a las que las microcápsulas serán sometidas. Esta selección es muy importante porque influye en la eficacia de encapsulación y la estabilidad de la microcápsula.

El material de pared ideal debe tener las siguientes características:

1. Buena propiedad reológica a alta concentración y fácil capacidad de trabajo.
2. Capacidad de dispersar o emulsionar el material activo y estabilizar la emulsión producida.

3. No reactividad química con los materiales centrales activos a encapsular durante el procesamiento.
4. Capacidad para sellar y mantener el material activo dentro de su estructura durante el procesamiento o almacenamiento.
5. Capacidad de liberar completamente el solvente u otros materiales usados durante el proceso de encapsulación bajo secado u otras condiciones de desolventización.
6. Capacidad para proporcionar la máxima protección al material activo contra las condiciones ambientales (por ejemplo, oxígeno, calor, luz y humedad).
7. La solubilidad del disolvente debería ser aceptable para la industria alimentaria (por ejemplo, agua y etanol) (Reyna et al., 2015; Ray *et al.*, 2016).

Entre los materiales más empleados como agentes encapsulantes destacan los siguientes:

3.7.1 Carbohidratos

Los carbohidratos se usan ampliamente en encapsulaciones de secados por aspersion como el soporte de encapsulado, que es el material de pared. Estos materiales tienen propiedades, tales como bajas viscosidades a altos contenidos de sólidos y buena solubilidad que son deseables en un agente de encapsulación (Madene *et al.*, 2006).

Sin embargo, la mayoría de ellos carecen de las propiedades interfaciales requeridas para una alta eficacia de microencapsulación y generalmente están asociados con otros materiales encapsulantes como proteínas o gomas.

El uso de carbohidratos de bajo peso molecular en la microencapsulación generalmente se asocia con problemas de apelmazamiento, colapso y recristalización del carbohidrato amorfo durante el almacenamiento. El apelmazamiento puede explicarse por la formación de enlaces entre partículas adyacentes cuando la viscosidad superficial alcanza un valor crítico.

Actualmente existe un enfoque novedoso para mejorar las propiedades encapsulantes de los materiales de pared comunes consiste en modificaciones químicas de carbohidratos (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Encina *et al.*, 2016).

3.7.2 Maltodextrinas

Las maltodextrinas se forman hidrolizando parcialmente la harina de maíz con ácidos o enzimas y se suministran como equivalentes de dextrosa (DE), el valor de la DE es una medida del grado de hidrólisis del polímero de almidón. Ellos manifiestan la capacidad de formar matrices que son importantes en la formación de sistemas de pared. Al seleccionar los materiales de pared para la encapsulación, la maltodextrina es un buen compromiso entre costo y efectividad, ya que es suave en sabor, tiene baja viscosidad en una alta proporción de sólidos, proporcionan buena estabilidad oxidativa al aceite encapsulado y está disponible en diferentes pesos moleculares promedio. Sus principales deficiencias son una virtual falta de capacidad emulsionante, baja estabilidad de emulsión y baja retención de compuestos volátiles (Madene *et al.*, 2006; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Sin embargo, un estudio de caracterización de maltodextrinas mostró que las maltodextrinas con equivalencia de dextrosa entre 10 y 20 se adaptan para usar como material de pared (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

3.7.3 Gomas

Las gomas se utilizan en la microencapsulación tanto para la formación de la película como para las propiedades de estabilización de la emulsión. Entre todas las gomas, la goma de acacia, generalmente llamada goma arábiga, se destaca por sus excelentes propiedades de emulsión y, por lo tanto, es ampliamente utilizada.

Generalmente se prefiere la goma arábiga por su solubilidad, baja viscosidad, sus características de emulsificación y su buena retención de compuestos volátiles que la hace muy versátil para la mayoría de los métodos de encapsulación; además porque produce emulsiones estables con la mayoría de los aceites en un amplio rango de pH, y también forma una película visible en la interfaz del aceite. Debido a esta eficiencia emulsionante, la goma arábiga se ha usado generalmente para encapsular lípidos. Sin embargo, el alto costo, el suministro limitado y las variaciones de calidad han restringido el uso de la goma arábiga

con fines de encapsulación y han llevado a los investigadores a buscar materiales de microencapsulación alternativos (Madene *et al.*, 2006; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

3.7.4 Lípidos

Son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme. Dentro de los principales agentes encapsulantes de carácter lipídico están: grasa láctea, lecitinas, ceras, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, parafinas, aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya (Huertas, 2010).

3.7.5 Proteínas

Existen diferentes tipos de proteínas que se utilizan como agentes encapsulantes, como son las de origen animal y las de origen vegetal. Ambas han sido objeto de estudio para la formación de microcápsulas.

Debido a sus diferentes grupos químicos, propiedades anfífilas, capacidad de auto-asociarse e interactuar con una variedad de diferentes tipos de sustancias, gran peso molecular y flexibilidad de la cadena molecular, las proteínas tienen excelentes propiedades funcionales tales como solubilidad, viscosidad, emulsificación y propiedades de formación de película y son capaces de ser utilizadas en encapsulación. Durante la formación de la emulsión, las moléculas de proteína se adsorben rápidamente en la interfaz agua-agua recién formada. La capa estabilizante estérica resultante protege inmediatamente las gotitas de aceite contra la re-coalescencia y, a partir de entonces, proporciona estabilidad física a la emulsión durante el procesamiento y el almacenamiento (Madene *et al.*, 2006; García-Ceja & López, 2012).

El uso como agente encapsulante de las proteínas tiene ventajas, ya que no representan ningún peligro para el organismo que los consume. Adicionalmente, son biodegradables, cuentan con ausencia de toxicidad y reacciones colaterales (biocompatibilidad), tienen ventajas nutricionales y pueden liberar el incipiente activo con facilidad. Además, tienen

propiedades emulsionantes, gelificantes y de formación de película y generalmente se combinan con carbohidratos, como maltodextrina, almidones, jarabe de glucosa, lactosa o sacarosa etc (Sandoval-Peraza *et al.*, 2017; Encina *et al.*, 2016).

4 JUSTIFICACIÓN

Existe un grupo de ácidos grasos que se denominan ácidos grasos esenciales (AGE), los cuales no pueden ser producidos por el hombre y deben ser incorporados a partir de la dieta. Los AGE para el hombre son: los ácidos grasos Omega-3 (ácido α -linolénico) y los ácidos grasos Omega-6 (ácido linoleico). Los AGE son necesarios para la estructura y flexibilidad de las membranas celulares. Los ácidos grasos esenciales como el Omega-3 y Omega-6 están presentes en varios procesos biológicos, tales como la agregación de las plaquetas en sangre y la contracción de los vasos sanguíneos, además que tienen muchas otras funciones biológicas importantes, como participar de los procesos inflamatorios y del desarrollo del tejido nervioso. El interés mundial en estas sustancias de origen natural está en franco crecimiento (Fuentes-Ortega *et al.*, 2017b).

A pesar de que el consumo de estos AGE es benéfico para la salud del hombre, es necesario tomar en cuenta que estos aceites no pueden conservar sus propiedades por si solos, ya que son lábiles ante factores ambientales.

Por lo anterior, la industria alimentaria busca en sus diferentes procesos emplear y conservar las propiedades funcionales de los aceites de este tipo a través de la tecnología de microencapsulación. La microencapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, vitaminas, colorantes, oleorresinas o aceites) pueden ser cubiertas de manera individual para protegerlas del ambiente y de reacciones deteriorativas debido a la luz, temperatura u oxígeno. Una ventaja adicional es que un compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha recubierto y se obtienen productos alimenticios con mejores características sensoriales y nutricionales (Escalona-García *et al.*, 2016).

En este trabajo se establecerá una metodología para desarrollar sistemas microencapsulantes de mezclas de ácidos grasos poli-insaturados (Omega 3 y Omega-6) empleando como agentes encapsulantes matrices proteínicas provenientes del suero de leche y chícharo, evaluando su funcionalidad como posibles agentes encapsulantes.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las propiedades encapsulantes de ácidos grasos poli-insaturados microencapsulados en diferentes matrices proteínicas

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer el aceite de chía y aceite de ajonjolí mediante un proceso de prensado en frío.
- Formular emulsiones del tipo aceite en agua (O/W) empleando como fase dispersa una mezcla de ácidos grasos poli-insaturados y como fase continua una dispersión acuosa de proteína de chícharo y de proteína de suero de leche.
- Determinar el tamaño de gota promedio de las emulsiones, el potencial zeta y viscosidad de las mismas.
- Deshidratar las emulsiones mediante secado por aspersion para obtener microcápsulas.
- Evaluar las propiedades físicas de las microcápsulas.
- Determinar la eficiencia de encapsulamiento y porcentaje de aceite superficial de las microcápsulas
- Determinar la estabilidad térmica oxidativa de los ácidos grasos en las microcápsulas.
- Determinar la morfología de las microcápsulas mediante microscopía electrónica de barrido.

6 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La eficiencia de encapsulamiento resultó ser más alta y la tasa de oxidación de los ácidos grasos fue más baja con la proteína de chícharo que con respecto a la proteína de suero de leche?

7 METODOLOGÍA

7.1 MATERIALES

Para la extracción de los aceites de chía y ajonjolí, se emplearon semillas que fueron adquiridas de un centro comercial de la ciudad de Toluca, Estado de México, México.

El aislado de proteína de suero de leche se adquirió de la compañía Hilmar Ingredients 9010 (Hilmar, EE. UU.) conteniendo 92% p/p de proteína en base seca; y la proteína de chícharo se compró en Roquette Freres (Lestrem, France) conteniendo 83% p/p de proteína en base seca.

El agua en todos los experimentos fue bidestilada y deionizada. Todos los reactivos químicos empleados se adquirieron de la compañía Sigma Aldrich S. A. de C. V. (Toluca, Estado de México, México).

7.2 MÉTODOS

7.2.1 Extracción de aceite de chía y ajonjolí

Se empleó para la extracción del aceite de chía y ajonjolí el método de prensado en frío.

Se colocaron 300 g de semillas de chía dentro de un émbolo de 40 cm de largo por 10 cm de diámetro, y este a su vez se colocó en una prensa hidráulica Tamer (modelo PT-20, Shangai, China). Se ejerció una presión máxima aplicada por el pistón de $8.8 \times 10^8 \text{ N/m}^2$ a temperatura ambiente ($\sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$).

El aceite extraído se recolectó y se envaso en frascos de vidrio color ámbar y almacenados en un cámara de refrigeración a 5°C .

Este procedimiento fue repetido con las semillas de ajonjolí.

7.2.2 Formulación de emulsiones aceite en agua (o/w)

Se prepararon soluciones acuosas 20 % p/p de dos diferentes biopolímeros como agentes emulsionantes, proteína de suero de leche y proteína de chícharo, con 0.3 % p/p de azida de

sodio (para evitar la proliferación de organismos) y se mantuvieron durante la noche en un baño de agua con agitación a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$), para garantizar la hidratación completa de las moléculas de los biopolímeros (Rodea-González *et al.*, 2012).

Se utilizaron soluciones madre de proteína de suero de leche o proteína de chícharo como materiales de pared, y se prepararon mezclas al 50% p/p de aceite de chía con 50% p/p de aceite de ajonjolí que fueron utilizados como materiales encapsulados. Se hicieron emulsiones del tipo aceite en agua (O/W) con relación de material encapsulado respecto al material de pared (Co:Wm) de 1:2 en base seca, teniendo un contenido de sólidos totales de 20% p/p para producir 600 gramos de emulsión, con una fracción volumétrica dispersa ($\phi_{\text{O/W}}$) de 0.066; se agregaron las cantidades necesarias de la mezcla de aceites, vertiéndolos gota a gota en la cantidad requerida de biopolímeros. La emulsificación se realizó en un homogeneizador Ultra-Turrax T50 (IKA®-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EE. UU.) A 6400 r.p.m. durante 10 min. Las emulsiones se mantuvieron en un baño de agua helada para mantener la temperatura por debajo de 30°C .

7.2.3 Potencial zeta y tamaño de gota promedio

Para la determinación del potencial zeta (PZ) se prepararon dispersiones acuosas al 1% (w/w) de proteína de suero de leche o proteína de chícharo con mezclas de 50% p/p de aceite de semilla de chía y 50% p/p de aceite de semilla ajonjolí usando agua deionizada y se ajustó a un valor de pH 7.0 y a una temperatura de 25°C . Para la medición del PZ se usó un equipo de micro-electroforesis y dispersión de luz dinámica modelo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) con una celda capilar plegada (DTS 1060) (Kaewmanee *et al.*, 2014). Este equipo mide la dirección y la velocidad de partículas cargadas aplicando un campo eléctrico y calcula el PZ usando el modelo de Smoluchowski (Kaushik *et al.*, 2015a).

7.2.4 Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersión

Los dos tipos de emulsiones se alimentaron a una velocidad de 40 mL/min en un secador de pulverización Nichols / Niro (Turbo Spray PLA, NY, EE. UU.) a nivel planta piloto, operado con una temperatura de entrada de 135 ± 5 °C, temperatura de salida a 80 ± 5 °C e inyección de aire comprimido a 4 bar (Alpizar-Reyes *et al.*, 2017).

PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS MICROCÁPSULAS

7.2.5 Contenido de humedad

El contenido de humedad de las microcápsulas se determinó de acuerdo con lo establecido por el método 925.10 AOAC (2006). Se tomaron muestras por triplicado de microcápsulas (~1 g) se pesaron y posteriormente se secaron en una estufa de convección forzada (Riossa, Mod. E-51, México) a una temperatura de 40 °C durante 24 h. Las muestras se retiraron de la estufa, se enfriaron en un desecador y se pesaron. Los procesos de secado y pesaje se repitieron hasta que se obtuvieron pesos constantes.

7.2.6 Ángulo de reposo

Las microcápsulas se pesaron (~10 g) y se colocaron en un embudo sujeto a un soporte a una altura de 20 cm con una superficie plana de papel. Se dejó que el polvo fluyera libremente a la superficie del papel. La altura del cono (H), formada después del flujo completo y el radio del cono (R) se midieron y usaron para calcular el ángulo de reposo con la siguiente Ec. 1 (Jindal *et al.*, 2013):

$$\text{Ángulo de reposo } (\tan \theta) = \frac{H}{R} \dots (1)$$

7.2.7 Densidad empacada y aparente

Las densidades empacada y aparente se midieron según Kalegowda *et al.*, 2017 con algunas modificaciones. La densidad aparente se midió transfiriendo ~8 g de microcápsulas a un

cilindro de medición graduado y el volumen ocupado por las microcápsulas dio el volumen volumétrico. La densidad empacada se midió golpeando mecánicamente el cilindro de medición que contuvo las microcápsulas hasta que se observó un volumen constante. La densidad aparente o empacada se calculó como el cociente de la masa de las microcápsulas y el volumen total o compactado respectivamente.

7.2.8 Prueba de disolución

La prueba de disolución se evaluó basándose en Quek *et al.*, 2007 con algunas modificaciones. Se pesaron aproximadamente 50 mg de muestra y se colocaron en un mini tubo de ensayo. Luego, se añadió 1 mL de agua bidestilada. A continuación, se agitó a 1500 rpm usando un agitador orbital Vortex 3 (IKA, Alemania). El tiempo para reconstituir completamente los polvos se registró utilizando un temporizador electrónico. Se analizaron muestras por triplicado.

7.2.9 Índice de compresibilidad

El índice de compresibilidad de las microcápsulas se determinó de acuerdo con el porcentaje del índice de compresibilidad de Carr acorde con la Ec. 2 (Kalegowda *et al.*, 2017):

$$\text{Compresibilidad (Índice de Carr)} = \frac{\text{Densidad empacada} - \text{Densidad aparente}}{\text{Densidad empacada}} \times 100 \dots (2)$$

7.2.10 Radio de Hausner

La relación de Hausner se determinó por la relación de la densidad empacada y la densidad aparente basada en la Ec. 3 (Bhusari *et al.*, 2014):

$$\text{Radio de Hausner} = \frac{\text{Densidad empacada}}{\text{Densidad aparente}} \dots (3)$$

7.2.11 Dispersabilidad

La dispersabilidad de las microcápsulas se determinó utilizando el método descrito por Bhusari *et al.*, 2014. Se agitaron aproximadamente 2.6 g de microcápsulas con 20 g de agua a temperatura ambiente en un vaso de precipitado. La agitación se realizó a 25 movimientos completos de ida y vuelta en todo el diámetro del vaso de precipitado durante 15 s. Las microcápsulas se vertieron a través del tamiz de 210 μm de tamaño. La materia seca de las microcápsulas se estimó midiendo su contenido de humedad, manteniendo la muestra en un horno a 105 ° C hasta que se obtuvo un peso constante Ec. 4.

$$DS (\%) = \frac{(W + a)S_p}{a \cdot S_j} \dots (4)$$

Donde a (g) es la cantidad de polvo usado, W (g) es el peso del agua tomada para la reconstitución, S_p (%) es el porcentaje de sólido total presente en las microcápsulas y S_j (%) es el porcentaje de materia seca presente en las microcápsulas reconstituidas después de haber sido pasado por el tamiz.

7.2.12 Distribución de tamaño de partícula

Se usó un analizador de tamaño de partícula Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido) para determinar el tamaño medio ponderado en volumen ($D [4,3]$) de las microcápsulas. El índice de refracción utilizado fue 1.385, el índice de adsorción fue 0.1 y la presión de aire de 4 bar.

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE ENCAPSULACIÓN

7.2.13 Determinación de aceite superficial

El aceite superficial se determinó gravimétricamente de acuerdo con el método descrito por Menin *et al.*, 2018 con algunas modificaciones. 3 g de microcápsulas se trataron con 75 mL de éter de petróleo y se mantuvieron en agitación constante durante 30 min. Posteriormente, se dejó evaporar el disolvente de las microcápsulas, a temperatura ambiente, hasta peso

constante. El aceite de la superficie se determinó por la diferencia de masa entre el aceite volátil total retenido y el contenido de aceite interno de las microcápsulas.

7.2.14 Determinación de aceite total

El contenido de aceite total en las microcápsulas se estudió en base a Dima *et al.*, 2016 con ligeras modificaciones. Brevemente, se pesaron 3 g de microcápsulas a las que se extrajo el aceite utilizando un equipo de extracción de grasa Soxhlet con éter de petróleo como disolvente extractor durante 7 h a temperatura ambiente (~20 °C). El residuo de disolvente se evaporó al vacío a 80 °C. El aceite obtenido después de la evaporación se pesó y se tomó como el contenido total de aceite en las microcápsulas y se calculó gravimétricamente.

7.2.15 Eficiencia de encapsulación

El porcentaje de eficiencia de encapsulación (*EE*) fue calculado con la Ec. 5:

$$EE(\%) = \frac{A_{total} - A_{superficial}}{A_{total}} \times 100 \dots (5)$$

Donde:

A_{total} es el aceite volátil total retenido en la microcápsula y $A_{superficial}$ es el contenido de aceite en la superficie de la microcápsula, ambos expresados en base seca.

7.2.16 Oxidación lipídica por valor de peróxido

Para la evaluación de la oxidación, las microcápsulas y los aceites mixtos se almacenaron a 25, 35 y 40 ° C y las actividades de agua de 0.329, 0.318 y 0.313 respectivas a cada temperatura. Las microcápsulas y el aceite mezclado en masa se extendieron en bandejas de 3,5 cm de diámetro (área de superficie de 9,6 cm²) y se almacenaron en recipientes sellados para acelerar el proceso de oxidación. El espacio principal para las microcápsulas y las muestras de aceite a granel fue de 4 cm. Para cada punto de análisis, se retiró un contenedor

sellado, los contenidos se analizaron y se eliminaron, para evitar la introducción de nuevo oxígeno después del muestreo. Las muestras no fueron expuestas a la luz durante el almacenamiento. La oxidación de lípidos se evaluó a través del valor de peróxido expresado como miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite (mEq / kg de aceite). El aceite en las microcápsulas se extrajo de acuerdo con Cortés-Camargo *et al.*, 2017. En resumen, se pesaron 0.5 g de las microcápsulas y se disolvieron en 1 mL de agua. Una porción de 0.3 mL de las microcápsulas disueltas se mezcló con 1,5 mL de una solución de iso-octano / isopropanol (3:2 v / v), que luego se agitó en un vortex tres veces durante 10 s. Las fases se separaron y la fase superior se tomó para un análisis adicional. El valor de peróxido correspondiente a los aceites microencapsulados y a granel se determinó espectrofotométricamente según Escalona-García *et al.*, 2016. Se añadió una porción de 0.2 mL de medio de extracción (o 0,2 g en el caso de aceite a granel) a 2.8 mL de una solución metanol-butanol (2:1 v/v). Para la formación del color, se agregaron 15 µL de una solución de tiocianato de amonio y 15 µL de una solución de iones de hierro (obtenidos de la mezcla de 0.132 M de BaCl₂ y 0.144 M de FeSO₄). La muestra se agitó en el vortex durante 4 s. La absorbancia de las muestras se leyó a 510 nm después de un tiempo de reacción de 20 min utilizando un espectrofotómetro UV / Vis modelo Genesis 10 (Thermo Scientific, Waltham, MA) y las concentraciones de hidropéroxido se determinaron utilizando una curva estándar de hidropéroxido de cumeno (Niu *et al.*, 2016).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

7.2.17 Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR).

Los grupos funcionales de microcápsulas se determinaron mediante espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrofotómetro FT-IR GX System (Perkin-Elmer, Shelton, CT, EE. UU.) Acoplado a un accesorio ATR DuraSample II. Todos los espectros fueron un promedio de 16 exploraciones de 36500 a 800 cm⁻¹ a una resolución de 2 cm⁻¹.

7.2.18 Difracción de rayos x

Los patrones de difracción de rayos X (XRD) de gran angular de microcápsulas se obtuvieron utilizando un difractómetro Siemens D4 (Endeavour, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) con radiación de Co-K α . Los difractogramas se tomaron entre 5 ° y 55 ° (2 Θ) a una velocidad de 1 ° / min (2 Θ) y con un tamaño de paso de 0.05 ° (2 Θ). Los difractogramas se obtuvieron a 25 °C utilizando un voltaje de aceleración de 40 kV y una corriente de 40 mA.

7.2.19 Análisis de microscopía electrónica de barrido

La morfología superficial de las microcápsulas se adquirió utilizando un microscopio electrónico de barrido modelo JSM-6510 (Jeol Co. Ltd., Tokio, Japón) con una aceleración de voltaje de 15 kV. Las muestras se montaron en porta-muestras circulares de aluminio con cinta adhesiva de doble cara, recubiertos durante 250 s con oro de 15 nm. Se presentan micrografías a 1000 \times , 1500 \times y 5000 \times ampliaciones. Para todos los métodos, se realizaron al menos tres duplicados de cada muestra.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 POTENCIAL ZETA

Los valores de potencial zeta con la emulsión con proteína de suero de leche mostró un valor de -31.400 mV, mientras que en el caso de la emulsión de proteína de chícharo arrojó un valor de -17.033 mV. Para el caso de la proteína de suero de leche se encontró un valor de potencial z absoluto superior a ± 30 mV, el cual se asume como una suspensión coloidal estable, debido a que los grupos funcionales presentes en la superficie de las gotas presentan fuerzas de repulsión electroestáticas suficientes para estabilizar la interacción entre estas (Bakry *et al.*, 2016b). Este comportamiento ha sido observado en sistemas compuestos por proteína de suero de leche en combinación con Carboximetilcelulosa (CMC) y pulullan para encapsular mezclas de aceite de atún/aceite de menta encontrando valores de potencial zeta en el intervalo de ~ -31 a -36 mV.

En el caso de la proteína de chícharo se encontró un valor de potencial Z absoluto inferior a ± 30 mV, lo que nos permite suponer una estabilidad menor ya que las emulsiones con valores absolutos bajos en el potencial zeta tienen características tendientes a la coagulación o floculación (Cortés-Camargo *et al.*, 2017). Dicha conducta fue observada en sistemas de goma de mezquite en combinación con nopal para encapsular aceite esencial de limón, donde se registraron valores de potencial zeta en el intervalo de ~ -17 a -20 mV.

8.2 CONTENIDO DE HUMEDAD

El contenido de humedad para los microencapsulados de proteína de suero de leche registraron valores de 3.64 % p/p mientras que los microencapsulados de proteína de chícharo presentaron valores de 5.14 % p/p. Se ha demostrado que se obtienen bajos contenidos de humedad en los microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión. Estos bajos contenidos de humedad aseguran la vida útil de los polvos (Onsaard *et al.*, 2018).

Un comportamiento semejante fue observado por Onsaard *et al.*, 2018 y Aghbashlo *et al.*, 2012 en un sistema compuesto de una mezcla de concentrado de proteína de suero de leche, κ -carragenina y maltodextrina para encapsular aceite de ajonjolí, donde se reportaron

contenidos de humedad de ~ 3.19 % y así mismo en un sistema de leche desnatada en polvo para encapsular aceite de pescado, obteniendo contenidos de humedad en el intervalo de ~ 2 a 5 % respectivamente.

Para el caso de las microcápsulas con proteína de chícharo, se obtuvo un contenido de humedad superior alcanzando un valor de 5.14 % p/p, lo que permite suponer un tiempo de vida útil menor en estos microencapsulados ya que un mayor contenido de humedad conduce al crecimiento de hongos además de apelmazamiento por lo cual se afecta la estabilidad fisicoquímica de estos polvos (Goyal *et al.*, 2015). Costa *et al.*, 2015 hallaron resultados similares en diversos sistemas de aislado de proteína de chícharo o concentrado de proteína de chícharo solos o en mezclas con diversas proporciones de maltodextrina y carboximetilcelulosa para encapsular ácido linoleico conjugado, donde identificaron valores de contenido de humedad en un intervalo de ~ 2-6 %.

8.3 ÁNGULO DE REPOSO

La medida del ángulo estático de reposo es un método simple de caracterización del comportamiento de polvos o gránulos durante el flujo. Como regla general, los polvos con un ángulo de reposo de menos de 40 grados, generalmente presentan propiedades de flujo libre, mientras que los polvos que exhiben un ángulo de reposo de 50 grados o más, indican problemas de flujo o cohesividades (Montes *et al.*, 2007).

Independientemente de los métodos por los cuales se forma el cono (u otra forma del polvo), se puede asumir que cuanto más pequeño es el ángulo, más libre fluye el polvo. Debido a que la formación del cono involucra fuerzas de fricción, fuerzas de cohesión entre partículas y efectos de impacto que pueden conducir a la segregación, las mediciones dependen del método experimental.

En el caso de los polvos cohesivos, a veces se forman conos irregulares y la medición del ángulo en sí se vuelve difícil. Además, los polvos pueden tener niveles de empaque diferentes y no uniformes, así como niveles de humedad. Por lo tanto, los diversos factores físicos que dan forma al cono también pueden variar con estos parámetros. Esto explica por qué el polvo

húmedo exhibe un mayor ángulo de reposo (principalmente debido a la cohesión) (Peleg, 1977).

Una vez que se obtuvieron los ángulos de reposo para ambas formulaciones, se registraron valores de 41.75° para las microcápsulas con proteína de suero de leche y 50.07° para las microcápsulas con proteína de chícharo.

Las microcápsulas con proteína de suero de leche, obtuvieron un ángulo de reposo más pequeño que las microcápsulas con proteína de chícharo, con lo cual podemos decir que los polvos de esta formulación no fluyen de manera totalmente libre, pero tienen propiedades de flujo pasables. Esto lo podemos constatar por la regla establecida por Montes *et al.*, 2007 anteriormente descrita.

Sin embargo, los resultados obtenidos para las microcápsulas con proteína de chícharo tienen un valor más alto, lo que según lo indicado por la regla del ángulo de reposo nos quiere decir que se presentan problemas de flujo. Estos problemas de fluidez pueden ser atribuidos a factores propios de los polvos según lo evidenciado por Peleg, 1977.

Lo cual se corrobora porque durante la medición se obtuvo un cono irregular, además de que anteriormente se discutió un mayor contenido de humedad en los polvos.

Resultados análogos fueron descritos por Yinbin *et al.*, 2018 en sistemas compuestos por mezclas de maltodextrina, goma arábiga, gelatina (grado alimenticio), quitosano y β -ciclodextrina para encapsular extracto fenólico de ciruela donde reportaron valores de ángulos de reposo en un intervalo de $\sim 44.5^\circ - 58.1^\circ$. Calva-Estrada *et al.*, 2018 también observaron una tendencia similar en sistemas compuestos de concentrado de proteína de suero de leche (WPC) para encapsular extracto etanólico sintético de vainilla o extracto etanólico natural de vainilla, donde reportaron valores de ángulos de reposo en un intervalo de $\sim 40^\circ - 45^\circ$.

8.4 DENSIDAD EMPACADA Y APARENTE

Las microcápsulas con proteína de suero de leche presentaron valores de 0.268 g/mL y 0.322 g/mL en los rubros de densidad aparente y empacada, respectivamente. Los polvos de las

microcápsulas con proteína de chícharo obtuvieron una densidad aparente de 0.278 g/mL y una densidad empacada de 0.333 g/mL.

La densidad aparente es la densidad de un material cuando se empaqueta o se apila a granel (Bhusari *et al.*, 2014; Chew *et al.*, 2018).

La densidad empacada de los polvos es una variable que afecta el transporte, el envasado y la comercialización de los polvos (Goyal *et al.*, 2015; Chew *et al.*, 2018).

Debido a que no hubo diferencias significativas entre las densidades empacada y aparente de ambas formulaciones de microcápsulas, podemos decir que los polvos podrían presentar tamaños de partículas muy semejantes o que los polvos pueden presentar un acomodo muy similar en un mismo volumen.

Se han encontrado resultados similares en sistemas compuestos de β -ciclodextrina, goma arábica y caseinato de sodio para microencapsular aceite refinado de semilla de kenaf donde se obtuvieron valores de densidad aparente en el intervalo de ~ 0.2 - 0.3 g/cm^3 y valores de densidad empacada en el intervalo de $\sim 0.4 - 0.6 \text{ g/cm}^3$ (Chew *et al.*, 2018) y también en un sistema compuesto de maltodextrina para encapsular hidrolizados de caseína donde se obtuvieron valores de densidad aparente en el intervalo de ~ 0.25 - 0.29 g/mL y valores de densidad empacada en el intervalo de $\sim 0.33 - 0.37 \text{ g/mL}$ (Sarabandi *et al.*, 2018).

8.5 PRUEBA DE DISOLUCIÓN

La prueba de disolución mide la velocidad de reconstitución (o reintegración) de polvos secados por aspersion en emulsión. Se expresa como el tiempo tomado por el polvo para reintegrarse completamente en el agua con ayuda de un vortex (Quek *et al.*, 2007).

En este estudio, una vez determinadas las pruebas de disolución, las microcápsulas con proteína de suero de leche mostraron un valor de 16.71 s, mientras que las microcápsulas con proteína de chícharo arrojaron un valor de disolución de 45.01 s.

En el caso de las microcápsulas con proteína de suero de leche, el tiempo de disolución fue bajo y en el caso de las microcápsulas con proteína de chícharo se obtuvieron tiempos de

disolución más prolongados. Estos resultados se muestran contradictorios a lo que dice la literatura, ya que un mayor contenido de humedad está asociado con una rápida disolución y según los resultados obtenidos de contenidos de humedad, las microcápsulas con proteína de chícharo tuvieron que reconstituirse en un menor tiempo debido a su mayor contenido de humedad en comparación con las microcápsulas con proteína de suero de leche.

Este comportamiento pudo presentarse por diversos factores, entre ellos tamaños de partícula que impidan la difusión del agua dentro de la misma y así evitar dar paso a la disolución. Otro comportamiento que pudo presentarse para arrojar resultados contradictorios pudo ser debido a la temperatura (al incrementar la temperatura del flujo de aire de entrada se forma una capa seca sobre cada gota asperjada y con ello disminuye el contenido de humedad) y caudal de aire de secado (la disminución del caudal de aire de secado puede influenciar la formación de aglomerados que se comportan como polvos insolubles).

Resultados homólogos fueron obtenidos por Quek *et al.*, 2007 quienes registraron tiempos de disolución en un intervalo de ~ 17 – 30 s en sistemas de maltrodextrina a diversas concentraciones para encapsular jugo de sandía.

8.6 ÍNDICE DE COMPRESIBILIDAD

El índice de compresibilidad para ambas formulaciones de microcápsulas obtuvieron valores de 16.66 %. Ambos polvos pueden ser considerados como en un rango justo o exacto de compresibilidad, según los parámetros establecidos por Goyal *et al.*, 2015. Un índice de compresibilidad con un valor de 15% nos indica que nos encontramos ante un polvo con buena capacidad de flujo (Shishir *et al.*, 2014).

Además, según Kalegowda *et al.*, 2017 y Hoyos-Leyva *et al.*, 2018 un índice de compresibilidad de Carr en el intervalo de 12 al 18% nos indica las características deseables de empaque de un polvo (menos cohesividad, buena compresibilidad y capacidad de flujo).

Por lo tanto, tomando en cuenta las consideraciones anteriormente descritas, podemos decir que ambas formulaciones de polvos cuentan con buenas características de fluidez además de

que pueden ser compresibles, lo cual les brinda los atributos necesarios para ser utilizados en diversas aplicaciones.

Resultados muy parecidos fueron observados por Premi & Sharma, 2017 en sistemas compuestos de mezclas de maltodextrina, goma arábica y proteína de suero de leche concentrada para encapsular aceite de moringa, donde obtuvieron valores de compresibilidad de Carr en el intervalo de $\sim 13 - 27 \%$.

8.7 RADIO DE HAUSNER

Además del índice de Carr anteriormente descrito, la relación de Hausner también representa una medida indirecta que se usa para predecir las propiedades de flujo de los polvos. Un radio de Hausner < 1.25 indica que un polvo fluye libremente, mientras que un radio de Hausner > 1.25 indica una fluidez pobre del polvo (Parthasarathi & Anandharamakrishnan, 2016).

Por si fuera poco, es considerado que un polvo con un índice de Hausner entre 1.35 y 1.61 indica además de un flujo pobre, viscosidad con cierta propiedad cohesiva (Ortiz-Basurto *et al.*, 2017).

En este estudio se obtuvieron valores de índice de radio de Hausner de 1.2 tanto para las microcápsulas con proteína de suero de leche como para las microcápsulas con proteína de chícharo. En ambos casos, los resultados obtenidos se encuentran en el límite considerado como flujo libre de los polvos y tomando en cuenta que se alcanzaron índices de compresibilidad considerados como flujo exacto, podemos decir que los polvos tienen propiedades justas de fluidez, aunque podrían presentar pequeños problemas de viscosidad o cohesividad.

Se lograron resultados semejantes por Domian *et al.*, 2015 en sistemas compuestos de distintas preparaciones de almidones y trehalosa de maíz para encapsular aceite de colza enriquecido con aceite de linaza y brotes de trigo, donde se registraron valores de radio de Hausner en el intervalo de $\sim 1-1.6$.

8.8 DISPERSABILIDAD

La dispersabilidad es la capacidad del polvo para humedecerse sin la formación de grumos secos en el agua (Martinelli *et al.*, 2007). La dispersabilidad puede ser importante en la fabricación o en una aplicación final cuando se trata de una reconstitución. La capacidad de dispersión depende principalmente del tamaño de las partículas, la densidad y la matriz portadora utilizada (Reineccius, 2004; Costa *et al.*, 2015).

Para este estudio se obtuvieron valores pequeños de dispersabilidad, registrando 11.05% para las microcápsulas con proteína de suero de leche y 23.24% para las microcápsulas con proteína de chícharo.

Las diferencias entre los valores obtenidos de dispersabilidad para ambas formulaciones pudieron deberse a los diversos contenidos de humedad, a su capacidad de disolución anteriormente discutida o a las diferentes características de cada material de pared.

Resultados similares fueron observados por Costa *et al.*, 2015 quienes obtuvieron valores de dispersabilidad en un intervalo de ~ 7-39% en diversos sistemas de aislado de proteína de chícharo o concentrado de proteína de chícharo solos o en mezclas con diversas proporciones de maltodextrina y carboximetilcelulosa para encapsular ácido linoleico conjugado.

8.9 DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA

El control del tamaño de partícula durante el proceso de secado por aspersion es importante debido a su gran efecto sobre la apariencia, fluidez y dispersabilidad de las partículas (Botrel *et al.*, 2014).

La presencia de partículas grandes (por encima de 100 μm) se puede explicar por un proceso de aglomeración (Cortés-Camargo *et al.*, 2017).

En este estudio las microcápsulas con proteína de suero de leche y las microcápsulas con proteína de chícharo obtuvieron diámetros medios de partícula D [4,3] de 25.5 μm y 25.1 μm respectivamente.

Como puede observarse en la figura 2 ambas formulaciones de microcápsulas presentan un comportamiento semejante, a diferencia de que la curva referente a la proteína de suero de leche, nos muestra volúmenes más grandes. Se puede considerar que las distribuciones de los datos graficados presentan tendencias casi unimodales pues las curvas presentan dos elevaciones que podrían considerarse casi como frecuencia absoluta en los valores, pero es necesario tomar en cuenta los ligeros segundos picos que podrían representar un comportamiento de una distribución bimodal de los datos.

Así mismo, según la aseveración de Cortés-Camargo *et al.*, 2017, podemos afirmar que las microcápsulas no presentan problemas de aglomeración, lo cual nos indica que no se afectan los rubros de apariencia, tamaño de partícula real fluidez y dispersabilidad de las partículas.

Cortés-Camargo *et al.*, 2017 observaron un comportamiento semejante en sistemas de goma de mezquite en combinación con nopal para encapsular aceite esencial de limón, donde se registraron valores de diámetro medio de partículas en el intervalo de ~ 11-45 μm .

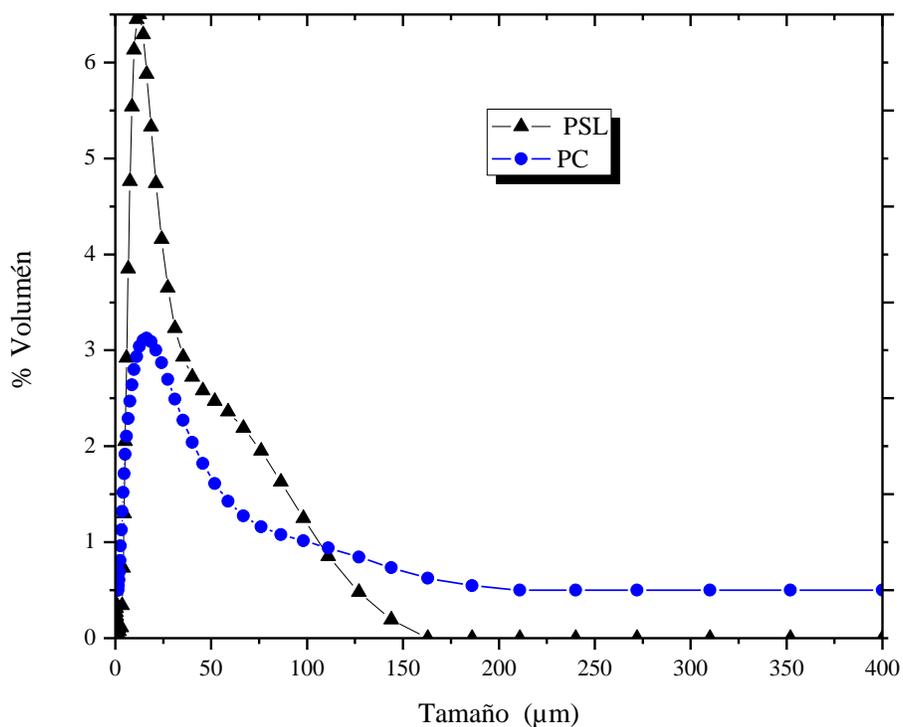


Fig. 2 Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas con proteína de suero de leche y proteína de chícharo.

8.10 EFICIENCIA DE ENCAPSULACIÓN

La eficiencia de la microencapsulación es un parámetro importante cuando un producto será secado por aspersión. Para evaluar los parámetros que afectan la eficiencia de la microencapsulación, primero se determinan las cantidades de aceite superficial y aceite total de las microcápsulas.

Para una mayor eficiencia de encapsulación, la masa del aceite superficial (o aceite libre) debe ser lo más baja posible y la masa del aceite total (o aceite encapsulado) debe ser lo más alta posible (Kaushik *et al.*, 2015b).

Un parámetro considerado normalmente como crítico es el aceite superficial (SO, por sus siglas en inglés); que representa la fracción de aceite no encapsulado en contacto con agentes pro-oxidantes presentes en el medio ambiente. Se reconoce que un alto porcentaje de SO provoca la oxidación de lípidos (Menin *et al.*, 2018).

El aceite superficial puede inducir rancidez incluso cuando el oxígeno no se difunde en el interior para causar la oxidación del núcleo (Wang *et al.*, 2018).

Además, la presencia de aceite en la superficie de la microcápsula tiene un impacto negativo en su estabilidad oxidativa y reduce su vida útil. La disminución del aceite de la superficie es importante para la microencapsulación, ya que este aceite se oxida significativamente más rápido que el aceite encapsulado (Yildiz *et al.*, 2018).

En esta investigación las microcápsulas con proteína de suero de leche obtuvieron valores de aceite superficial de 12.79%, lo que nos lleva a suponer una mayor resistencia a la oxidación y un tiempo de vida útil prolongado; mientras que las microcápsulas con proteína de chícharo obtuvieron valores de aceite superficial del 35.31%, que a su vez puede representar una tendencia a una vida útil menor ya que al tener un porcentaje mayor de aceite superficial hay una mayor probabilidad de interacción con factores ambientales que propicien oxidación.

Por otra parte, las microcápsulas con proteína de suero de leche alcanzaron una eficiencia de encapsulamiento de 86.85%, mientras que las microcápsulas con proteína de chícharo alcanzaron una eficiencia de encapsulamiento de 64.12%.

Estos resultados concuerdan con lo descrito anteriormente, ya que las microcápsulas con proteína de suero de leche presentan un contenido de aceite superficial menor y por lo tanto una eficiencia de encapsulamiento mayor. Ocurre lo contrario con las microcápsulas con proteína de chícharo (mayor contenido de aceite superficial y menor eficiencia de encapsulamiento) lo que nos lleva a tomar en cuenta los cambios significativos en la eficiencia según el porcentaje de aceite superficial que contengan las microcápsulas.

Resultados semejantes fueron observados por Shen & Quek, 2014 y por Mohammed *et al.*, 2017 en sistemas compuestos de mezclas de caseinato de sodio, prominto soluble en fibra de maíz y aislado de proteína de suero de leche para encapsular aceite de girasol y astaxantina en donde se reportaron eficiencias de encapsulación en un intervalo de ~ 63-95 % y en sistemas de caseinato de sodio y maltodextrina para encapsular aceite de nigella sativa donde se alcanzaron eficiencias de encapsulación en un intervalo de ~ 33-93% respectivamente.

8.11 OXIDACIÓN LIPÍDICA POR VALOR DE PERÓXIDO

El valor de peróxido indica el grado de oxidación y formación de productos de oxidación primaria. Los productos de oxidación, particularmente los hidroperóxidos, son incoloros e inodoros y no producen aromas extraños. Sin embargo, estos productos son altamente tóxicos y reducen la biodisponibilidad de los ácidos grasos (Goyal *et al.*, 2015).

Las figuras 3, 4 y 5 muestran las cinéticas por valor de peróxido de la mezcla de aceites de chía y ajonjolí sin encapsular (AC-AA), de la mezcla de aceites encapsulada con proteína de suero de leche (PSL) y de la mezcla de aceites encapsulada con proteína de chícharo (PC) durante 6 semanas de almacenamiento a 25°C, 35°C y 40°C respectivamente. Los resultados de las cinéticas por valor de peróxido de la mezcla de aceites se muestran en las tablas 1, 2 y 3 ubicadas en el apartado de anexos.

Analizando únicamente la mezcla de aceites se corrobora que efectivamente es lábil ante factores ambientales debido a las altas oxidaciones mostradas en comparación con los microencapsulados, dicho comportamiento se acentúa conforme aumenta la temperatura y el tiempo de almacenamiento.

A las condiciones de 25 °C la concentración inicial de hidroperóxidos (HP) para la mezcla de aceites fue de 7.26 meq de HP/ kg de aceite, alcanzado un valor máximo de 30.03 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana de almacenamiento. A los 35 °C la concentración inicial de HP fue de 6.51 meq de HP/ kg de aceite y un valor de 23.67 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana. Finalmente, a los 40 °C se obtuvo una concentración inicial de HP de 6.95 meq de HP/ kg de aceite y se alcanzó un valor máximo de 24.60 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana de almacenamiento.

Para el sistema de la mezcla de aceites encapsulada con PSL, a las condiciones de 25 °C la concentración inicial de HP fue de 6.88 meq de HP/ kg de aceite mientras que para la sexta semana de almacenamiento fue de 8.95 meq de HP/ kg de aceite. A los 35 °C su concentración inicial de HP fue de 6.30 meq de HP/ kg de aceite y alcanzo un valor de 8.95 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana de almacenamiento. Por último, a los 40 °C la concentración inicial de HP fue de 6.18 meq de HP/ kg de aceite y tuvo un valor máximo de 7.86 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana.

Para el sistema de la mezcla de aceites encapsulada con PC, a las condiciones de 25 °C tuvieron un valor peróxido en el tiempo cero de 4.45 meq de HP/ kg de aceite y para la sexta semana mostraron un valor de 7.35 meq de HP/ kg de aceite. A los 35 °C se tuvo un valor inicial de HP de 5.85 meq de HP/ kg de aceite y un valor final de 8.21 meq de HP/ kg de aceite. Finalmente, a los 40 °C se obtuvo un valor inicial de HP de 5.48 meq de HP/ kg de aceite y se alcanzó un valor máximo de 7.86 meq de HP/ kg de aceite para la sexta semana de almacenamiento.

Hablando de los resultados obtenidos, podemos encontrar una disminución en los valores de formación de HP a lo largo del tiempo de análisis. Este comportamiento se debe a que la reacción de oxidación comienza a formar productos secundarios tales como aldehídos, cetonas, alcoholes, entre otros (Labuza & Dugan, 1971; Lewis-McCrea & Lall, 2007; Menin *et al.*, 2018); por lo cual se ve disminuida la formación de HP y ello nos conduce a una disminución en los picos máximos de los gráficos obtenidos.

Como también puede observarse de los gráficos y tomando en cuenta el análisis previo de la mezcla de aceites sin encapsular, los dos sistemas microencapsulados tuvieron un

comportamiento semejante ya que a lo largo de las seis semanas de almacenamiento los valores de HP formados oscilaron en un intervalo de ~4-10 meq de HP/ kg de aceite; demostrando así que ambas formulaciones son efectivas para reducir la oxidación de la mezcla de aceites. Sin embargo, podemos decir que el sistema microencapsulado con PC brinda un mayor nivel de protección a la mezcla de aceites, lo cual se puede verificar al encontrar niveles de HP un poco más bajos en comparación con el sistema microencapsulado con PSL.

Resultados análogos fueron encontrados por Ixtaina *et al.*, 2015 en un sistema compuesto por caseinato de sodio y lactosa para encapsular aceite de chía, donde registraron microencapsulados con valores peróxido menores a 10 meq /kg de aceite.

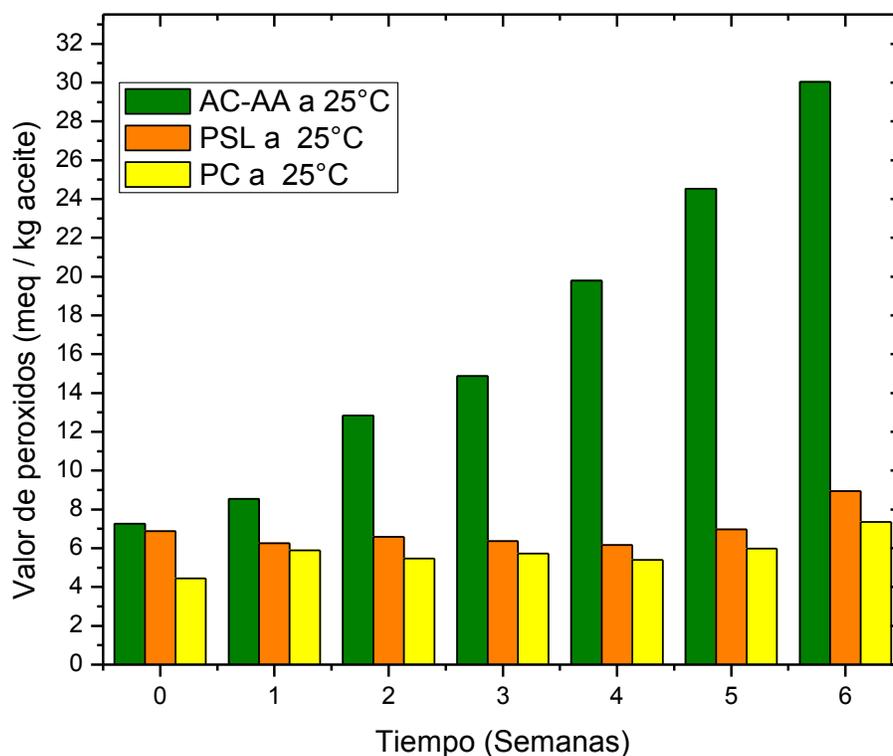


Fig. 3 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 25 °C.

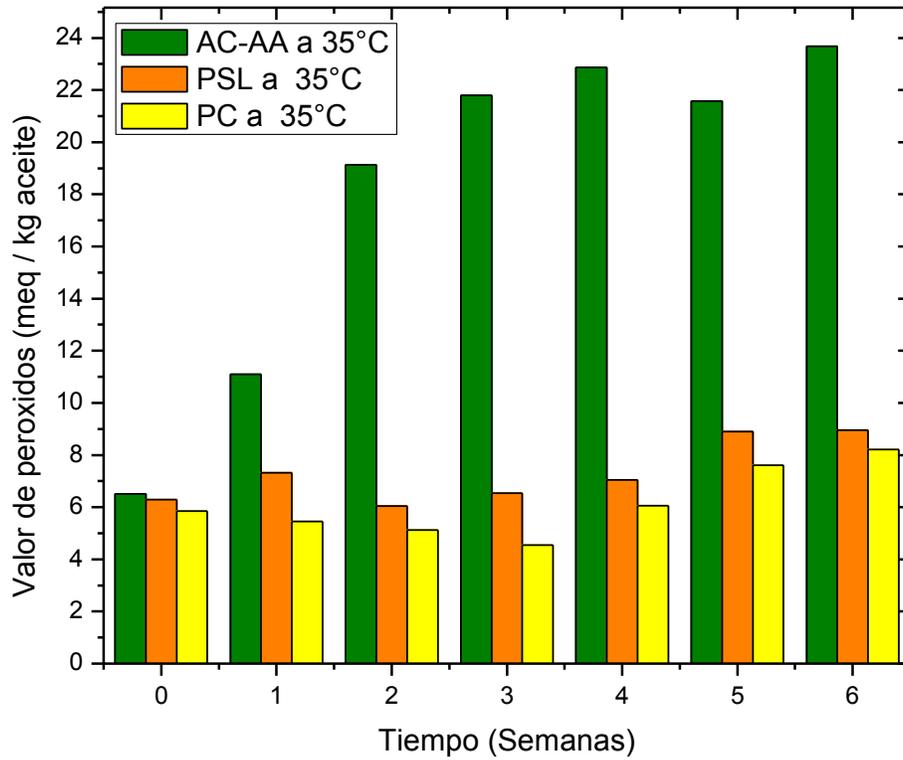


Fig. 4 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 35 °C.

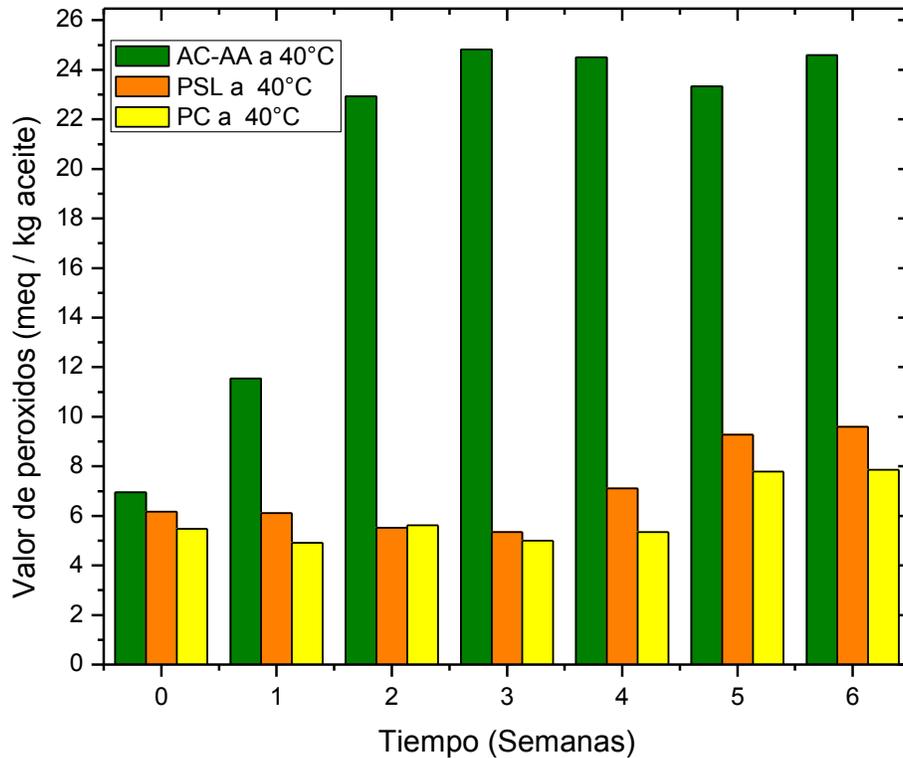


Fig. 5 Cinética de oxidación de la mezcla de AC-AA sin encapsular, de AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche y del AC-AA encapsulado con proteína de suero de leche, en almacenamiento por 6 semanas a 40 °C.

8.12 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DE TRANSFORMADA DE FOURIER

La espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR) proporciona información sobre el enlace químico o la estructura molecular de los materiales a través de la medición de la absorbancia vibracional de grupos funcionales y enlaces altamente polares (Shi *et al.*, 2010).

Las figuras 6 y 7 muestran los espectros de IR de las microcápsulas obtenidas por secado por aspersión para los sistemas compuestos con PSL y PC respectivamente.

Ambos espectros exhibieron bandas muy semejantes con pequeñas diferencias posiblemente atribuibles a la naturaleza del material de pared utilizado en cada sistema.

Las similitudes de ambos espectros se encuentran en las bandas de 1072 y 1073 cm^{-1} correspondientes a la flexión de enlaces CN, la banda de 1155 cm^{-1} correspondiente a la tensión y flexión del enlace C-O, la banda de 1237 cm^{-1} que se encuentra en el intervalo de 1300-1230 cm^{-1} correspondiente a una amida III, las bandas 1535 y 1536 cm^{-1} que podrían ser debido a enlaces CO, CN, y NH presentes en las proteínas (con bandas de $\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$), la banda de 1630 cm^{-1} correspondiente a la tensión del enlace C=O, las bandas de 2852 y 2853 cm^{-1} que posiblemente correspondan a la presencia de enlaces CH en las proteínas (ya que se encuentran muy cercanas al rango de 2910-2855 cm^{-1}) y finalmente el enlace 3277 cm^{-1} del cual posiblemente se trata de un enlace N-H (ya que está cercano al número de onda de 3300 cm^{-1}).

Se hallaron algunas diferencias entre los espectros FT-IR, las cuales se mencionan a continuación. Para el caso del espectro con PSL se obtuvo un pico de 1389 cm^{-1} con posible correspondencia a la flexión del enlace CH_3 (ya que este presenta picos en 1380 cm^{-1}), un pico de 1743 cm^{-1} con correspondencia a la tensión del enlace C=O (ya que está en el intervalo de 1750-1720 cm^{-1}), un pico de 2922 cm^{-1} con correspondencia a la presencia de alcanos del tipo $-\text{CH}_2-$ (pues pertenece al intervalo de 2935-2915 cm^{-1}) y finalmente un pico de 3067 cm^{-1} con correspondencia a la tensión del enlace N-H (pues se encuentra en el intervalo de 3100-3030 cm^{-1}).

En el caso del espectro con PC se obtuvo un pico de 1396 cm^{-1} con posible tendencia a una flexión de un enlace del tipo CH_3 (ya que este presenta picos en 1380 cm^{-1}), un pico de 1452 cm^{-1} con flexión simétrica o asimétrica del enlace CH_3 (ya que está en el intervalo de 1460-1440 cm^{-1}), un pico de 1751 cm^{-1} con correspondencia a la tensión del enlace C=O (ya que es muy cercano al rango de 1750-1720 cm^{-1}) y finalmente un pico de 2928 cm^{-1} con posible correspondencia a la presencia de alcanos del tipo $-\text{CH}_2-$ (pues pertenece al rango de 2935-2915 cm^{-1}).

Es importante mencionar que los espectros obtenidos para ambos sistemas de microcápsulas mostraron la presencia de grupos funcionales característicos según la literatura, pues a pesar de exhibir ligeras modificaciones, se obtuvieron bandas con valores muy cercanos a los requeridos.

Resultados muy semejantes fueron observados por Choi y Chang, 2018 y Jansen-Alves *et al.*, 2019 en sistemas compuestos por concentrado de proteína de suero de leche y complejos de concentrado de proteína de suero de leche con polisacárido péptico para encapsular ácido gálico y en diversos sistemas compuestos por concentrado de proteína de chícharo para encapsular diversas concentraciones de extracto de propóleo, respectivamente.

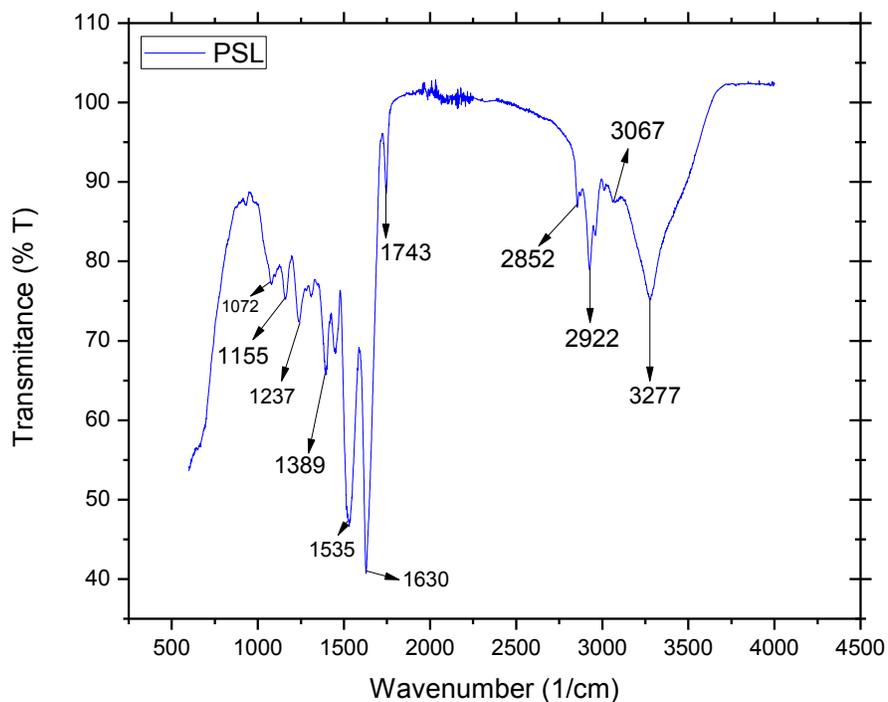


Fig. 6 Espectro FT-IR para el sistema con PSL

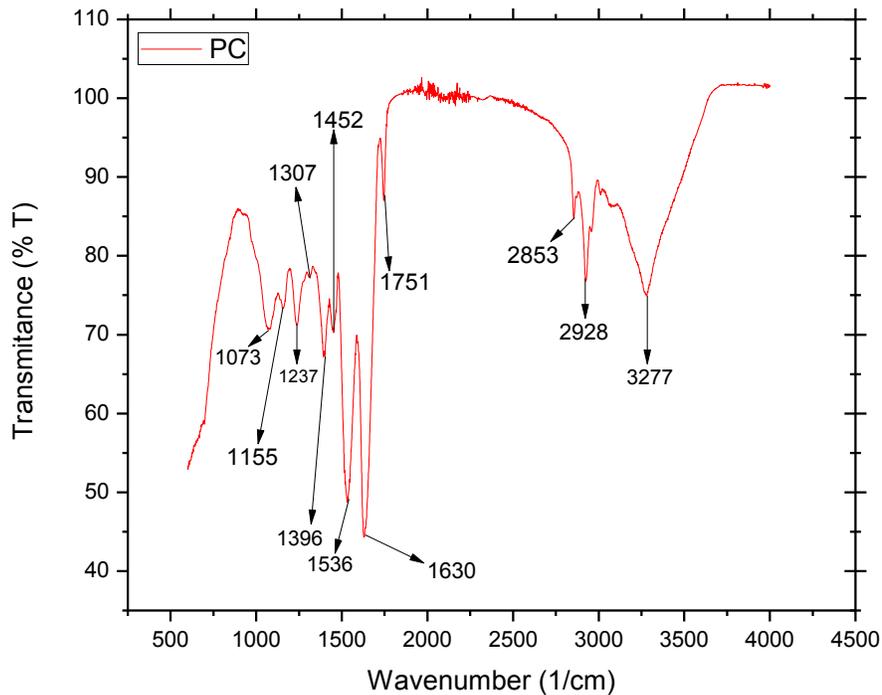


Fig. 7 Espectro FT-IR para el sistema con PC

8.13 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos X es una técnica común que se utiliza para confirmar el estado cristalino-amorfo de los productos secos en forma de polvo (Caparino *et al.*, 2012).

La presencia de picos difusos y grandes en un difractograma de rayos X perteneciente a un material amorfo se debe al hecho de que, en el estado amorfo, las moléculas producen picos desordenados y dispersos, mientras que los materiales cristalinos producen picos puntiagudos y definidos, ya que se presentan en un estado altamente ordenado (Silva *et al.*, 2013).

Las muestras obtenidas por secado por aspersión generalmente exhiben estructuras amorfas y es más probable que se generen productos amorfos cuando se aspersan mezclas complejas (Botrel *et al.*, 2014).

Como podemos observar en las figuras 8 y 9, el comportamiento de las microcápsulas con proteína de suero de leche es semejante al comportamiento de las microcápsulas con proteína de chícharo, ya que en ambos difractogramas se muestran dos picos que resultan ser poco puntiagudos y definidos.

Estos resultados nos llevan a suponer que ambas formulaciones de microcápsulas presentan una estructura amorfa, debido a la ausencia de cristalinidad demostrada por la ausencia de picos definidos, lo que a su vez podría resultar favorable, ya que una estructura cristalina tiene un impacto negativo en las propiedades y estabilidad de los polvos pues puede conducir a un apelmazamiento y a la liberación de los componentes encapsulados en el núcleo.

Resultados homólogos fueron obtenidos por Silva *et al.*, 2013 en sistemas compuestos por mezclas de polímeros como alginato, goma arábica, maltodextrina y carboximetilcelulosa para contener aceite de oliva y jugo de limón, donde presentaron un difractograma con características de estructuras amorfas.

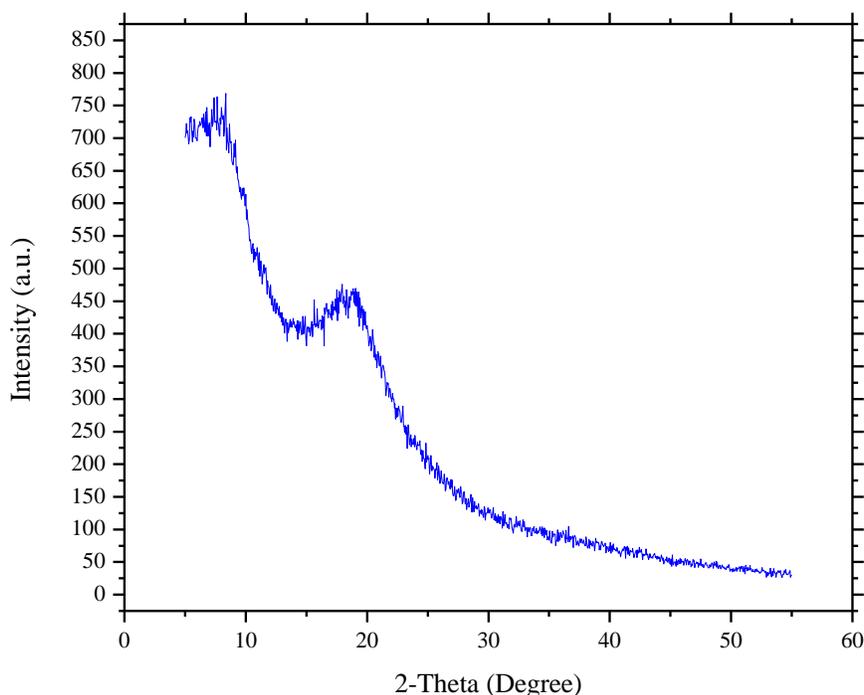


Fig. 8 Difractograma de rayos equis de las microcápsulas con proteína de suero de leche

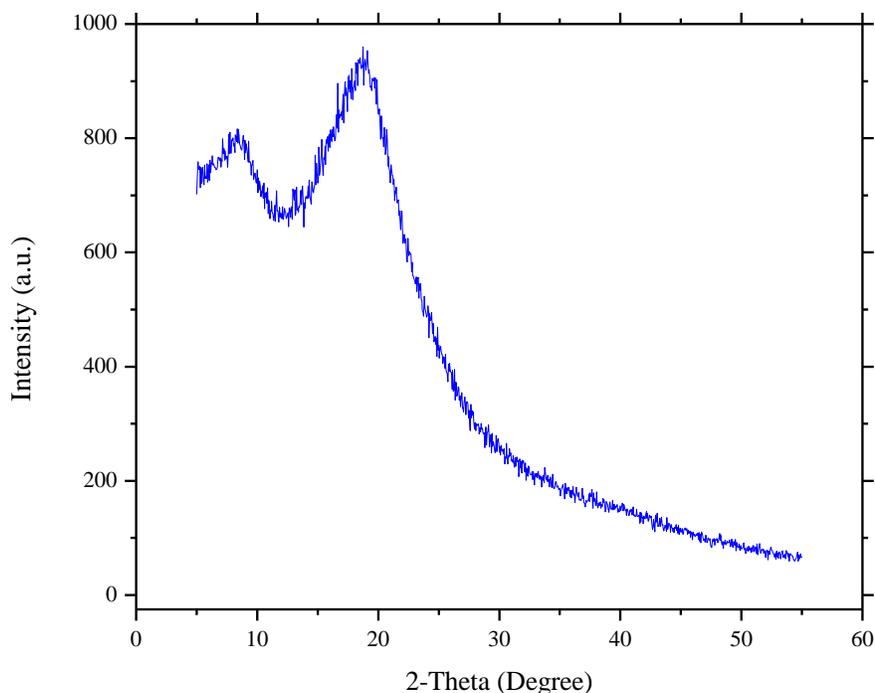


Fig. 9 Difractograma de rayos equis de las microcápsulas con proteína de chícharo

8.14 ANÁLISIS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La microscopía electrónica de barrido es una técnica comúnmente utilizada para la proyección de imágenes y poder caracterizar microestructuras (Goyal *et al.*, 2015). En las últimas décadas, la microestructura de los polvos se ha estudiado exhaustivamente, considerando que muchos fenómenos clave que controlan las propiedades de los polvos ocurren por debajo de la escala de 100 μm (Bhusari *et al.*, 2014).

La morfología de las microcápsulas influyen en propiedades tales como: densidad aparente, resistencia mecánica, grado de hinchamiento, protección y liberación de los biocomponentes encapsulados (Dima *et al.*, 2016).

En las figuras 10 y 11 de este estudio se muestran las micrografías de las microcápsulas con PSL y PC respectivamente. En ellas se pueden apreciar que en ambas formulaciones pudieron obtenerse microcápsulas, debido a la formación aparente de esferas.

Otras características similares observadas, es la ausencia de aglomeración, la presencia de algunas abolladuras en la superficie de las esferas y la formación de microcápsulas sin rupturas o grietas; lo cual es idóneo para proporcionar una mayor retención del material del núcleo y con ello brindarle una mayor protección.

También las micrografías indicaron una mayor esfericidad y una mayor estructura para el caso de los polvos con PSL, mientras que las micrografías de la formulación compuesta con PC indicaron una morfología semiesférica amorfa, aunque este comportamiento puede ser atribuible a las características propias de cada proteína utilizada como agente encapsulaste.

Los resultados anteriormente discutidos son congruentes con los hallazgos encontrados por Li *et al.*, 2019 en sistemas compuestos por diversas combinaciones de caseinato de sodio, concentrado de proteína de leche, concentrado de proteína de suero de leche, aislado de proteína de soya y aislado de proteína de chícharo utilizados como materiales de pared para encapsular aceite de soya y vitamina A.

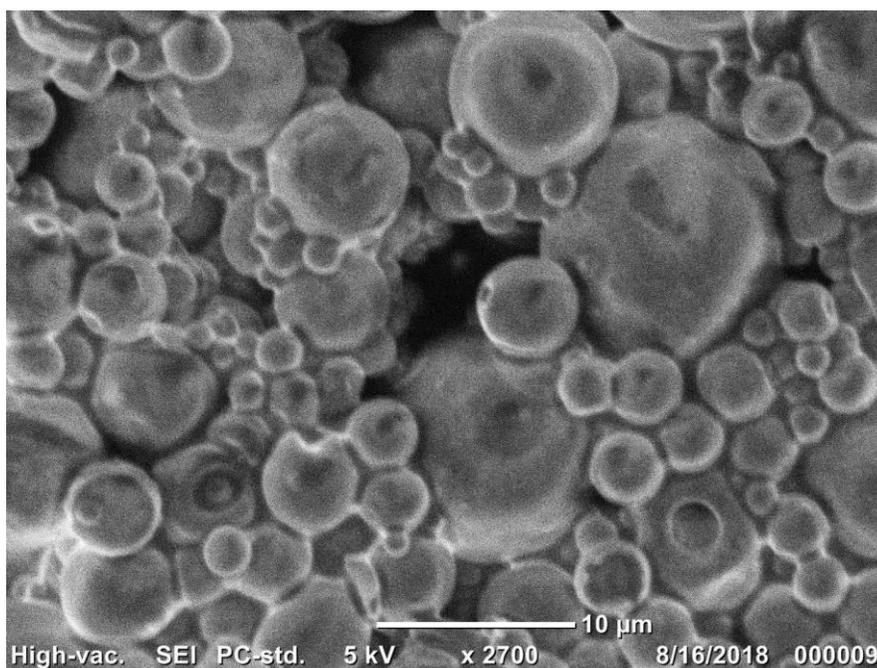


Fig. 10 Micrografías de la topología superficial de las microcápsulas con PSL

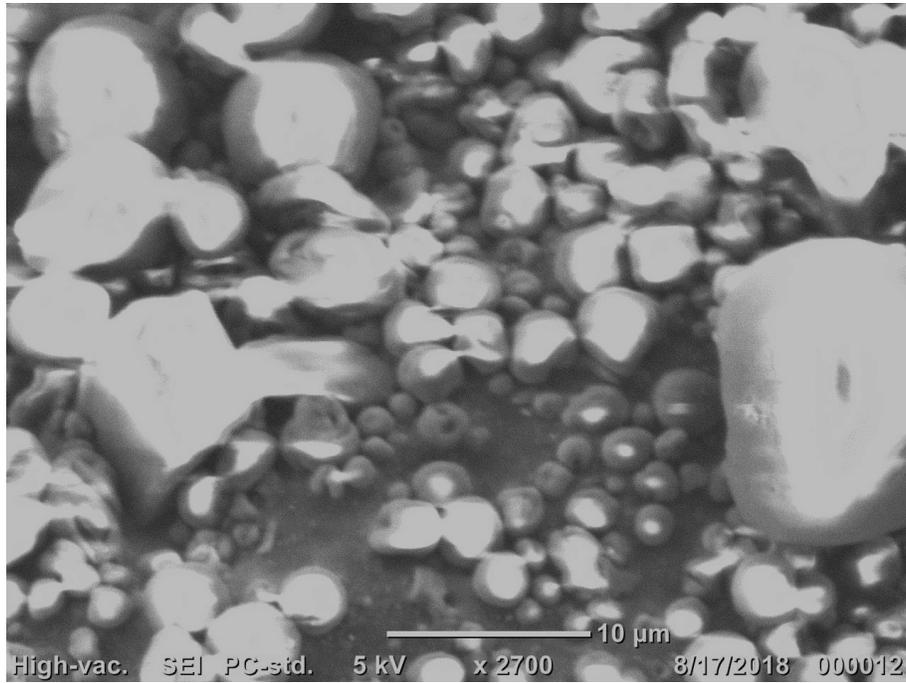


Fig. 11 Micrografías de la topología superficial de las microcápsulas con PC

9 CONCLUSIONES

El desarrollo de microcápsulas con biopolímeros de origen animal y de origen vegetal permitió identificar que ambas proteínas (PSL y PC) pueden ser empleadas como agentes encapsulantes capaces de formar microcápsulas, aunque el uso de proteínas de origen diverso conllevo a obtener ciertas características diferentes.

Cuando se ocupó la proteína de suero de leche se obtuvo un ángulo de reposo de 41.75° , un índice de compresibilidad de Carr de 16.66 % y un radio de Hausner de 1.2; mientras que cuando se ocupó la proteína de chícharo se obtuvo un ángulo de reposo de 50.07° , un índice de compresibilidad de Carr de 16.66 % y un radio de Hausner de 1.2. Sin embargo, a pesar de que estos parámetros fueron muy similares para ambas formulaciones, podemos argumentar que las microcápsulas compuestas con PSL tienen un comportamiento más a fin con un flujo libre, mientras que las microcápsulas compuestas con PC podrían presentar problemas de fluidez afectando así su transporte, envasado y comercialización.

Las dificultades con la fluidez de los polvos fueron corroboradas cuando se analizaron los contenidos de humedad obtenidos (3.64% para la formulación con PSL y 5.14% para la formulación con PC), ya que de la literatura consultada se supo que la fluidez de un polvo se puede ver afectada con factores físicos como altos contenidos de humedad.

De los resultados obtenidos de la formación de peróxidos se pudo identificar que ambos polímeros son aptos para la protección de los aceites lábiles ante factores ambientales, retardando la oxidación de la mezcla de aceites y prolongando la vida útil de los microencapsulados de manera análoga a través del tiempo. Sin embargo, la formulación compuesta con PSL tiene una mayor capacidad para retener la mezcla de aceites en el núcleo esto en base a una eficiencia de encapsulamiento mayor (86.85 %) respecto a la eficiencia de encapsulamiento obtenida en la formulación compuesta con PC (64.12 %).

Los tamaños de partícula de los microencapsulados no tuvieron diferencias significativas. Las imágenes de la estructura externa de las microcápsulas de ambos sistemas obtenidas por medio del análisis de microscopia electrónica de barrido (SEM), demostró que en ambas

formulaciones se logró obtener microcápsulas del tipo matriz, donde la mezcla de aceites se encontró en el interior de las matrices poliméricas, lo cual fue parte de los objetivos.

Las microcápsulas con PSL tuvieron una morfología esférica y estructurada, mientras que las microcápsulas con PC fueron semiesféricas amorfas. A pesar de las características anteriormente descritas, se obtuvieron sistemas con microcápsulas semejantes, es decir, no presentaron problemas de ruptura o aglomeración, lo cual favorece a retardar fenómenos de difusión al interior y al exterior de las microcápsulas.

10 BIBLIOGRAFÍA

Aghbashlo, M., Mobli, H., Rafiee, S., & Madadlou, A. (2012). Optimization of emulsification procedure for mutual maximizing the encapsulation and exergy efficiencies of fish oil microencapsulation. *Powder technology*, 225, 107-117.

Aldana, A. S., Sandoval, E. R., & Aponte, A. A. (2011). Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos. *Ingeniería y Competitividad*, 5(2), 73-83.

Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramirez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. *Journal of Food Engineering*, 209, 68-75.

AOAC, 2006. Official methods of analysis of AOAC International, 18th ed., Vol. 534. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA. Retrieved from <http://www.eoma.aoac.org/>

Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72, 1079-1081.

Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016a). Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.

Bakry, A. M., Fang, Z., Ni, Y., Cheng, H., Chen, Y. Q., & Liang, L. (2016b). Stability of tuna oil and tuna oil/peppermint oil blend microencapsulated using whey protein isolate in combination with carboxymethyl cellulose or pullulan. *Food Hydrocolloids*, 60, 559-571.

Bhusari, S. N., Muzaffar, K., & Kumar, P. (2014). Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology*, 266, 354-364.

Botrel, D. A., de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., & Yoshida, M. I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Research International*, 62, 344-352.

Cabezas-Zábala, C. C., Hernández-Torres, B. C., & Vargas-Zarate, M. (2016). Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial. *Revista de la Facultad de Medicina*, 64(4), 761-768.

Calva-Estrada, S. J., Mendoza, M. R., García, O., Jiménez-Fernández, V. M., & Jiménez, M. (2018). Microencapsulation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) and powder characterization. *Powder Technology*, 323, 416-423.

Caparino, O. A., Tang, J., Nindo, C. I., Sablani, S. S., Powers, J. R., & Fellman, J. K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 135-148.

Catalán, J. S., Agüero, S. D., & García, J. T. (2015). Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 32(3), 1362-1375.

Chew, S. C., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2018). Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. *Journal of Food Engineering*, 237, 78-85.

Choi, Y. R., & Chang, Y. H. (2018). Microencapsulation of gallic acid through the complex of whey protein concentrate-pectic polysaccharide extracted from *Ulmus davidiana*. *Food Hydrocolloids*, 85, 222-228.

Cortés-Camargo, S., Cruz-Olivares, J., Barragán-Huerta, B. E., Dublán-García, O., Román-Guerrero, A., & Pérez-Alonso, C. (2017). Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil: Evaluation of mixtures of mesquite gum–nopal mucilage as new wall materials. *Journal of microencapsulation*, 34(4), 395-407.

Cortez Cortez, D. G., & Sánchez Carbajal, E. E. (2017). Evaluación de la estabilidad oxidativa de la mezcla de aceites de Chia (*Salvia hispánica* L.) y Ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

Costa, A. M., Nunes, J. C., Lima, B. N. B., Pedrosa, C., Calado, V., Torres, A. G., & Pierucci, A. P. T. R. (2015). Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein. *Food chemistry*, *168*, 157-166.

Dima, C., Pătrașcu, L., Cantaragiu, A., Alexe, P., & Dima, Ș. (2016). The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. *Food chemistry*, *195*, 39-48.

Domian, E., Brynda-Kopytowska, A., Cenkier, J., & Świrydow, E. (2015). Selected properties of microencapsulated oil powders with commercial preparations of maize OSA starch and trehalose. *Journal of Food Engineering*, *152*, 72-84.

Encina, C., Vergara, C., Giménez, B., Oyarzún-Ampuero, F., & Robert, P. (2016). Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. *Trends in Food Science & Technology*, *56*, 46-60.

Escalona-García, L. A., Pedroza-Islas, R., Natividad, R., Rodríguez-Huezo, M. E., Carrillo-Navas, H., & Pérez-Alonso, C. (2016). Oxidation kinetics and thermodynamic analysis of chia oil microencapsulated in a whey protein concentrate-polysaccharide matrix. *Journal of Food Engineering*, *175*, 93-103.

Fuentes-Ortega, T., Martínez-Vargas, S. L., Cortés-Camargo, S., Guadarrama-Lezama, A. Y., Gallardo-Rivera, R., Baeza-Jiménez, R., & ALONSO, C. P. (2017a). OPTIMIZATION OF MICROENCAPSULATION PROCESS OF SESAME OIL (*Sesamum indica* L.) USING A SURFACE RESPONSE METHODOLOGY. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *16*(2), 477-490.

Fuentes-Ortega, T., Martínez-Vargas, S. L., Cortés-Camargo, S., Guadarrama-Lezama, A. Y., Gallardo-Rivera, R., Baeza-Jiménez, R., & Pérez-Alonso, C. (2017b). Effects of the process variables of microencapsulation sesame oil (*Sesamum indica* L.) by spray drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *16*(2).

García-Ceja, A., & López Malo, A. (2012). Biopolímeros utilizados en la encapsulación. *Fundación Universidad de las Américas*, 12.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.

Goitia Funes, M. B., & Amurrio Derpic, D. (2016). Micro-encapsulación de aceite de chía. *Acta Nova*, 7(3), 289-302.

Goyal, A., Sharma, V., Sihag, M. K., Tomar, S. K., Arora, S., Sabikhi, L., & Singh, A. K. (2015). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification. *Powder Technology*, 286, 527-537.

Hoyos-Leyva, J., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramirez, J. (2018). Potential of taro starch spherical aggregates as wall material for spray drying microencapsulation: Functional, physical and thermal properties. *International journal of biological macromolecules*, 120, 237-244.

Huertas, R. A. P. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63(2), 5669-5684.

Ishwarya, S. P., Anandharamkrishnan, C., & Stapley, A. G. (2015). Spray-freeze-drying: a novel process for the drying of foods and bioproducts. *Trends in Food Science & Technology*, 41(2), 161-181.

Ixtaina, V. Y., Julio, L. M., Wagner, J. R., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2015). Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. *Powder Technology*, 271, 26-34.

Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2012). Oxidative stability of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil: effect of antioxidants and storage conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(6), 1077-1090.

Jamekhorshid, A., Sadrameli, S. M., & Farid, M. (2014). A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 531-542.

Jansen-Alves, C., Maia, D. S., Krumreich, F. D., Crizel-Cardoso, M. M., Fioravante, J. B., da Silva, W. P., ... & Zambiasi, R. C. (2019). Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. *Food Hydrocolloids*, 87, 703-711.

Jindal, M., Kumar, V., Rana, V., & Tiwary, A. K. (2013). Exploring potential new gum source *Aegle marmelos* for food and pharmaceuticals: Physical, chemical and functional performance. *Industrial crops and products*, 45, 312-318.

Kaewmanee, T., Bagnasco, L., Benjakul, S., Lanteri, S., Morelli, C. F., Speranza, G., & Cosulich, M. E. (2014). Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food chemistry*, 148, 60-69.

Kalegowda, P., Chauhan, A. S., & Urs, S. M. N. (2017). *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage: Physico-chemical, rheological and functional behavior. *Carbohydrate polymers*, 157, 1057-1064. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.070>

Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2015a). Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. *Food Research International*, 72, 91-97.

Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2015b). Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of functional foods*, 19, 868-881.

Labuza, T. P., & Dugan, L. R. (1971). Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 2(3), 355-405.

Lewis-McCrea, L. M., & Lall, S. P. (2007). Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the development of skeletal abnormalities in juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 262(1), 142-155.

Li, X., Feng, Y., Ting, S., Jiang, J., & Liu, Y. (2019). Correlating emulsion properties to microencapsulation efficacy and nutrients retention in mixed proteins system. *Food Research International*, 115, 44-53.

López, A. X., Huerta, A. G., de la Cruz Torrez, E., Sangerman-Jarquín, D. M., de Rosas, G. O., & Arriaga, M. R. (2017). Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1619-1631.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, 41(1), 1-21.

Martinelli, L., Gabas, A. L., & Telis-Romero, J. (2007). Thermodynamic and quality properties of lemon juice powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Drying Technology*, 25(12), 2035-2045.

Menin, A., Zanoni, F., Vakarelova, M., Chignola, R., Donà, G., Rizzi, C., ... & Zoccatelli, G. (2018). Effects of microencapsulation by ionic gelation on the oxidative stability of flaxseed oil. *Food chemistry*, 269, 293-299.

Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Alhelli, A. M., & Hussin, A. S. M. (2017). Process conditions of spray drying microencapsulation of *Nigella sativa* oil. *Powder Technology*, 315, 1-14.

Montes, E. J. M., De Paula, C. D., & Ortega, F. (2007). Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*). *Temas agrarios*, 12(1), 5-12.

Niu, F., Niu, D., Zhang, H., Chang, C., Gu, L., Su, Y., & Yang, Y. (2016). Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion: Rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study. *Food Hydrocolloids*, 52, 607-614.

Onsaard, E., Putthanimon, J., Singthong, J., & Thammarutwasik, P. (2018). Oxidation stability of sesame oil encapsulated by spray drying. *International Food Research Journal*, 25(2).

Ortiz-Basurto, R. I., Rubio-Ibarra, M. E., Ragazzo-Sanchez, J. A., Beristain, C. I., & Jiménez-Fernández, M. (2017). Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation. *Carbohydrate polymers*, *175*, 603-609.

Özbek, Z. A., & Ergönül, P. G. (2017). A review on encapsulation of oils. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *13*(2), 293-309.

Parthasarathi, S., & Anandharamakrishnan, C. (2016). Enhancement of oral bioavailability of vitamin E by spray-freeze drying of whey protein microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, *100*, 469-476.

Peleg, M. (1977). Flowability of food powders and methods for its evaluation—a review. *Journal of Food Process Engineering*, *1*(4), 303-328.

Pérez-Alonso, C., Fabela-Morón, M. F., Guadarrama-Lezama, A. Y., Barrera-Pichardo, J. F., Alamilla-Beltrán, L., & Rodríguez-Huezo, M. E. (2009). Interrelationship between the structural features and rehydration properties of spray dried manzano chilli sauce microcapsules. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *8*(2), 187-196.

Pérez-Leonard, H., Bueno-García, G., Brizuela-Herrada, M. A., Tortoló-Cabañas, K., & Gastón-Peña, C. (2013). Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, *47*(1), 14-25.

Premi, M., & Sharma, H. K. (2017). Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. *International journal of biological macromolecules*, *105*, 1232-1240.

Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *46*(5), 386-392.

- Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2016). An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*, 13, 76-83.
- Reineccius, G. A. (2004). The spray drying of food flavors. *Drying Technology*, 22(6), 1289-1324.
- Reyna, E. N., Álvarez, G. M., Iliná, A., & Hernández, J. L. M. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (66), 64-70.
- Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E. J., & Pérez-Alonso, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 102-109.
- Rodríguez, Y. A., Rojas, A. F., & Rodríguez, S. (2016). ENCAPSULACIÓN DE PROBIÓTICOS PARA APLICACIONES ALIMENTICIAS. *Revista Biosalud*, 15(2), 106-115.
- Sandoval-Peraza, V. M., Cu-Cañetas, T., Peraza-Mercado, G., & Acereto-Escoffié, P. O. M. (2017). Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. *OmniaScience Monographs*.
- Sarabandi, K., Mahoonak, A. S., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: physicochemical, antioxidant and microstructure properties. *Journal of Food Engineering*.
- Shen, Q., & Quek, S. Y. (2014). Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 123, 165-171.
- Shi, G., Rao, L., Xie, Q., Li, J., Li, B., & Xiong, X. (2010). Characterization of yeast cells as a microencapsulation wall material by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 53(2), 289-295.

Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A., & Talib, R. A. (2014). Physical properties of spray-dried pink guava (*Psidium guajava*) powder. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 74-81.

Silva, K. A., Coelho, M. A. Z., Calado, V. M., & Rocha-Leão, M. H. (2013). Olive oil and lemon salad dressing microencapsulated by freeze-drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 569-574.

Villena, M. M., Hernández, M. M., Lara, V. G., & Martínez, M. R. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica*, 50(1), 43-50.

Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2018). Highly stable spray dried tuna oil powders encapsulated in double shells of whey protein isolate-agar gum and gellan gum complex coacervates. *Powder technology*.

Xu-Yan, D., Ping-Ping, L., Fang, W., Mu-lan, J., Ying-Zhong, Z., Guang-Ming, L., ... & Yuan-Di, Z. (2012). The impact of processing on the profile of volatile compounds in sesame oil. *European journal of lipid science and technology*, 114(3), 277-286.

Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Márquez, M., & Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y perspectiva*, 21, 313-319.

Yildiz, G., Ding, J., Gaur, S., Andrade, J., Engeseth, N. E., & Feng, H. (2018). Microencapsulation of docosahexaenoic acid (DHA) with four wall materials including pea protein-modified starch complex. *International journal of biological macromolecules*, 114, 935-941.

Yinbin, L., Wu, L., Weng, M., Tang, B., Lai, P., & Chen, J. (2018). Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* lindl.). *Powder Technology*, 340, 459-464.

Zabka M., Pavela R., Slezakova L. (2009). Antifungal effect of *Pimenta dioica* essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, 30, 250-253.

11 ANEXOS

11.1 ANEXO 1. PERFILES DE OXIDACIÓN

Tiempo (Semanas)	Valor de peróxidos @ 25 °C (meq / kg aceite)		
	AC-AA	PSL	PC
0	7.2642	6.8852	4.4504
1	8.5363	6.2611	5.8912
2	12.8475	6.5770	5.4674
3	14.8695	6.3728	5.7289
4	19.7835	6.1686	5.3904
5	24.5382	6.9622	5.9837
6	30.0293	8.9501	7.3475

Tabla 1. Resultados de los perfiles de oxidación a 25 °C

Tiempo (Semanas)	Valor de peróxidos @ 35 °C (meq / kg aceite)		
	AC-AA	PSL	PC
0	6.5051	6.2919	5.8450
1	11.0949	7.3243	5.4567
2	19.1344	6.0376	5.1284
3	21.7932	6.5384	4.5506
4	22.8707	7.0393	6.0607
5	21.5798	8.9039	7.6094
6	23.6729	8.9501	8.2104

Tabla 2. Resultados de los perfiles de oxidación a 35 °C

Tiempo (Semanas)	Valor de peróxidos @ 40 °C (meq / kg aceite)		
	AC-AA	PSL	PC
0	6.9458	6.1763	5.4829
1	11.5420	6.1147	4.9127
2	22.9273	5.5214	5.6215
3	24.8274	5.3442	4.9934
4	24.5087	7.1086	5.3519
5	23.3295	9.2814	7.7866
6	24.5957	9.5973	7.8637

Tabla 3. Resultados de los perfiles de oxidación a 40 °C

11.2 ANEXO 2. MICROGRAFÍAS DE LAS MICROCÁPSULAS CON PSL Y PC

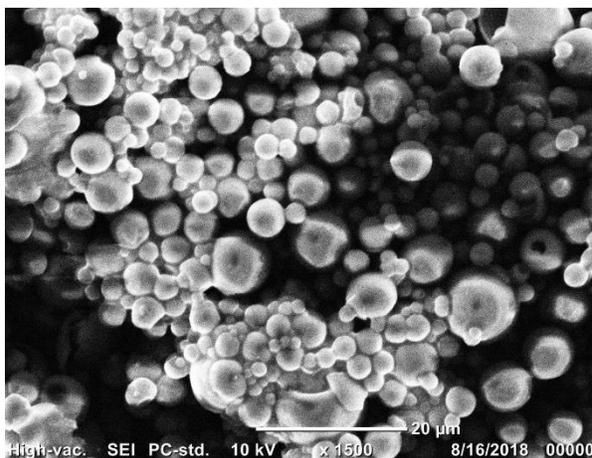


Fig. 12 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm

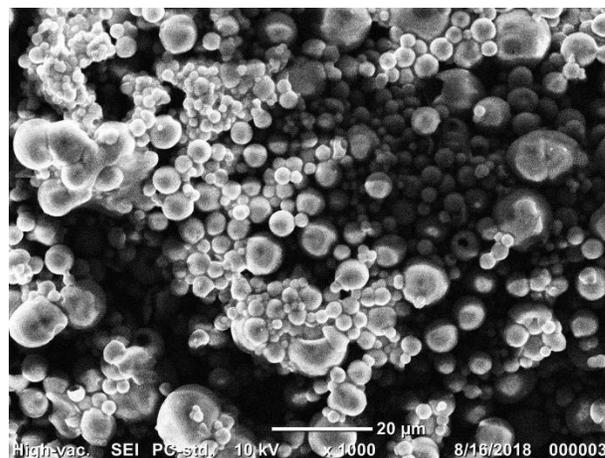


Fig. 13 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 µm

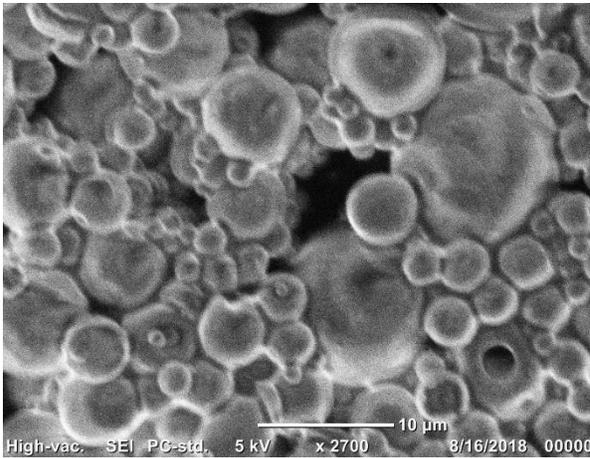


Fig. 14 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 μm

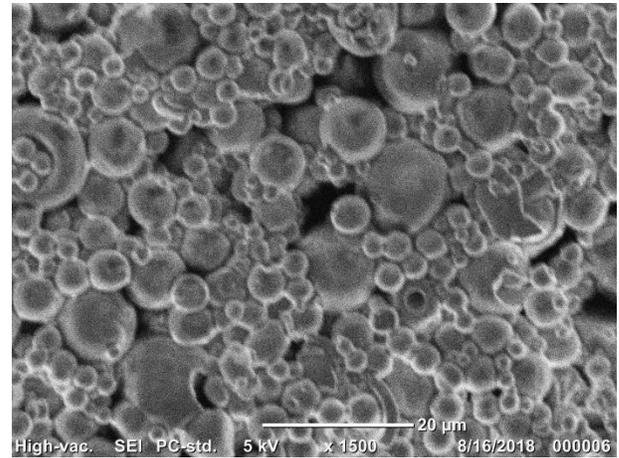


Fig. 16 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 μm

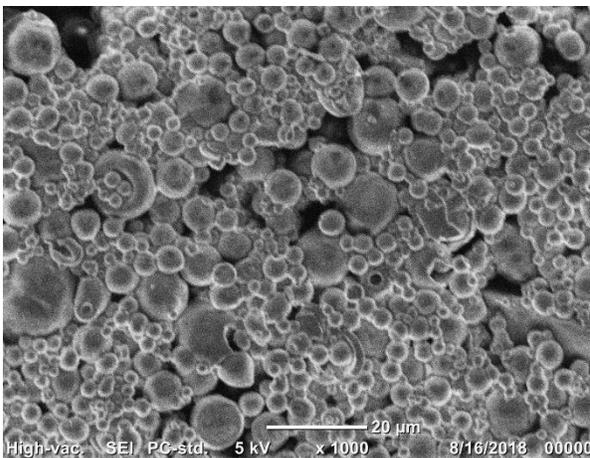


Fig. 15 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 μm

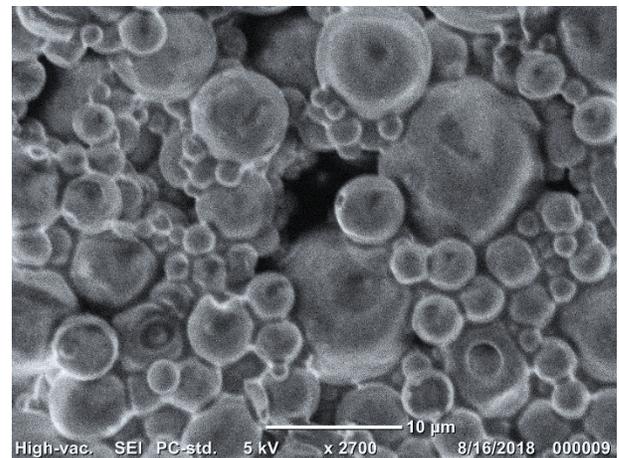


Fig. 17 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 μm

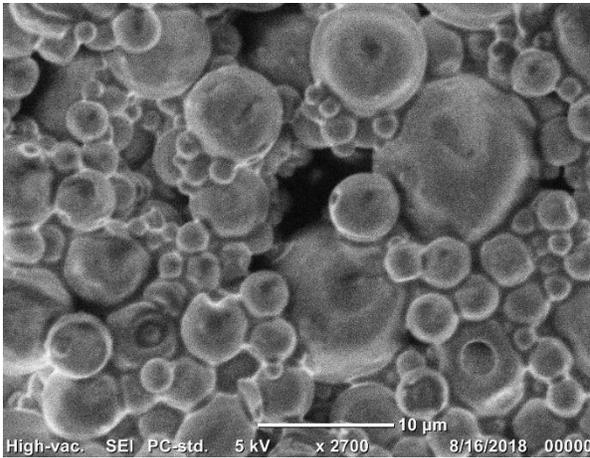


Fig. 18 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 10 μm

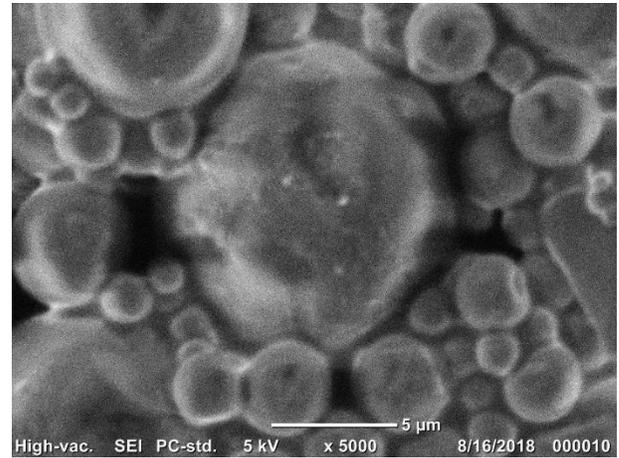


Fig. 20 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 5 μm

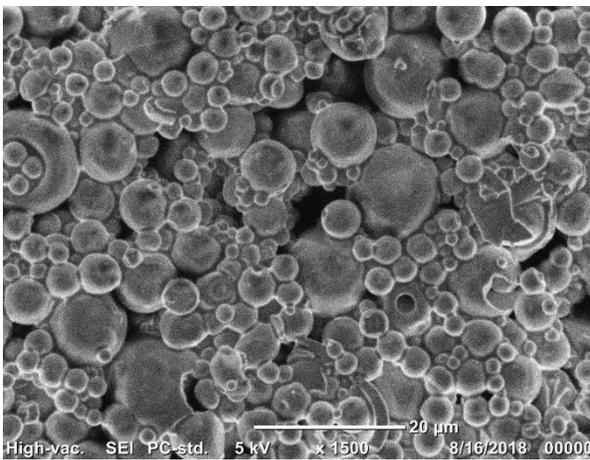


Fig. 19 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PSL a 20 μm

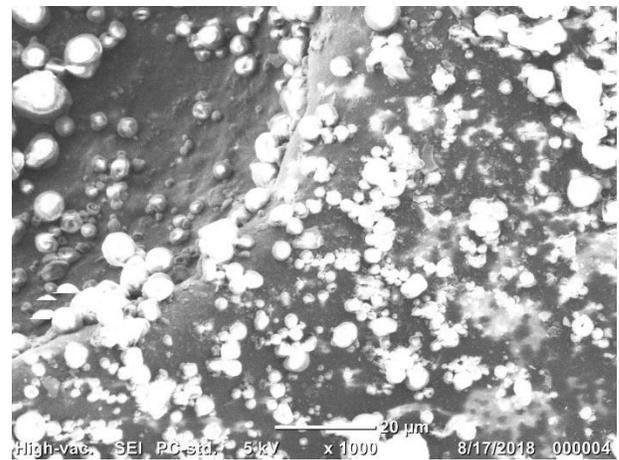


Fig. 21 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

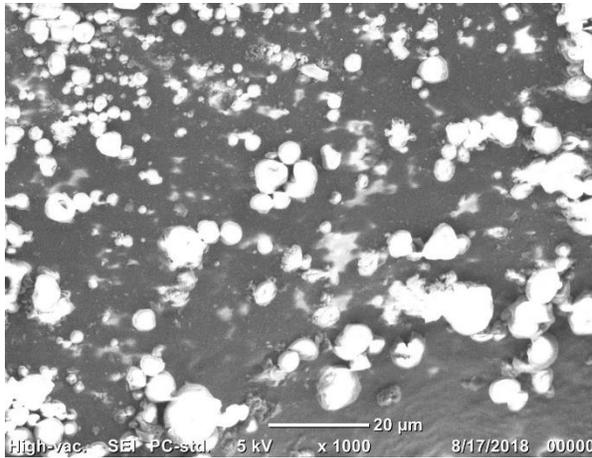


Fig. 22 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

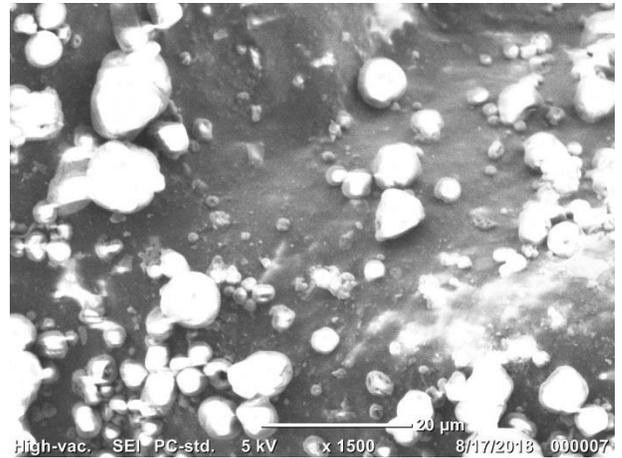


Fig. 24 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

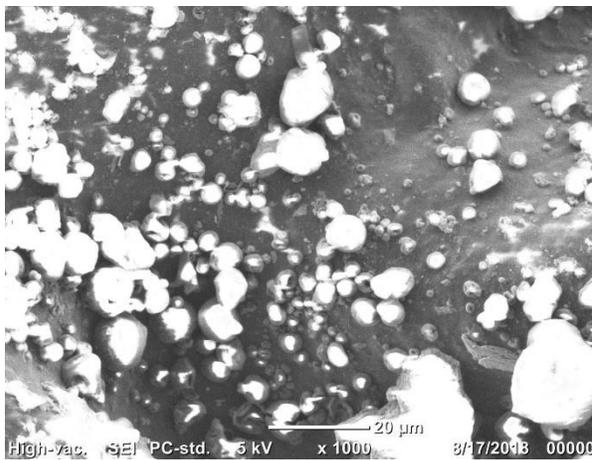


Fig. 23 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

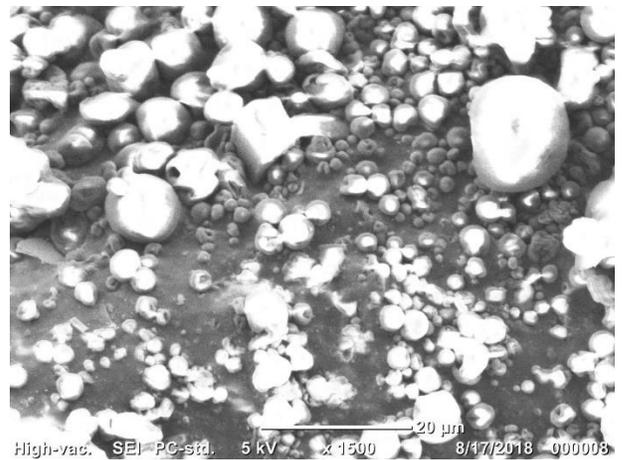


Fig. 25 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

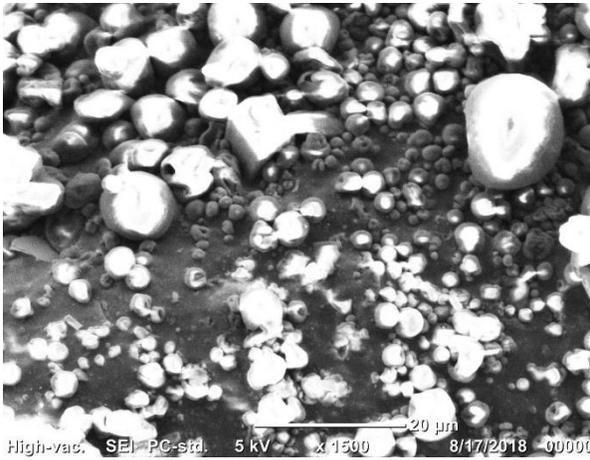


Fig. 26 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 20 μm

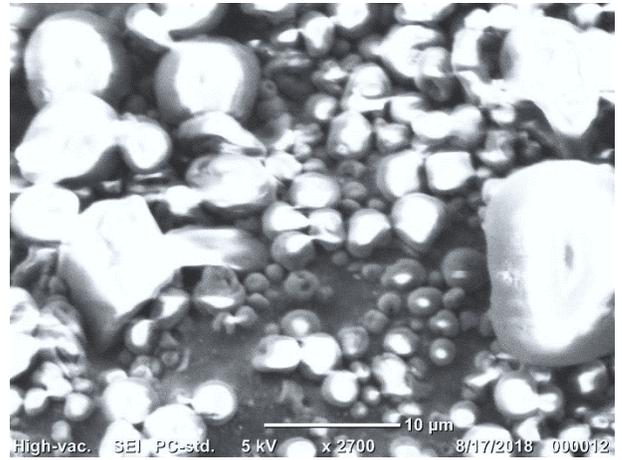


Fig. 28 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm

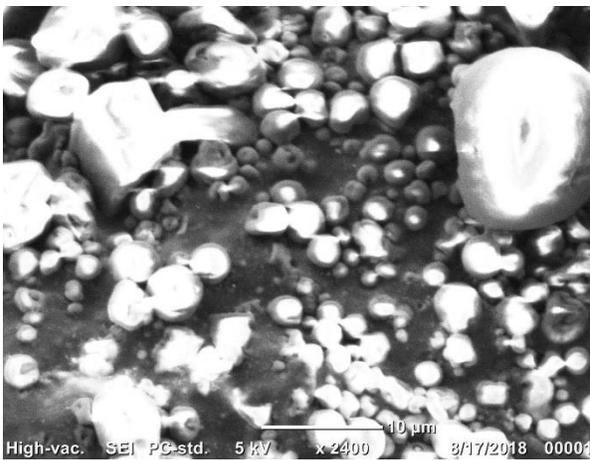


Fig. 27 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm

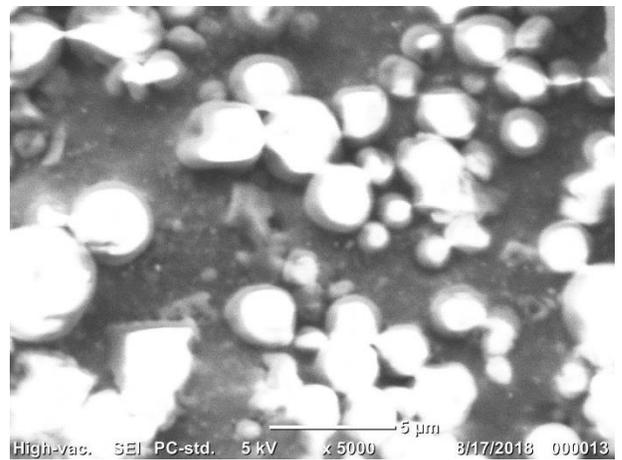


Fig. 29 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 5 μm

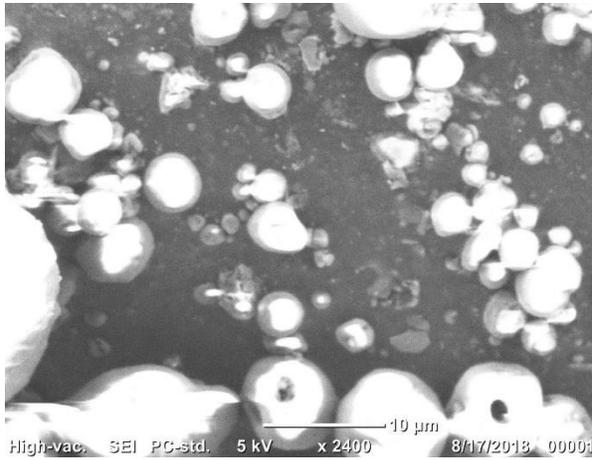


Fig. 30 Micrografía de la topología superficial de las microcápsulas con PC a 10 μm