



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**“COMPARACIÓN DE COACERVADOS COMO AGENTES
ENCAPSULANTES EN EL PROCESO DE MICROENCASULACIÓN
POR ASPERSIÓN DEL ACEITE DE LA ALMENDRA DE CAPULÍN”**

TESIS

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta:

Nancy Itzel Ordoñez Gómez

Dirigido por:

Director: Dr. César Pérez Alonso

Toluca, México, Octubre 2021



Agradecimientos

A la Universidad Autónoma del Estado de México:

A la Universidad Autónoma del Estado de México por financiar esta tesis mediante el proyecto con clave 6160/2020/CIB, “Diseño, desarrollo y evaluación de hidrogeles de alginato de sodio - mucílago de nopal para la incorporación de cápsulas esporopolenina-aceite de chía mediante la tecnología de gelación iónica”

ÍNDICE GENERAL

1.- RESUMEN.....	10
2.- INTRODUCCIÓN	12
3.- ANTECEDENTES.....	15
3.1.- Aceites naturales.....	15
3.1.1.- Usos de los aceites naturales.....	15
3.1.2 Extracción de aceites esenciales.....	17
3.2.- Aceite de capulín (<i>Pronus Serotina</i>)	19
3.3.- Microencapsulación de aceites.....	20
3.3.1.- Principales técnicas de microencapsulación.....	22
3.3.1.1.- Aspersión en frío o congelación.....	22
3.3.1.2.- Revestimiento en lecho fluido.....	23
3.3.1.3.- Extrusión.....	24
3.3.1.4.- Liofilización.....	26
3.3.1.5.- Coacervación.....	27
3.3.1.6.- Polimerización interfacial.....	29
3.3.1.7.- Gelación iónica.....	29
3.3.1.8.- Incompatibilidad polimérica.....	30
3.3.1.9.- Liposomas.....	30
3.3.1.10.- Tecnología de fluido supercrítico.....	31
3.3.1.11.- Coalescencia.....	32
3.3.1.12.- Secado por aspersión.....	32
3.4.- Proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión.....	34
3.5.- Condiciones de proceso de secado por aspersión.....	39
3.6.- Agentes encapsulantes.....	41

3.6.1.- Carbohidratos.....	42
3.6.2.- Maltodextrinas.....	42
3.6.3.- Proteínas.....	42
3.6.3.1.- Aislado de Proteína de Suero de Leche.....	43
3.6.4.- Polisacáridos.....	44
3.6.4.1.- Goma Arábica.....	45
3.6.4.2.- Mucílagos.....	46
3.6.4.2.1.- Mucílago de Tamarindo.....	47
3.6.5.- Complejos coacervados.....	48
4.- JUSTIFICACIÓN.....	51
5.- HIPÓTESIS.....	53
6.- OBJETIVOS.....	54
6.1.- Objetivo general.....	54
6.2.- Objetivos específicos.....	54
7.- METODOLOGÍA.....	55
7.1.- Materiales.....	55
7.2.- Métodos.....	55
7.2.1.- Extracción del aceite de capulín.....	55
7.2.2.- Extracción mucilago de tamarindo.....	55
7.2.3.- Preparación de los complejos WPI-TSM y WPI-GA.....	56
7.2.4.- Formación de emulsiones O/W.....	56
7.2.5 Cinética de coalescencia de las emulsiones.....	57
7.3.- Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersión.....	58
7.4 Eficiencia de encapsulación.....	58
7.5 Temperatura de transición vítrea de las microcápsulas.....	58

7.6 Estabilidad térmica acelerada.....	59
7.7 Caracterización estructural por FT-IR.....	59
7.8.- Morfología de las microcápsulas.....	59
7.9.- Oxidación del aceite de almendra de capulín en las microcápsulas...	59
8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
8.1.- Cambio en el tamaño de gota de las emulsiones de los complejos, con respecto al tiempo.....	60
8.2.- Eficiencia de encapsulamiento del aceite de capulín.....	61
8.3.- Determinación de temperatura de transición vítrea.....	62
8.4.- Estabilidad térmica acelerada.....	63
8.5.- Morfología de las microcápsulas.....	66
8.6.- Estudio de aceite retenido y estabilidad oxidativa de microcápsulas...	67
9.- CONCLUSIONES.....	70
10.- BIBLIOGRAFÍA.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplo de estructura de un ácido graso.....	16
Figura 2. Proceso de secado por aspersion.....	34
Figura 3. Fase continua y fase dispersa.....	35
Figura 4. Representación esquemática de los procesos de desestabilización en emulsiones.....	36
Figura 5. Cambio en el tamaño de gota de las emulsiones de los complejos, con respecto al tiempo.....	61
Figura 6. Curvas endotérmicas de las microcápsulas de WPI-TSM y WPI-GA a flujo constante de N ₂	64
Figura 7. Termograma oxidativo del aceite de capulín.....	65
Figura 8. Termograma oxidativo de las microcápsulas de WPI - TSM (línea roja) y WPI - GA (línea negra)	66
Figura 9. a) Microcápsulas WPI-TSM; b) Microcápsulas WPI-GA.....	67
Figura 10. Perfil oxidativo de las microcápsulas y del aceite de capulín puro almacenado a 35°C.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estructuras de algunos ácidos grasos comunes que se derivan de algunos aceites vegetales.....	17
Tabla 2. Concentración de las proteínas del suero de leche.....	44
Tabla 3. Parámetros de la cinética de coalescencia de 1er orden de emulsiones o/w.....	62
Tabla 4. Eficiencia del proceso de encapsulamiento del aceite de capulín.....	63
Tabla 5. Parámetros de la cinética de oxidación del aceite de capulín.....	69

1.- RESUMEN

El presente trabajo se enfocó en analizar el proceso de encapsulamiento del aceite contenido en la almendra del fruto del capulín, el cual se encuentra enriquecido con ácidos grasos poliinsaturados que le confiere efectos benéficos a la salud del ser humano, ya que coadyuva en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares; para ello se utilizó una combinación de tecnologías de encapsulación que fue coacervación compleja y secado por aspersion; comparando y evaluando dos tipos de coacervados compuestos por aislado de proteína de suero de leche-mucílago de tamarindo y aislado de proteína de suero de leche-goma Arábica.

La primera parte de este trabajo consistió en la extracción del aceite de almendra de capulín mediante el método de prensado en frío. La extracción del mucílago de tamarindo (TSM) se llevó a cabo por extracción acuosa.

Los complejos coacervados WPI-TSM y WPI-GA se obtuvieron siguiendo el método descrito en la literatura por González-Martínez et al. (2017). Brevemente, una solución WPI (1%, w/w) se mantuvo en agitación magnético durante 10 min y una solución de TSM (0.1%, w/w) o GA (0.1% w/w) se añadió lentamente a la solución de WPI. La formación del complejo óptimo se obtuvo variando la proporción másica de WPI-TSM desde 10:1 hasta 10:10 y de 5:1 a 1:5 para el sistema WPI-GA.

Se formularon dos sistemas de emulsiones empleando como agentes emulsionantes los dos complejos WPI-TSM y WPI-GA, de acuerdo con las proporciones óptimas encontradas, dejando como variable la concentración de aceite a emulsionar. Posteriormente se realizó el secado por aspersion de las emulsiones obtenidas. Se determino la eficiencia de encapsulación, temperatura de transición vítrea de las microcápsulas, morfología de las microcápsulas y se determinaron las cinéticas de oxidación del aceite en las microcápsulas y sin encapsular.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que no existe un cambio significativo en ambas emulsiones en el incremento de tamaño de gota a través del

tiempo de estudio. En cuanto a la eficiencia de encapsulamiento en las microcápsulas WPI-TSM se obtuvo una eficiencia de 82.19%, mientras que en las microcápsulas WPI-GA se obtuvo una eficiencia de 80.69%.

Respecto a las temperaturas de transición vítrea, la microcápsula de WPI-TSM exhibió mayor Tg que la microcápsula WPI-GA, obteniéndose a 74 y 65 °C, respectivamente.

El aceite de capulín sin encapsular mostró un pico exotérmico máximo bien definido a 151.1 °C, indicando el inicio del proceso de oxidación. De acuerdo con los termogramas de las microcápsulas WPI – TSM y WPI – GA se indica que el aceite de capulín es más estable cuando está microencapsulado, presentando temperaturas de oxidación alrededor de los 185 °C.

El aceite de capulín sin encapsular y las microcápsulas WPI-TSM y WPI-GA fueron almacenadas por 30 días para evaluar su estabilidad oxidativa a 35°C, Para ambos sistemas de microcápsulas, no hubo incremento significativo en el valor de peróxidos a lo largo del tiempo de estudio. En contraste, el aceite de capulín sin encapsular exhibió una etapa de iniciación de oxidación aproximadamente a los 6 días de estudio evidenciando su temolabilidad.

2.- INTRODUCCIÓN

Desde hace algunas décadas la industria alimentaria ha tenido un crecimiento acelerado en materia tecnológica y en la mejora de la calidad nutricional de los alimentos que proporcionen un valor nutrimental y un aporte benéfico a la salud humana, la aceptación de estos alimentos se relaciona con diversos factores; gusto, calidad, precio, comodidad, confiabilidad, etc.

El presente trabajo se enfoca en analizar el proceso de encapsulamiento del aceite contenido en la almendra del fruto del capulín, el cual se encuentra enriquecido con ácidos grasos poliinsaturados que le confiere efectos benéficos a la salud del ser humano, ya que coadyuva en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, al contener flavanones que ayuda al desarrollo y correcto funcionamiento del cerebro, además de reducir las posibilidades de sufrir Alzheimer a edades avanzadas; como antiinflamatorio natural, es una alternativa natural a los medicamentos químicos para la misma función, y como anticancerígeno por sus antioxidantes naturales combate los radicales libres, culpables del padecimiento de cáncer; sin embargo, la vida de anaquel del aceite de capulín es muy corta debido a que tiende a oxidarse rápidamente, por lo que se debe proteger mediante algún proceso de encapsulación.

En la última década se ha notado un incremento exponencial en la demanda de hidrocoloides como agentes gelificantes, espesantes, estabilizadores y modificadores de textura empleados en la industria; razón por la cual, se están desarrollando procesos para la obtención de nuevos hidrocoloides provenientes de fuentes vegetales o animales, tales como los mucílagos. Los hidrocoloides deben tener una alta estabilidad térmica y química, la capacidad de formar membranas, ser comestibles, biodegradables, biocompatibles y no tóxicos para así poder ser comercializados. Los mucílagos de semillas son fuentes de hidrocoloides totalmente naturales de bajo costo, con bajos aportes calóricos ideales para el desarrollo de alimentos dietéticos y con propiedades benéficas a la salud humana ha impulsado un crecimiento en la

demanda de los mucílago convirtiéndolos en una opción potencial de estudio para su posterior aplicación en la industria alimentaria y/o farmacéutica.

Uno de los retos fundamentales de la investigación contemporánea es el desarrollo de nuevos hidrocoloides a partir de residuos alimentarios que además permitan la recuperación, el reciclaje y la sostenibilidad de los ingredientes de alto valor añadido dentro de la cadena alimentaria. En respuesta a esto, estudios recientes han señalado que la semilla del tamarindo puede llegar a contener hasta un 72% de mucílago. El manejo del mucílago de la semilla de tamarindo en solución trae consigo diversos problemas en consecuencia de la cantidad de agua que este posee, como una disminución de la vida útil debido a reacciones de degradación y un volumen elevado que incrementa costos de almacenamiento y transporte. Un método eficiente y económico para lograr un mejor manejo e incrementar la vida útil del mucílago es el secado por aspersión, ofreciendo un producto en forma de polvo que asegura que cada grano forme una partícula individual ofreciendo ventajas como una efectiva hidratación libre de grumos o aglomerados y un producto útil para la preparación de ingredientes secos.

La pulpa de tamarindo tiene una amplia gama de aplicaciones, pero se deja de lado la comercialización de las semillas de tamarindo, en específico el mucílago obtenido a partir de estas, el cual a su vez y debido a sus características, puede ser considerado como un hidrocoloide útil en los procesos contemporáneos, por lo que es necesario establecer un proceso que permita tener al mucílago en condiciones de poder ser utilizado como insumo en diferentes procesos de la industria alimentaria y a su vez garantizar su estabilidad a distintas condiciones de humedad y temperatura.

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 aspersion y de la coacervación compleja, ya que resultan ventajosos, pues tecnologías relativamente simples, de bajo costo, reproducible y fáciles de escalar.

3.- ANTECEDENTES

3.1 Aceites naturales

Los aceites esenciales son compuestos aromáticos volátiles naturales que se encuentran en las semillas, la corteza, los tallos, las raíces, las flores y otras partes de las plantas, se encargan de protegerlas y juegan un importante papel en la polinización. Los aceites naturales son aquellos que engloban tanto los aceites esenciales como los aceites vegetales. Ambos tipos de aceites han sido utilizados durante mucho tiempo para tratar enfermedades, ya que contienen componentes químicos terapéuticos que se aplican en la industria alimenticia, cosmética, farmacéutica, entre otras. Se ha averiguado que varios aceites esenciales tienen distintos grados de actividad antimicrobiana y se cree que tienen propiedades antivirales, nematocidas, antifúngicas, insecticidas y antioxidantes.

3.1.1 Usos de los aceites naturales.

Los aceites vegetales y esenciales han cobrado importancia renovada en los últimos tiempos, aproximadamente a partir de la década de los sesenta, debido a que los requerimientos alimentarios de las personas comenzaron a variar en su enfoque al poner en su prisma la búsqueda de una nutrición saludable, que satisficiera las necesidades energéticas de los seres humanos sin provocar acumulaciones dañinas que conllevaran la aparición de enfermedades de alta incidencia en la actualidad, tales como la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. Se ha demostrado que las grasas animales resultan más dañinas para la salud humana que las de origen vegetal, debido, fundamentalmente, a la presencia de colesterol en sus estructuras y al contenido de ácidos grasos saturados (Ye, Georges, & Selomulya, 2018; Pons, 2015).

Los aceites esenciales son los que imparten a las especias su aroma particular y también se conocen como aceites volátiles, son mezclas complejas de compuestos orgánicos, tales como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ésteres y otros.

Los compuestos principales de los aceites naturales consisten en moléculas de triglicéridos (tres ácidos grasos unidos por medio de un glicerol), que contienen cierta cantidad de insaturaciones. De acuerdo con el tipo de aceite, región geográfica donde se obtiene, y su pureza, estos contienen distintas composiciones de ácidos grasos libres, y diferente número de insaturaciones.

Los ácidos grasos son cadenas de hidrocarburos que terminan en un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro. Están formados por cadenas de 4 a 30 átomos de carbono, que pueden ser totalmente saturados, parcialmente insaturados o poliinsaturados (PUFA's), de acuerdo con el número de dobles ligaduras presentes. Las familias más importantes son los Omega-3 y Omega-6 ya que sus ácidos grasos son considerados como esenciales en la dieta humana porque no se sintetizan en el cuerpo y tienen que ser suministrados a través de la dieta (Mahan & Scott-Stump, 1998). En la figura 1 se muestra un ejemplo de una molécula de este tipo.

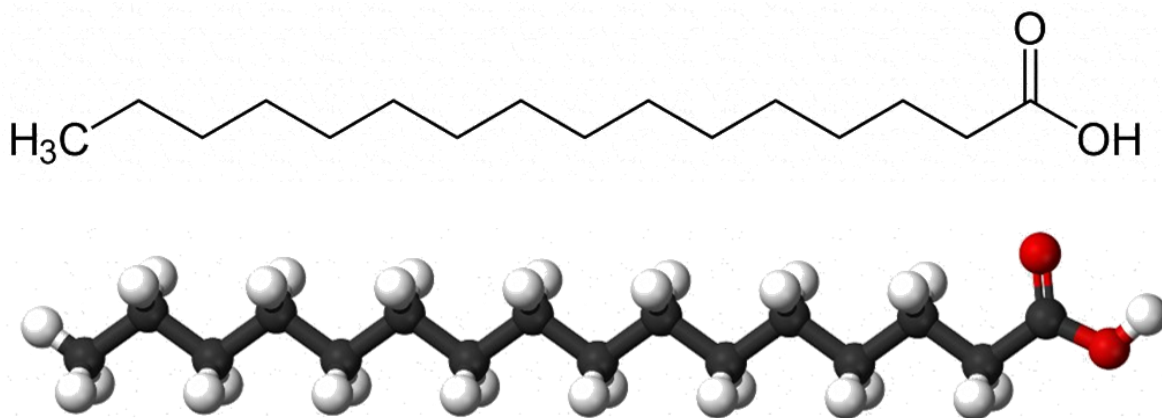


Figura 1. Ejemplo de estructura de un ácido graso.

Este tipo de estructuras químicas hace a los ácidos grasos inherentemente inestables y sensibles a la oxidación, isomerización y polimerización cuando entran en contacto con factores estresantes ambientales tales como el oxígeno, la humedad, el calor, la luz y algunos iones metálicos (Rustan & Drewnowski, 2005). Un ácido graso poliinsaturado, tiene dos o más puntos de insaturación en una molécula, por lo que es más inestable que un ácido graso monoinsaturado.

Tabla 1.- Estructuras de algunos ácidos grasos comunes que se derivan de algunos aceites vegetales.

Nombre trivial	Átomos de carbono	Estructura
Ácidos grasos saturados		
Ácido láurico	12:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH
Ácido mirístico	14:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH
Ácido palmítico	16:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH
Ácido esteárico	18:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH
Ácido araquídico	20:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH
Ácido lignocérico	24:0	CH ₃ -(CH ₂) ₂₂ -COOH
Ácidos grasos insaturados		
Ácido palmitoleico	16:1 ω 7	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Ácido oleico	18:1 ω 9	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Ácido linoleico	18:2 ω 6	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Ácido linolénico	18:3 ω 3	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Ácido araquidónico	20:4 ω 6	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₃ -COOH

3.1.2 Extracción de aceites esenciales

A escala comercial, el aceite esencial de las plantas aromáticas es obtenido por diferentes métodos de extracción: a) mecánicos, que se basan en la extrusión física del material; b) enflorado, que utiliza solubilización y adsorción en grasa; c) la extracción con solventes, con la cual se obtienen oleorresinas; d) la hidrodestilación (hidroextracción); e) destilación por arrastre de vapor el cual transporta los componentes volátiles para ser condensados posteriormente y recientemente f) la extracción supercrítica con CO₂ (Sharmin et al., 2015).

Los métodos mecánicos, se caracterizan por la extracción del aceite mediante la ruptura de las paredes de las células que lo contienen ejerciendo presión. En el caso de las semillas oleaginosas se recurre a la extracción por presión cuando el contenido de aceite es mayor al 20%. Los equipos empleados para este tipo de extracción son las prensas hidráulicas y/o prensas de tornillo. Estas últimas permiten un proceso continuo, tienen mayor capacidad, requieren menor mano de obra y extraen mayor cantidad de aceite. Sin embargo, es importante tomar en cuenta el costo-beneficio entre ambas. Una vez que el aceite ha sido extraído se eliminan las impurezas en un tamiz y el producto final se obtiene por filtración.

Los aceites obtenidos a partir de métodos mecánicos contienen menor cantidad de impurezas y su calidad es tal que suelen ser comestibles sin posterior refinado o procesado.

En la hidrodestilación, el material es sumergido en agua, la cual se lleva hasta su punto de ebullición calentando a fuego directo o mediante un enchaquetamiento, este método es utilizado para materiales que tienden a aglomerarse y compactarse cuando se utiliza vapor directo. Con una carga apropiada, la difusión del vapor es máxima cuando el material se agita homogéneamente a una velocidad de destilación baja, obteniéndose una extracción con alto rendimiento.

El destilado acuoso que contiene el aceite esencial es separado continuamente, a medida que sale del condensador, con ayuda de un separador de aceite o la adición de un solvente insoluble en agua y capaz de solubilizar el aceite esencial.

El método más común de obtener el aceite esencial es por destilación por arrastre de vapor, ya que proporciona aceites esenciales de buena calidad en comparación con la hidrodestilación; sin embargo, sus instalaciones son más costosas. El rendimiento suele ser alto (85%), particularmente si el material ha sufrido previamente una molienda o trituración la cual rompe parcialmente la estructura celular, favoreciendo la difusión lenta de los compuestos aromáticos.

3.2 Aceite de capulín (*Pronus serotina*)

Pronus Serotina es un árbol americano de 60-90 pies, ampliamente distribuido en México, comúnmente llamado "Capulín" o cereza negra americana (Ibarra-Alvarado et al., 2009). La corteza ha sido utilizada por los pueblos indígenas de las regiones de bosque boreal de América del Norte de Canadá para los síntomas relacionados con la diabetes y tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, síntomas como frío, fiebre y dolor de garganta, se sabe que ejerce propiedades anticancerígenas (McCune & Johns, 2007). *Pronus serotina* se considera como una de las plantas que contienen compuestos que exhiben actividad reductora de la ansiedad, permitiendo su uso como inductores del sueño.

El fruto, de sabor agridulce, es una drupa globosa de 6 a 8 mm de diámetro. La piel es de color rojizo oscuro y la pulpa es verde translúcido. El fruto posee una sola semilla de hueso semi-rugoso y dentro del cual hay una almendra comestible (Ordaz-Galindo et al., 1999).

La almendra de capulín (*Pronus serótina*) es muy apreciada y consumida en los Estados de México, Tlaxcala y la Ciudad de México. Esta semilla representa un recurso muy valioso desde el punto de vista económico y nutricional, posee un alto contenido de proteína y aceite, lo que podría facilitar su uso, incluso con fines industriales en la región central del país (Raya et al., 2012).

La semilla de *P. serotina* contiene aproximadamente un 21-33 % de fracción de aceite que está libre de componentes de cianuro. El aceite se distingue de los otros aceites vegetales por su alto índice de refracción. El aceite de capulín es altamente poliinsaturado y abundante en los siguientes ácidos grasos: oleico (35%), α -eleosteárico (27%). Linoleico (27%), palmítico (4%), esteárico (4%), β -eleosteárico (1%), palmitoléico (0.1%) y α -linoleico (0.2%). El aceite de la semilla de *Pronus Serotina* es algo único debido a su contenido significativo de ácido α -eleosteárico (α -ESA) (Aguerreberre et al., 2011).

El α -ESA también se encuentra presente en ciertos frutos como lo es en las semillas de melón, del árbol de Tung (Hyun et al., 2009) y del de calabaza. El α -ESA, es un compuesto natural que posee potente actividad antioxidante y antitumoral. Estudios *in vitro* mostraron que α -ESA inhibe la proliferación de ciertas células cáncergenicas como las de colon, hígado, pulmón, estómago, leucemia y cáncer de mama (Zhang et al., 2011). La presencia de α -ESA aumenta el potencial terapéutico del aceite de la semilla de capulín como alimento funcional e ingrediente nutracéutico para la salud (Aguerreberre et al., 2011).

A pesar de que estos aceites 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.

La problemática de estos aceites es que, por su volatilidad, son inestables en cuanto a su conservación, lo que determina que ante su agregado en las etapas de proceso de alimentos se degraden, se evaporen o se pierdan, no cumpliendo con el fin para el que fueron utilizadas.

La industria alimentaria busca en sus diferentes procesos emplear y conservar las propiedades funcionales de los aceites esenciales, los cuales son sensibles al exponerse a la luz, calor y oxígeno; además de tener una vida de anaquel corta si no se almacena apropiadamente, es por esto por lo que surge la necesidad de protegerlos, mediante el diseño de membranas protectoras y una forma de hacerlo es a través de la tecnología de microencapsulación.

3.3 Microencapsulación de aceites

La microencapsulación puede ser definida como el revestimiento de pequeñas partículas de líquidos, sólidos o gases con una delgada capa protectora de material de barrera o pared, la cual inhibe la volatilización y protege al material encapsulado contra condiciones ambientales adversas, como lo son los efectos de la luz, humedad,

oxígeno y el deterioro químico, contribuyendo a incrementar la vida de anaquel del producto y promoviendo la liberación controlada del encapsulado. Al material en el interior del recubrimiento se le denomina núcleo, material activo o interno, y puede estar compuesto de uno o más componentes; al material que envuelve al núcleo se le llama revestimiento, material de pared, portador o agente encapsulante (Geranpour, Assadpour, & Jafari, 2020; Bertolini et al., 2001).

La microencapsulación es una tecnología utilizada en las industrias farmacéutica, química y alimentaria desde hace muchos años, permite la incorporación de componentes naturales como polifenoles, aceites esenciales, ácidos grasos insaturados, enzimas, bacterias ácido-lácticas y probióticos en pequeñas cápsulas que encierran el producto, lo protegen del medio externo (Nazzaro et al., 2012). Las microcápsulas selladas pueden liberar sus contenidos a velocidades controladas bajo condiciones específicas y pueden proteger el producto encapsulado, retrasan la evaporación del núcleo volátil, permite un fácil almacenaje y transportación, enmascara el sabor y el olor del material encapsulado y lo protege de distintos factores pro-oxidantes (Astray et al., 2009; Madene et al., 2006; Drusch & Mannino, 2009).

Una alta eficiencia de encapsulamiento tiene lugar cuando una partícula posee una superficie mínima de aceite y una máxima retención del material activo dentro de los encapsulados. Para optimizar el proceso, se tienen que tomar en consideración las propiedades del agente encapsulante, las características del material a encapsular y las características de la emulsión.

En este sentido numerosos factores deben considerarse para obtener un sistema microencapsulado (matriz) estable que preserve las propiedades del núcleo. Por ejemplo: el tipo de material de pared, la proporción del material interno respecto al encapsulante, el método de encapsulación y las condiciones de almacenamiento de la matriz; todo en conjunto afectará la estabilidad oxidativa del material encapsulado.

La elección de un agente encapsulante (material de pared, matriz) para utilizarse en la microencapsulación por secado por aspersión es muy importante para brindar una alta estabilidad y obtener una alta eficiencia de encapsulamiento. Los criterios para la selección de un material de pared se basan principalmente en las propiedades fisicoquímicas tales como la solubilidad, peso molecular, transición vítrea, cristalinidad, difusividad, formación de película y propiedades emulsionantes. Por otra parte, los costos deben ser también considerados (Gharsallaoui et al., 2007).

Dependiendo del material encapsulado y las características deseadas en el producto final, los materiales de pared se pueden seleccionar de una amplia variedad de polímeros naturales y sintéticos.

3.3.1 Principales técnicas de microencapsulación

En el proceso de encapsulación se emplean diversas técnicas. Dado que los compuestos que se encapsulan se encuentran a menudo en forma líquida, la mayoría de las tecnologías se basan en procesos de secado. De hecho, la técnica de encapsulación más utilizada en la industria de los alimentos es el secado por aspersión (spray drying) la cual representa del 80 al 90 %. En el porcentaje restante se incluyen el de aspersión en frío (spray-chilling), deshidratación por congelación (freeze-drying), revestimiento en lecho fluido (fluid-bed coating) secado en lecho de aspersión (spray-bed-drying), extrusión en estado fundido (melt extrusión), e inyección en estado fundido (melt injection). También existen técnicas como coacervación, polimerización interfacial, incompatibilidad polimérica, gelificación iónica, etc. (Fadini et al., 2018).

A continuación, se describen algunas de las técnicas de mayor difusión y uso por parte de la industria en la producción de productos encapsulados.

3.3.1.1 Aspersión en frío o congelación

En la aspersión a temperaturas de congelación, 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 de la pared y la sustancia activa que puede ser sólida o líquida. Las coberturas empleadas usualmente son aceites vegetales en el caso de aspersion por enfriamiento o aceite vegetal hidrogenado para la aspersion 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 aspersion por enfriamiento es usualmente empleada para encapsular sulfato ferroso, vitaminas, minerales o acidulantes. Las aplicaciones más comunes de la aspersion 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).

3.3.1.2 Revestimiento en 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, Raychaudhuri, & Chakraborty, 2016).

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, Abbas, & Majeed, 2016).

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).

3.3.1.3 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 (150 - 2000 μm), que limitan el uso de aceites esenciales extruidos en diversas aplicaciones (Bakry et al., 2016).

3.3.1.4 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).

3.3.1.5 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, Jacquot, & Scher, 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 biopolímeros 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 (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 (Timilsena et al., 2016).

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, Abbas, & Majeed, 2016).

3.3.1.6 - Polimerización interfacial

La polimerización interfacial es un método de síntesis de polímeros de condensación ampliamente estudiado en los años 1950 – 1970. El fundamento de la polimerización interfacial es la reacción que tiene lugar entre dos monómeros en la interfase de dos líquidos parcial o totalmente inmiscibles, uno de los cuales es generalmente agua. La reacción tiene lugar entre especies altamente reactivas, como por ejemplo dicloruros de ácido y diaminas, con agitación y a una temperatura moderadamente baja. La reacción es extremadamente rápida y está controlada por difusión, tratándose de un proceso de no equilibrio. En este sistema de polimerización no es importante un control rígido de la temperatura, debido a la disipación de calor que se produce en los grandes volúmenes de disolvente empleados y a la baja incidencia de reacciones secundarias. El control de la reacción por difusión se traduce en un mantenimiento de la estequiometría en la interfase para un amplio abanico de proporciones iniciales de los monómeros. Por otra parte, la polimerización interfacial tiene gran utilidad en la preparación de todo tipo de biopolímeros en grandes cantidades, de forma continua, que se pueden evaluar y analizar en forma de polvo o se pueden transformar en filmes, fibras, recubrimientos y objetos moldeados. Este procedimiento de síntesis hace posible la obtención de polímeros con propiedades poco usuales como son infusibilidad o insolubilidad (García José, 1995).

3.3.1.7.- Gelación iónica.

Es un proceso que se desarrolló para inmovilizar células, donde se utiliza principalmente alginato como componente de la membrana y la combinación con iones divalentes como el calcio, para inducir la gelificación. En esta interacción tiene lugar un entrecruzamiento iónico entre los iones de calcio y las unidades de ácido gulurónico del alginato, dando lugar a un gel conocido como “modelo de caja de huevo”.

Estequiométricamente se requiere de 7.2% de calcio (basado en el peso del alginato de sodio) para una sustitución completa, sin embargo, con sólo 2.2% de calcio se logra la formación del gel.

Al entrar en contacto con los iones calcio, el alginato forma un gel instantáneamente. Los iones se siguen difundiendo en el alginato, logrando que el gel se vaya endureciendo con el tiempo. Cabe mencionar que es posible manipular la dureza del gel formado modificando las condiciones de elaboración (pH, concentración de iones, concentración de alginato, etc.) (King, 1988).

Los geles de alginato/calcio son permeables a moléculas solubles en agua cuyos pesos moleculares sean menores de 5000 Da. Moléculas mayores también pueden difundir a través del gel, pero si el peso molecular excede los 10 000 Da, la difusión no ocurre. La excepción a esto la constituyen los lípidos, los cuales permanecen en la matriz aun cuando sean de peso molecular bajo.

3.3.1.8.- 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. La incompatibilidad polimérica es el mecanismo que induce la separación de fases. El material a encapsular interaccionará sólo con uno de los dos biopolímeros el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular formando una película que lo engloba. De manera general este proceso se lleva a cabo en solventes orgánicos y cuando el material a encapsular es sólido (Thies, 1996).

3.3.1.9.- Liposomas.

Los liposomas son partículas microscópicas hechas de lípidos y agua principalmente. Su mayor aplicación se ha encontrado en la industria farmacéutica como sistemas de liberación de fármacos para el organismo. Son estructuras compuestas de una bicapa de lípidos que engloba un volumen acuoso, es decir, encapsula (King, 1995).

Se elaboran con moléculas anfifílicas que poseen sitios hidrofóbicos (ácidos grasos, fosfolípidos, etc.) y sitios hidrofílicos (colina, serina, inositol, etc.). Por ejemplo, cuando

los fosfolípidos como la lecitina se colocan en agua, forman vesículas hechas de varias bicapas concéntricas divididas por compartimentos acuosos. En la fase acuosa se coloca en material a encapsular cuando es hidrofílico o bien se agrega en el solvente orgánico donde se disuelven los fosfolípidos, si es lipofílico (Espinoza, 2002).

La técnica de elaboración de referencia emplea un evaporador rotatorio sin embargo existen otras técnicas como la diálisis y el secado por aspersion.

3.3.1.10 - 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 aspersion (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, Abbas, & Majeed, 2016).

3.3.1.11 - 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 aspersion, o proporcionar mayor rigidez a la cápsula adicionando un aldehído que entrecruza las moléculas. (Aldana, Sandoval, & Aponte, 2011).

3.3.1.12 - Secado por aspersion

Entre los diferentes métodos de microencapsulación existentes, el más común en la industria alimentaria es el secado por aspersion, debido a diferentes razones como: bajo costo de operación, disponibilidad de equipo, compatibilidad con una amplia gama de materiales encapsulantes y materiales internos termolábiles, alta retención de volátiles y de agentes activos, y la posibilidad de adecuar el proceso en modo continuo para una producción a escala industrial. El tamaño típico de partícula obtenido mediante este método es de 20 - 150 μm (Özbek, & Ergönül, 2017; Barbosa et al., 2005).

El secado por aspersion es la transformación de un fluido (solución, dispersión o pasta) en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado caliente, dando como producto un polvo o pequeñas esferas. En el secado

por aspersión el producto está expuesto al aire caliente durante tiempos cortos y la evaporación del líquido en la aspersión mantiene la temperatura del producto a un nivel bajo aún en presencia de gases muy calientes. El aire, que se alimenta a través de un filtro y un calentador, entra por la parte superior de la cámara de secado fluyendo hacia abajo en paralelo con las gotas que se están secando. A medida que caen las gotas atomizadas, se evapora la humedad en el gas caliente, dejando el material sólido en forma de partículas, las cuales son arrastradas por el gas hacia separadores de ciclón (Escalona – García et al., 2016).

Un ejemplo gráfico del proceso se observa en la Figura 2 el cual involucra tres etapas: preparación de la dispersión o emulsión, homogeneización y atomización.

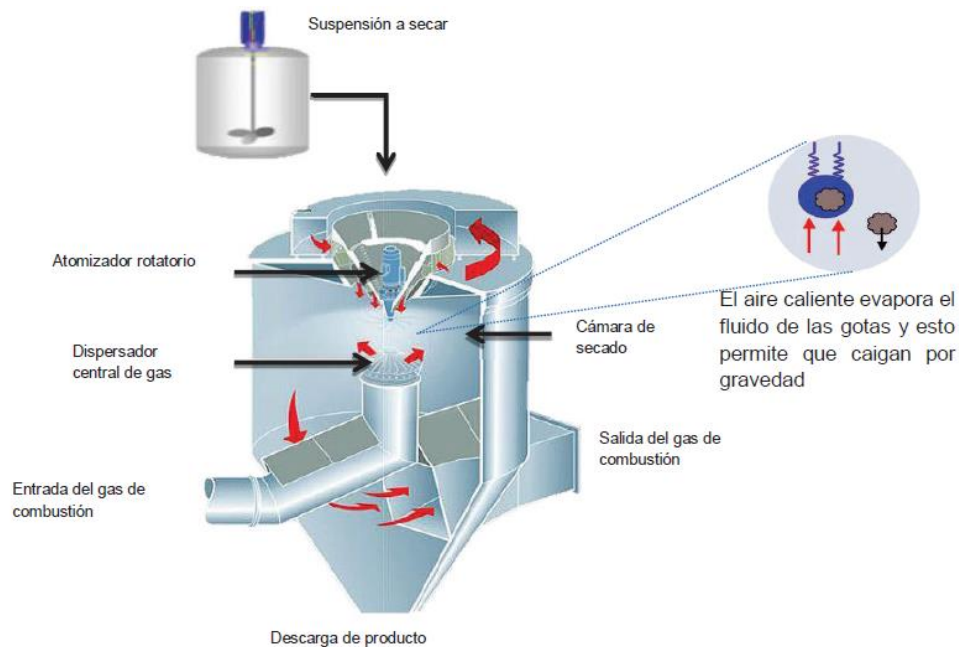


Figura 2. Proceso de secado por aspersión.

En comparación con otros métodos, el secado por aspersión proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta, un secado extremadamente rápido para los productos sensibles al calor, un tamaño y densidad de partícula controlable dentro de ciertos límites (Bellinghausen, 2019; Carneiro et al., 2013).

3.4 Proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión.

El proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión se divide en 5 etapas:

a) Emulsión

La primera etapa es la formación de una emulsión fina y estable del material activo en la solución de material de pared. Las emulsiones simples son sistemas que contienen dos líquidos inmiscibles, dispersos uno en otro, que tienen entre 0.1 y 50 μm de diámetro. La fase constituida por pequeñas gotas se denomina fase interna o dispersa, y la matriz en la que están disueltas se denomina fase externa o continua (Figura 3). Varias clases de emulsiones se pueden distinguir, entre las que se encuentran las emulsiones agua-en-aceite (W/O), aceite-en-agua (O/W) y emulsiones múltiples (O/W/O; W/O/W) (McClements, 1999).

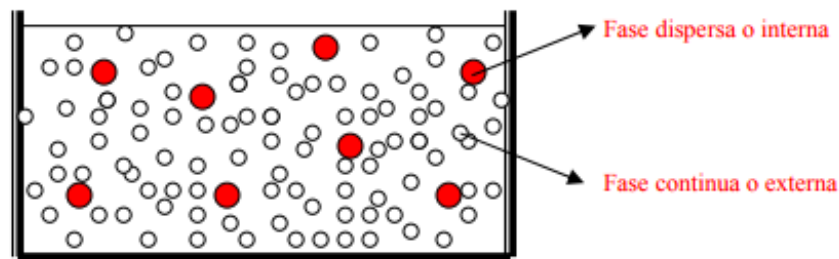


Figura 3. Fase continua y fase dispersa.

En la figura 3 se ilustran esquemáticamente los diversos procesos relacionados con la desestabilización de las emulsiones que pueden ocurrir durante su almacenamiento, dependiendo de:

- La distribución del tamaño de partícula y la diferencia de densidad entre las gotas y el medio.
- La magnitud de las fuerzas atractivas frente a las fuerzas repulsivas, que determina el nivel de floculación.

- o La solubilidad de las gotas dispersas y la distribución del tamaño de partícula, que a su vez determina la maduración de Ostwald.
- o La estabilidad de la capa líquida entre las gotas, que determina la inversión de fase; y la coalescencia. La coalescencia, es una fusión irreversible de las gotas dispersas para crear unas gotas más grandes con la eliminación de la interfase líquido/líquido conducente a una reducción del área interfacial, y por ende de la energía libre superficial del sistema. Por lo tanto, eventualmente la emulsión se separa en fases individuales discretas (Dalgleish, 2006).

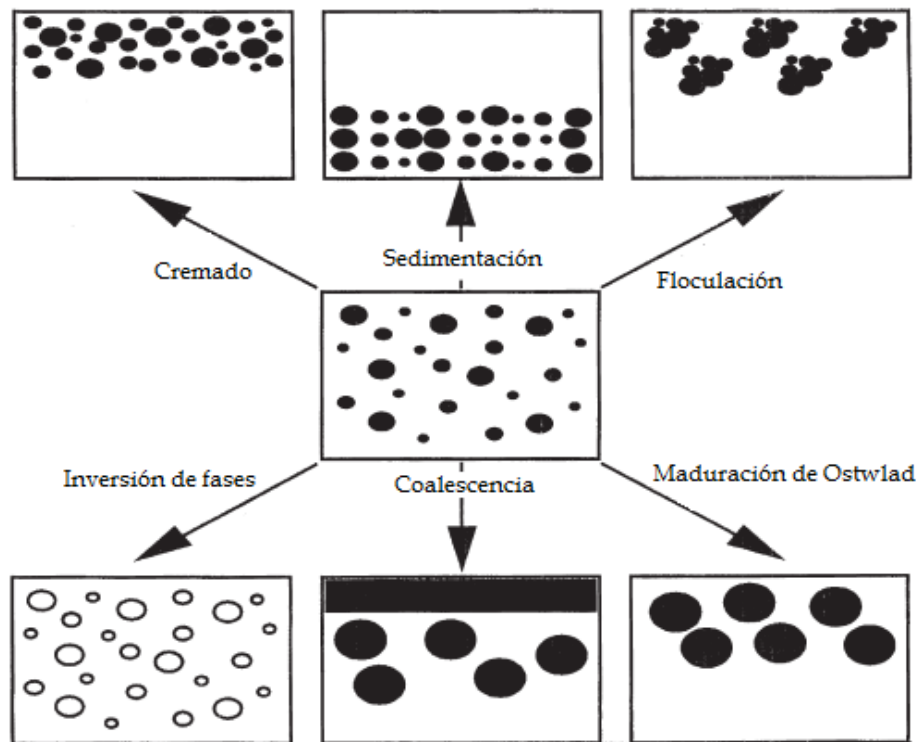


Figura 4.- Representación esquemática de los procesos de desestabilización en emulsiones

En general, las emulsiones son dispersiones termodinámicamente inestables y las fases que la componen tienden a separarse por diferentes mecanismos (McClements, 2005). Sin embargo, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables, incluso por largos periodos de tiempo debido a la presencia de un tercer componente llamado emulsificante. La elección del emulsificante es crucial no solo para la formación de la

emulsión sino también para la estabilidad a largo plazo (Kabalnov, 1998). Las variables más importantes que determinan las propiedades de una emulsión son las siguientes: (Fennema, 2009).

- Tipo: es decir, la cantidad, calidad del emulsionante y el orden en que se añaden los ingredientes de la emulsión (McClements, 1999).
- Distribución del tamaño de las gotas: Esta variable repercute de manera importante en la estabilidad física; generalmente las gotas más pequeñas constituyen emulsiones más estables. La energía y la cantidad de emulsionante necesario para producir la emulsión dependen del tamaño de las partículas deseado.
- Fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ): en la mayor parte de los sistemas alimentarios oscila entre 0.01 y 0.4 (Dalgleish, 2006).
- Composición y grosor de la película superficial: Determina la tensión interfacial, las fuerzas de interacción coloidales, etc.
- Composición de la fase continua: que determina las relaciones entre el disolvente, y el surfactante, por lo tanto, las interacciones coloidales (Fennema, 2000).

Asimismo, existen factores que contribuyen a la estabilización de una emulsión, entre las que podemos mencionar (Fennema, 2000):

- Tensión interfacial: La mayoría de los emulsionantes son anfifílicas, por lo que se concentran en la interfase aceite-agua, produciendo una disminución significativa de la tensión interfacial y una reducción de la energía necesaria para formar las emulsiones (Buffo, Reineccius, & Oehlert, 2001).
- Estabilización por macromoléculas: El efecto estabilizante de la emulsión depende principalmente de la viscoelasticidad y del espesor de la película proteica, formando una barrera física frente a la coalescencia.
- Estabilización por aumento de la viscosidad de la fase continua: Cualquier factor que contribuya a aumentar la viscosidad de la fase continua de una emulsión

retarda significativamente los procesos de floculación y coalescencia (Branen et al., 2001).

- Repulsión debida a la carga eléctrica: Frecuentemente, la estabilidad de la emulsión se atribuye, en gran medida, a la presencia de fuerzas eléctricas repulsivas en las superficies de las gotitas de la emulsión (Dickinson, 2003).
- Estabilización mediante cristales líquidos: En una emulsión (o/w o w/o) las interacciones débiles entre el emulsificante, el aceite y el agua dan lugar a la formación de una multicapa con estructura de cristal líquido alrededor de las gotitas. Esta barrera produce en la interacción una reducción de las fuerzas de Van der Waals, dando lugar a una mayor estabilidad de la emulsión.

La etapa inicial en la encapsulación de aceites es la adecuada selección del agente encapsulante, dependiendo del material a encapsular y de las características deseadas del encapsulado final.

El agente encapsulante ideal debe tener propiedades emulsificantes, formar una buena película polimérica, poseer baja viscosidad en altos niveles de sólidos, tener baja higroscopicidad, que libere el ingrediente activo cuando el encapsulado se reconstituya en un producto alimenticio terminado, tener bajo costo y ofrecer una buena protección a los encapsulados.

b) Atomización

La atomización de líquidos en pequeñas gotas puede llevarse a cabo mediante presión o energía centrífuga. Los atomizadores que son usados incluyen atomizadores neumáticos, boquillas de presión, configuraciones disco giratorios y recientemente boquillas de doble fluido y la boquilla sónica (Gharsallaoui et al., 2007). El objetivo de esta etapa es crear una superficie máxima de intercambio de calor entre el aire seco y el líquido con el fin de optimizar el calor y la transferencia de masa (Madene et al., 2006; Gharsallaoui et al., 2007).

c) Goteo, contacto con Aire Caliente

Este contacto tiene lugar durante la atomización e inicia la etapa de secado. De acuerdo con la colocación del atomizador comparado con el esparcidor de aire caliente, se pueden distinguir una corriente directa de secado y una a contracorriente. En el proceso de co-corriente del líquido se rocía en la misma dirección que el flujo de aire caliente a través del aparato, la evaporación se produce de forma instantánea; para polvos secos que estarán expuestos a temperaturas moderadas, lo que limita las degradaciones térmicas. En secado a contracorriente, el líquido se pulveriza en la dirección opuesta al flujo de aire caliente; para productos que estarán expuestos a altas temperaturas, lo que limita las aplicaciones de este proceso a los productos termosensibles (Gharsallaoui et al., 2007).

d) Evaporación del Agua

Basándonos en la teoría fundamental de secado, se pueden distinguir tres etapas sucesivas. Justo después de que el aire caliente entra en contacto con el líquido, principalmente la transferencia de calor causa el aumento de la temperatura de las gotas hasta un valor constante. Después de eso, la evaporación de gotas de agua se realiza a temperatura constante y la presión parcial de vapor de agua. La velocidad de difusión de agua desde el núcleo de la gota a su superficie es generalmente considerada constante e igual a la tasa de evaporación superficial. Por último, cuando el contenido de gotas de agua alcanza un valor crítico, una corteza seca se forma en la superficie de la gota y la velocidad de secado disminuye rápidamente y se vuelve dependiente de la velocidad de difusión del agua a través de esta corteza. El secado es teóricamente terminado cuando la temperatura de la partícula es igual a la del aire (Gharsallaoui et al., 2007).

La evaporación es tan rápida que la gota se mantiene fresca hasta que el estado seco se alcanza, esto se debe a la absorción de calor en la vaporización del líquido. Después de que la evaporación ha cesado, la temperatura de la partícula se eleva a la temperatura general de la cámara de secado (Adamiec et al., 2009).

e) Separación del Producto Seco y el Aire Húmedo

Esta separación se hace a menudo a través de un ciclón situado fuera del secador que reduce las pérdidas de producto en la atmósfera: las partículas más densas se recuperan en la base de la cámara de secado, mientras que las más finas pasan a través del ciclón para ser separadas del aire húmedo. El polvo obtenido se compone de partículas que se originan a partir de gotas esféricas después de la contracción. Dependiendo de la composición, el agua y el contenido de gas de la gota, estas partículas pueden ser compactas o huecas (Gharsallaoui et al., 2007; Adamiec et al., 2009).

3.5 Condiciones de proceso de secado por aspersión

Si la emulsión inicial es estable, con óptimas condiciones de viscosidad y tamaño de gota, la eficiencia de encapsulación puede ser maximizada por la elección correcta de los parámetros de secado, como la temperatura de entrada y salida de aire del secador, el tipo y las condiciones de atomización, del flujo de entrada de aire al secador, de la humedad y del tamaño de las partículas (Jafari et al., 2008).

a) Tamaño de partícula.

El tamaño de partícula está determinado por las propiedades físicas de la emulsión (viscosidad y la concentración de sólidos) y de los parámetros elegidos para la atomización, como el tamaño del orificio y la presión en el caso de la boquilla de atomización. Una alta presión y el orificio pequeño darán como resultado partículas más pequeñas.

El tamaño de la partícula también puede ser influenciado por las temperaturas de operación: Una diferencia menor entre la temperatura de entrada y salida del aire puede producir partículas ligeramente mayores (Reineccius, 2004).

El tamaño de la microcápsula por sí sola, no tiene un efecto significativo sobre la retención de sabor, como otros parámetros como el tamaño de gota de la emulsión que tiene una influencia considerable (Soottitantawat et al., 2005).

Se ha documentado que cuando existe un proceso lento en la formación de la película alrededor de las gotas, la partícula muestra algunas imperfecciones en la superficie como fisuras, lo que provoca que se encuentre presente la mayor parte del aceite en la superficie de las microcápsulas.

Las partículas pequeñas tienden a dispersarse muy mal, especialmente en agua frías. Las partículas grandes se pueden obtener a través de la elección apropiada de las condiciones de operación o con el uso de la técnica de aglomeración (Jafari et al., 2008)

b) Flujo de aire y humedad en el secador por aspersion.

Cuanto mayor es la mezcla de aire y la atomización de la emulsión, es mayor la retención de aceite y de los compuestos volátiles, debido a la transferencia de calor y masa asociada con el proceso de secado. Este parámetro se determina principalmente por el diseño del secador (Coumans et al., 1994).

c) Temperatura de aire a la entrada del secador.

Regularmente se maneja una temperatura de admisión entre 160°C a 220 °C, la cual conduce a una rápida formación de la membrana semipermeable en la superficie de las gotas.

Se encontró una disminución en el contenido de aceite superficial de las microcápsulas por el incremento de la temperatura del aire en la entrada del secador, posiblemente debido a que la tasa de secado rápido provoca que la membrana alrededor de las partículas sea más firme (Bhandari et al., 1992).

d) Temperatura de aire a la salida del secador.

La influencia de la temperatura de aire a la salida del secador en la eficiencia de encapsulación de compuestos volátiles y aceites también es controversial y poco clara.

Existen numerosos trabajos que se han enfocado en emulsionar y microencapsular mediante la técnica de secado por aspersion distintos materiales bioactivos (oleorresinas, aceites esenciales, colorantes, vitaminas, entre otros) empleando distintos agentes encapsulantes.

3.6 Agentes encapsulantes

Los agentes emulsionantes y encapsulantes son llamados también materiales de barrera o de pared que generalmente son biopolímeros, los cuales están constituidos por macromoléculas que pueden contener nutrientes especiales para consumo humano por sus propiedades funcionales.

Un biopolímero ideal para la formación de emulsiones debe tener buenas propiedades reológicas a altas concentraciones y fácil manipulación durante el proceso de encapsulación, capacidad de estabilizar, dispersar o emulsionar el material activo, no debe reaccionar con el material a ser el encapsulado; sin embargo, debe retener el material activo dentro de su estructura durante proceso y almacenamiento (Jafari et al., 2008)

Los biopolímeros proporcionan una importante fuente de energía y nutrientes en la dieta humana. Además, tienen la posibilidad de modificar la apariencia, textura, estabilidad y sabor de emulsiones alimenticias debido a sus características funcionales. (McClements, 1999).

Los biopolímeros formadores de pared más utilizados son carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, derivados de celulosa); gomas (arábica, mezquite, xantana); lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (proteína de soya, caseinatos, suero de leche) (Jafari et al., 2008).

3.6.1 Carbohidratos:

Los carbohidratos ofrecen grandes ventajas, puesto que poseen baja viscosidad a altos contenidos de sólidos, son suaves en sabor. Tienen un excelente poder de encapsulamiento y tienen la ventaja de que son económicos, dentro de los cuales se encuentra el almidón y sus derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas y derivados (Jafari et al., 2008).

3.6.2 Maltodextrinas:

Las maltodextrinas se forman por hidrólisis parcial de harina de maíz con ácidos o enzimas y se suministran como equivalentes de dextrosa (DE's) (Madene, 2006).

En la selección de los materiales de pared para encapsulación, la maltodextrina tiene una buena relación entre costo y efectividad, ya que es suave en sabor, tiene baja viscosidad en altos contenidos de sólidos y está disponible en diferentes pesos moleculares promedio. Sus principales deficiencias son la falta de capacidad emulsionante y baja retención de compuestos volátiles (Adamiec, 2006).

3.6.3 Proteínas:

Las moléculas de las proteínas se adsorben en la superficie de las gotas de aceite presentes en la emulsión, formando una capa protectora alrededor de ellas, reduciendo la tensión superficial. Poseen propiedades estabilizantes, ya que tienen gran solubilidad y habilidad de interactuar con el agua, tienen la habilidad de generar interacciones de repulsión entre las gotas de aceite y formar una membrana interfacial resistente, la cual juega un papel importante en la estabilidad de la emulsión impidiendo la floculación y la coalescencia.

En los últimos años, la proteína de soya, la proteína de suero de leche y caseinatos se han estudiado por su potencial como materiales de pared para ser empleados en la encapsulación de aceites y sabores mediante secado por aspersion (McClements, 2004).

Cabe señalar que los principales problemas con el uso de proteínas es que dependen de otros factores tales como pH, fuerza iónica y temperatura. Por ejemplo, si el pH de la emulsión inicial alcanza el punto isoeléctrico de la proteína utilizada, el biopolímero perderá sus propiedades emulsionantes y la emulsión resultante se vuelve inestable y por lo tanto no apta para el proceso de encapsulación (Jafari et al., 2008).

3.6.3.1 Aislado de Proteína de Suero de Leche:

Una de las proteínas más utilizadas para encapsular ingredientes alimenticios por secado por aspersión son las provenientes de la leche (o suero de leche). Debido a que poseen propiedades funcionales requeridas como material de pared, y se han utilizado con éxito para encapsular aceite esencial de comino proporcionándole una protección eficaz contra la oxidación (Gharsallaoui et al., 2007). La leche bovina es un sistema muy complejo que contiene aproximadamente un 3.5% p/p de proteína. Ésta se divide en dos fracciones principales basadas en su solubilidad. Las caseínas, que representan cerca del 80% del nitrógeno de la leche y el 20% restante que es soluble en el suero corresponde a un 15% de proteínas y el remanente son compuestos nitrogenados no proteicos (Philips & Williams, 2000).

La proteína del suero de leche es un conjunto de proteínas globulares (Tabla 2) que pueden ser aisladas físicamente del suero de la leche, subproducto de procesos industriales de productos como el queso. Desde el punto de vista químico es una mezcla de proteínas solubles en agua en sus formas nativas independientemente del pH de la solución (Rocha et al., 2014). A valores de pH más bajos que el punto isoeléctrico (pH ~ 4.6), las proteínas de suero tienen una carga positiva y se comportan como cationes, mientras que a valores de pH por encima del punto isoeléctrico tiene una carga neta negativa y se comportan como aniones permitiendo el fraccionamiento mediante procesos de intercambio iónico (Weinbreck, Tromp & de Kruif, 2004).

Tabla 2. Concentración de las proteínas del suero de leche (Philips & Williams, 2000)

Proteínas del suero de leche	Concentración g/L proteína total	Punto isoeléctrico	Peso molecular (kDa)
β -lactoglobulina	2 – 4	5.2	18
α - lactoalbúmina	0.7 - 1.5	4.2 - 4.5	14
Inmunoglobulinas	0.6 - 1.0	---	150 – 900
Albúmina bovina sérica	0.1 – 0.4	5.3	66
Peptonas de proteosa	0.6 - 1.8	---	4.1 - 40.8

A nivel industrial, la proteína del suero de leche puede diferir en concentración según el proceso o elaboración al que haya sido sometido. Por lo general, en el mercado existen tres tipos de proteínas solubles: polvo (~30%), concentrado (30%-85%) y aislado (~90%) (Philips & Williams, 2000).

3.6.4 Polisacáridos

Los polisacáridos incluyendo las gomas y mucílagos, son abundantes en la naturaleza y se encuentran comúnmente en árboles altos. Estos polisacáridos constituyen una clase estructuralmente diversa de macromoléculas biológicas con una amplia gama de propiedades fisicoquímicas, que en su mayor parte son polisacáridos solubles en agua, y tienen muchas aplicaciones tanto en la industria alimentaria como no alimentaria. El término goma se refiere a polisacáridos, que no forman parte de la pared celular, sino que son exudados y son productos patológicos. Mientras que los mucílagos forman parte del contenido de la pared celular o forman parte de los productos celulares y fisiológicos (Prajapati et al., 2013).

Las gomas y mucílagos se usan con frecuencia como agentes espesantes, aglutinantes, emulsionantes, de suspensión y estabilizantes en la industria alimentaria y

farmacéutica debido a su alta capacidad de hinchamiento en agua, no toxicidad, bajo costo y disponibilidad. Su uso depende de las propiedades fisicoquímicas únicas que proporcionan, a menudo a costos inferiores a los de los polímeros sintéticos (Prajapati et al., 2013).

3.6.4.1 Goma Arábiga

Las gomas son polímeros naturales biodegradables ampliamente utilizados en los procesos de microencapsulación por su viscosidad, solubilidad y capacidad de formar emulsiones. La más conocida y utilizada en la industria es la goma Arábiga (GA) también conocida como goma acacia (Rodea-González et al., 2012). La GA es un polisacárido natural derivado de exudados del árbol de Acacia senegal y Acacia seyal. La fracción principal de la GA consiste en un esqueleto polisacárido de β -(1-3) galactopiranososa que está altamente ramificado con residuos de β -(1-6) galactopiranososa terminando en arabinosa y ácido glucurónico y/o 4-O-metilglucurónico (Xiao et al., 2014). La composición de la GA se ha reportado de la siguiente manera: 39-42% de galactosa, 24-27% de arbinosa, 12-16% de ramnosa, 15-16% de ácido glucurónico, 1.5-2.6% proteína, 0.22-0.23% de nitrógeno y 12.5-16% de humedad (Badreldin et al., 2009).

Esta goma es ampliamente apreciada por su solubilidad en agua, por ser un agente emulsionante muy efectivo y por la capacidad de formar películas estabilizantes macromoleculares alrededor de las gotas de aceite. Sin embargo, otros estudios han demostrado que la GA no es eficiente como material de pared para la encapsulación de cinco monoterpenos diferentes (citral, linalol, β -mirceno, limoneno y β -pineno). De hecho, las microcápsulas obtenidas mostraron una capacidad de barrera limitada contra la oxidación porque actúan como membranas semipermeables y su permeabilidad al oxígeno es un factor preponderante en la vida útil del material en el núcleo de la cápsula. También se ha encontrado que la GA no es eficaz en la microencapsulación de aceite de naranja al compararlo con suero de leche y proteína

de soya (Gharsallaoui et al., 2007). Del mismo modo, el alto costo, la oferta limitada y las variaciones de calidad han restringido el uso de la goma arábiga para propósitos de encapsulación y han hecho que los investigadores buscaran materiales de pared alternativos (Pérez-Alonso et al., 2003).

3.6.4.2 Mucílagos

De acuerdo con lo reportado en la literatura, “mucílago” es una designación que se usa para definir ciertas sustancias gelatinosas que se encuentran en algunas plantas naturales. Los mucílagos provienen de la pared secundaria en la capa exterior. Se extrae fácilmente de la capa de la semilla mediante contacto con agua. Cuando se hidratan, las células del mucílago se hinchan, y su contenido exuda en la superficie de las semillas. El mucílago representa aproximadamente el 8% del peso total de la semilla. Diversos informes han demostrado que el rendimiento de la extracción, el contenido proteínico y las propiedades fisicoquímicas del mucílago final dependen tanto del procedimiento de extracción como de la variedad de la materia prima (Kaewmanee et al., 2014).

El mucílago puede existir como una sustancia intracelular y muchas veces es una reserva de alimento o de agua. Los mucílagos han sido divididos en tres grupos, de acuerdo con sus características químicas (Rishabh, Pranati & Kulkarni, 2011):

1. Los polisacáridos neutros que contienen uno o más azúcares residuales, unidos a su vez a través de grupos reductores, con la formación de sustancias de alto peso molecular.
2. Polisacáridos que contienen residuos de ácido urónico, así como otros residuos de azúcares.
3. Los mucílagos de algas que contienen sales, ésteres y azúcares formadores de moléculas de alto peso molecular. En general, los mucílagos son generalmente hetero polisacáridos, conteniendo una variedad de ácido urónico.

Los mucílagos extraídos de las semillas son fuente de hidrocoloides naturales de bajo costo que ofrecen una ingesta baja en calorías con propiedades benéficas para el consumo humano, convirtiéndolos en una opción potencial en el área de alimentos y la industria farmacéutica (Alpizar-Reyes et al., 2017). Debido a la alta concentración de grupos hidroxilo en el polisacárido, los mucílagos generalmente tienen una alta capacidad de unión al agua. El uso de los mucílagos depende de sus propiedades funcionales características, tales como la viscosidad, las propiedades emulsionantes y espumantes, la gelificación y la unión al agua, así como su papel bioactivo en la prevención y / o el tratamiento de ciertas enfermedades (Kaewmanee et al., 2014).

Actualmente, existe una búsqueda de nuevos biomateriales que puedan ser utilizados en la formulación de emulsiones y microcápsulas para consumo humano en sustitución de moléculas sintéticas que se consideran cada vez más como un riesgo para la salud humana. Además, son ecológicos, capaces de sufrir modificaciones químicas, potencialmente degradables y compatibles debido a su origen natural. Entre los mucílagos que se han estudiado se encuentran los del nopal, tamarindo, pitaya, nuez malvina, cactus, aloe vera, pimienta, okra, linaza y chía. (Archana et al., 2013, Salehi & Kashaninejad, 2014). El mucílago obtenido a partir de las semillas de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) ha recibido atención últimamente como un biomaterial prometedor para estabilizar emulsiones para consumo humano (Alpizar-Reyes et al., 2017).

3.6.4.2.1 Mucílago de Tamarindo

El mucílago de tamarindo se extrae de las semillas del árbol *Tamarindus indica* L. que puede alcanzar 30 m de alto. La parte más útil es la vaina y contiene alrededor de 3-12 semillas por cada vaina que constituyen el 35% de la fruta entera. El tamarindo ha sido plantado extensamente en Bangladesh, India, Myanmar, Malasia, Sri Lanka, Tailandia y varios países africanos, australianos, centroamericanos y sudamericanos (Alpizar-Reyes et al., 2017). La semilla de tamarindo es un subproducto disponible de la pulpa de tamarindo industrial, que contiene hasta 72% en peso de polisacáridos

(Khounvilay & Sittikijyothin, 2012), el cual se compone de un esqueleto β -(1,4)-D-glucano sustituido con cadenas laterales α -(1,4)-D-xilopiranosas y con uniones de residuos glucosos (1,6) [β -D-galactopiranosil-(1,2)- α -D-xilopiranosil] (Patel et al., 2008). Las unidades monoméricas de glucosa, xilosa y galactosa están presentes en una proporción de 2.8:2.25:1.0 y con un peso molecular de 720 - 880 kDa (Sharma et al., 2014).

El mucílago disperso en agua tiene la capacidad de formar soluciones viscosas por lo que es usado como agente espesante, estabilizante y/o emulsionante, formador de hidrogeles, encapsulante y controlador en la liberación de fármacos, tanto en la industria alimenticia y/o farmacéutica (Manchanda et al., 2014; Alpizar-Reyes et al., 2017). Además de tener una alta estabilidad térmica y química, también posee propiedades como: alta tolerancia al pH, biodegradable, no-cancerígeno, biocompatible, mucoadhesivo y no tóxico (Phani et al., 2011). Sin embargo, a pesar de los estudios realizados aún no se han explorado las posibles aplicaciones industriales que el mucílago de tamarindo podría presentar, como lo es en la formación complejos coacervados proteína-mucílago.

3.6.5 Complejos coacervados

Anteriormente, las proteínas y polisacáridos eran utilizados de forma individual en los procesos industriales. Sin embargo, en los últimos años se han estudiado las interacciones electrostáticas atractivas entre ambos hidrocoloides debido a que sus propiedades funcionales mejoran en comparación a las de los componentes por separado (Milanović et al., 2014).

El proceso de coacervación compleja fue descrito por primera vez por Bungenberg de Jong (1949) como una separación de fases líquido-líquido promovida por interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrófobas e interacciones atractivas inducidas por polarización que ocurren entre dos polímeros de carga opuesta en solución acuosa (Xiao et al., 2014). Las interacciones atractivas entre dos

biopolímeros pueden presentarse de varias maneras: a) formación de un pequeño complejo soluble, manifestándose en soluciones turbias; b) formación de un gel débil homogéneo, si las interacciones son débiles; y c) precipitación de ambos biopolímeros, si las interacciones son fuertes. En este último caso se presenta una separación de la solución en dos fases conocido como complejo coacervado (Espinosa-Andrews et al., 2010).

Se han establecido que tanto las propiedades del material tales como: peso molecular de los biopolímeros, densidad de carga, concentración y relación de la mezcla; y los parámetros del proceso tales como: método usado para producir la emulsión/grado de homogeneización, pH, temperatura y fuerza iónica afectan en gran medida el proceso de coacervación compleja (Timilsena et al., 2016).

Por otra parte, la producción de microcápsulas por coacervación compleja comprende en general las siguientes etapas (Xiao et al., 2014):

- i. Disolución. Etapa de creación de una solución acuosa que contiene dos biopolímeros diferentes (comúnmente una proteína y un polisacárido), usualmente a temperatura por encima del punto de gelificación de la proteína y a un pH que está por encima del punto isoeléctrico (pI) de la proteína.
- ii. Emulsificación/dispersión. Se realiza la emulsificación del material hidrofóbico (aceite) en la solución acuosa. La emulsión se estabiliza mediante los dos biopolímeros.
- iii. Coacervación. Separación en dos fases líquidas (una fase rica en biopolímeros insolubles y otra fase acuosa agotada de ambos) como resultado de las interacciones electrostáticas atractivas entre biopolímeros de carga opuesta causados por la reducción del pH de la solución por debajo del punto isoeléctrico de la proteína.
- iv. Gelación. Formación de una pared debido a la deposición de la fase rica en biopolímero alrededor de las gotas del material aceite, inducida por el enfriamiento controlado por debajo de la temperatura de gelificación.

- v. Endurecimiento y enjuague/filtración/secado. Se utiliza un agente de reticulación para endurecer las paredes de la microcápsula y estabilizar la estructura. El agente reticulante en exceso y el aceite residual que no estaba encapsulado o adsorbido en la superficie es lavado. A continuación, las microcápsulas se secan para obtener el material en polvo.

El desarrollo de complejos coacervados alternativos proteína-polisacárido requiere una optimización rigurosa de los parámetros complejos de coacervación porque cada par de proteínas y polisacáridos forman complejos coacervados estables a valores específicos de pH y relaciones de biopolímero. Por tanto, las condiciones óptimas para un conjunto de biopolímeros no pueden usarse en otro conjunto de biopolímeros (Timilsena et al., 2017). Por esta razón, la optimización de los parámetros de coacervación es el paso esencial para la aplicación exitosa en el proceso de microencapsulación.

Actualmente, existe una tendencia creciente del uso de proteínas y polisacáridos vegetales en la industria alimentaria, en parte impulsada por su menor tendencia a estimular una respuesta alérgica en comparación con las alternativas de origen animal. Por lo que se ha visto fuertemente incrementado el número de artículos científicos donde se desarrollan nuevas matrices de encapsulación basadas en la técnica de coacervación compleja. Sin embargo, hasta el momento no existe información disponible sobre la capacidad encapsulante de los complejos formados por proteínas-mucílagos.

4.- JUSTIFICACIÓN

Tradicionalmente en los procesos de microencapsulación se han utilizado como agentes encapsulantes (materiales de pared) aquellos que provienen de recursos biodegradables, como lo son las proteínas (gelatina, suero de leche, haba, etc.) y polisacáridos (goma arábiga, quitosano, pectina, etc.). No obstante, algunos presentan desventajas como baja disponibilidad, alto costo, y baja eficiencia de encapsulamiento.

Por lo que recientemente se ha prestado especial interés en otro tipo de polisacáridos conocidos como mucílagos, los cuales son abundantes en la naturaleza. El mucílago extraído de la semilla de tamarindo representa una buena alternativa para usarse como material encapsulante debido a su carácter aniónico, alta estabilidad térmica y química, capacidad de formar membranas, biocompatibilidad, etc.

Por otro lado, el aceite de la almendra de capulín tiene un gran valor agregado para el consumidor debido a su alto aporte nutricional, siendo rico en ácidos grasos esenciales como es el Omega-6 y Omega-3, los cuales tienen una función crucial en el fortalecimiento del sistema nervioso, la protección del sistema cardiovascular, y que favorece a la regulación del colesterol en la sangre, entre otros beneficios.

Sin embargo, este aceite al ser un material termolábil es susceptible a degradarse por factores ambientales como la humedad, la luz, y la presencia de oxígeno, además de tener una vida de anaquel corta, por lo que es de suma importancia protegerlo mediante una capa protectora.

Siendo una de estas formas la microencapsulación, disminuyendo la cantidad de aceite no encapsulado en la superficie de las partículas a través de agentes encapsulantes con alta actividad emulsificante y alta estabilidad, como es el caso de los hidrocoloides, en concreto mediante coacervados constituidos por proteínas-polisacáridos.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue comparar y evaluar dos tipos de coacervados compuestos por aislado de proteína de suero de leche-mucílago de tamarindo y aislado de proteína de suero de leche-goma Arábica en el proceso de microencapsulación de aceite de la almendra de capulín mediante secado por aspersion y coacervación compleja.

5.- HIPÓTESIS

El complejo coacervado de Aislado de proteína de suero de leche-Mucílago de tamarindo presentará mejores propiedades encapsulantes que el complejo aislado de proteína de suero de leche-goma Arábica en la protección del aceite de la almendra de capulín.

6.- OBJETIVOS

6.1.- OBJETIVO GENERAL

Comparar diferentes coacervados complejos como agentes encapsulantes en el proceso de microencapsulación del aceite de la almendra de capulín.

6.2.- OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Extraer el aceite de la almendra de capulín mediante un proceso de prensado en frío.
- ✓ Extracción del mucilago de tamarindo
- ✓ Preparar emulsiones aceite en agua empleando como agentes emulsionantes dos tipos de coacervados; Aislado de proteína de suero de leche- mucílago de tamarindo (WPI-TSM, por sus siglas en inglés) y aislado de proteína de suero de leche-goma Arábiga (WPI-GA, por sus siglas en inglés).
- ✓ Obtener microcápsulas de aceite de capulín mediante el proceso de secado por aspersión.
- ✓ Determinar la estabilidad de las microcápsulas mediante análisis de las propiedades térmicas, morfológicas y oxidativas.
- ✓ Determinar la eficiencia de encapsulamiento del aceite de capulín.

7.- METODOLOGÍA

7.1.- Materiales

Para la extracción del aceite de capulín, se emplearon semillas de capulín (*Prunus serotina*) que fueron adquiridas en SEDAGRO (Probosque), Toluca, Estado de México, México. El fruto de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) se obtuvo en la Central de Abastos de la Ciudad de Toluca, Estado de México. El Aislado de Proteína de Suero de Leche y la Goma Arábica, utilizados como agentes encapsulantes, se adquirieron de la compañía Hilmar Ingredients, Hilmar, EUA.

El agua destilada y desionizada se obtuvo del Departamento de Biotecnología, de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. 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 del aceite de capulín

Para la extracción del aceite de almendra de capulín se empleó el método de prensado en frío, se colocaron 300 g de aceite de almendra de capulín 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 PHT-20, Shanghai, China) y se ejerció una presión gradual sobre el pistón, hasta alcanzar 9 toneladas de presión a temperatura ambiente. El aceite extraído se recolectó en un vaso de precipitado y posteriormente se envasó en frascos de vidrio color ámbar y se almacenó en una cámara de refrigeración a 5°C.

7.2.2.- Extracción mucílago de Tamarindo

Para la extracción del mucílago de tamarindo (TSM) se tomó como base el método propuesto por Khounvilay & Sittikijyothin (2012) con algunas modificaciones. Se eliminó

de forma manual la cascara y pulpa del tamarindo, obteniendo solamente la semilla. Ésta se molió en un molino de martillos PULVEX 100 MINI 2HP (Ciudad de México, México). Se tomaron 20 g de semilla molida de tamarindo y se colocaron en 200 mL de agua destilada. La mezcla resultante se vertió en 800 mL de agua a 80°C y se mantuvo en agitación continua durante 40 min con un agitador magnético. Se dejó reposar 24 h a 20 °C. La mezcla se centrifugó a 50 rpm, se separó el supernadante en un vaso de precipitado y la materia pesada fue desechada.

7.2.3.- Preparación de los complejos WPI-TSM y WPI-GA

La formulación de ambos complejos coacervados se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por González-Martínez et al. (2017). Brevemente, el potencial zeta (PZ) de las soluciones de WPI, TSM y GA se midió de forma individual en función del pH con el fin de conocer el intervalo de pH adecuado para la formación de los sistemas de complejos coacervados. Los complejos WPI-TSM se obtuvieron de la siguiente manera: La solución WPI (1%, w/w) se mantuvo en agitación magnético durante 10 min. A continuación, la solución de TSM (0.1%, w/w) se añadió lentamente a la solución de WPI. La formación del complejo óptimo se obtuvo variando la proporción másica de WPI-TSM desde 10:1 hasta 10:10. Se usó la misma metodología para la formación del complejo WPI-GA, y variando la proporción en peso de WPI-GA de 5:1 a 1:5.

7.2.4.- Formación de emulsiones O/W

Se formularon sistemas de emulsiones empleando como agentes emulsionantes los dos complejos WPI-TSM y WPI-GA, de acuerdo con las proporciones óptimas encontradas en la sección 7.2.3, dejando como variable la concentración de aceite a emulsionar. El procedimiento consistió en tres etapas: (1) Se formuló la fase continua disolviendo el complejo en agua; (2) La fase dispersa se añadió gota a gota a la fase continua emulsionada en un homogeneizador Ultra-turrax T50 basic (IKA-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA), a una velocidad de 6400 rpm durante 10 min. La emulsión se mantuvo en un baño con hielo para mantener la temperatura por debajo de los 30 °C;

(3) La preparación de la emulsión descrita anteriormente se formuló de acuerdo con la metodología descrita por Rodea-González et al. (2012), tomando como base aquella en donde se obtuvo la mayor eficiencia de encapsulamiento.

7.2.5.- Cinética de coalescencia de las emulsiones

La velocidad de coalescencia sigue, en gran parte, una cinética de primer orden y puede ser representada como:

$$\frac{N_0}{N_t} = e^{Kt} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde N_t es el número de gotas al tiempo t , N_0 es el número de gotas recién formada la emulsión (tiempo cero) y K es la tasa de coalescencia, la cual es relacionada a la probabilidad de ruptura de la capa interfacial entre las gotas en un tiempo t .

A su vez:

$$N_t = \frac{6\Phi 10^{12}}{\pi D_t^3} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde Φ es la fracción volumétrica de aceite en la emulsión y D_t es el diámetro promedio volumétrico de las gotas al tiempo t . Un gráfico de $\ln N_0/N_t$ en función del tiempo para cada emulsión nos da una línea recta de la cual se obtiene la constante de velocidad (Carrillo-Navas et al., 2011). También la cinética puede expresarse con la siguiente ecuación que omite la fracción de la fase dispersa (Φ):

$$\frac{D_t}{D_0} = e^{1/3Kt} \quad (\text{Ec.3})$$

donde D_t es el diámetro de las gotas al tiempo t , D_0 es el diámetro de las gotas recién formada la emulsión (tiempo cero) y K es la tasa de coalescencia, la cual es relacionada a la probabilidad de ruptura de la capa interfacial entre las gotas en un

tiempo t . Un gráfico de $\ln D_t/D_0$ en función del tiempo para cada emulsión nos da una línea recta de la cual se obtiene la constante de velocidad.

7.3 Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersión

Se alimentaron las emulsiones obtenidas con anterioridad a un flujo de 40 mL/min por medio de un dosificador a un secador por aspersión Nichols/Niro a nivel planta piloto (Turbo Spray PLA, Nueva York, EUA), a una temperatura de entrada del aire de 170 ± 5 °C, inyectando aire comprimido a 4 bar (Pérez-Alonso et al., 2008).

7.4.- Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación del AC se obtuvo a partir del aceite superficial no encapsulado y del total del aceite esencial de almendra de capulín bajo el procedimiento utilizado por Rodea et al. (2012), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$EE = \frac{(CAT - CAS)}{CAT} \times 100 \quad (\text{Ec.4})$$

dónde: EE es la eficiencia de encapsulación, CAT es el contenido de aceite total (g) de la microcápsula y CAS es el contenido de aceite superficial no encapsulado (g).

7.5.- Temperatura de transición vítrea de las microcápsulas

Se tomaron muestras entre 4 y 5 mg de microcápsulas acondicionadas a la temperatura de estudio y actividad de agua, y se colocaron en un calorímetro diferencial de barrido modulado TA Instruments modelo Q1000 (New Castle, DE, EUA), empleando una rampa de calentamiento de 3 °C/min desde una temperatura de -160°C hasta 200 °C. Se consideró como la temperatura de transición vítrea al midpoint que se obtuvo del termograma generado por el software del equipo.

7.6.- Estabilidad térmica acelerada

Se colocaron 4-5 mg del aceite de capulín y de las microcápsulas WPI-TSM y WPI-GA en el DSC TA Instruments modelo DSC Q1000 (New Castle, DE, EUA). Las muestras se sometieron a velocidades de calentamiento de 10°C/min de 30 a 400°C, usando un flujo de oxígeno de 50 cm³/min.

7.7.- Caracterización estructural por FT-IR

Las estructuras químicas de las muestras del aceite y de las microcápsulas fueron caracterizadas mediante un espectrómetro FT-IR (Espectrometría Infrarroja de Transformada de Fourier) Perkin Elmer (Waltham, MA) utilizando el software Spectrum One versión 5.3.1. Los espectros IR se recolectaron en el intervalo de 4000-500 cm⁻¹ y una resolución de 4 cm⁻¹. Un espectro blanco se adquirió individualmente antes de obtener los espectros IR de cada muestra para eliminar las interferencias.

7.8- Morfología de las microcápsulas

Las microcápsulas se pegaron a un portamuestras de Microscopia Electrónica de Barrido usando cinta adhesiva por ambos lados (Ted Pella, Redding, California, EUA) para examinar su estructura externa. Las muestras subsecuentemente se cubrieron con oro en un Fine Coat Ion Sputter JFC 1100 (Jeol Ltd., Akishima, Japón). La morfología de las microcápsulas se observó con un microscopio electrónico de alto vacío Jeol a 25 kV.

7.9.- Oxidación del aceite de almendra de capulín en las microcápsulas

Se acondicionaron las microcápsulas en un intervalo de actividad de agua entre 0.3 y 0.4 y a una temperatura de 35 °C. Una vez acondicionadas las microcápsulas se determinaron las cinéticas de oxidación del aceite de las microcápsulas (concentración de hidroperóxidos que se formen) en un lapso de 30 días, empleando la metodología descrita por Shantha & Decker (1994).

8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1.- Cambio en el tamaño de gota de las emulsiones de los complejos, con respecto al tiempo.

La figura 5 muestra el cambio en el tamaño promedio volumétrico de partícula ($D_{4,3}$) de las emulsiones, usando como agente emulsionante los complejos formados por WPI-TSM y WPI-GA durante un periodo de 30 días de monitoreo.

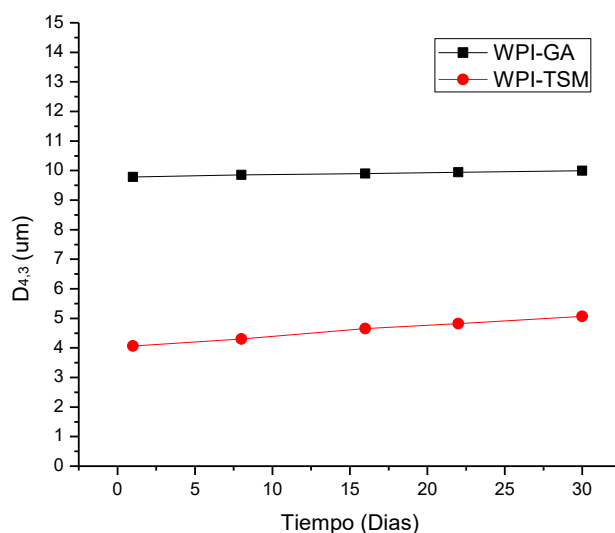


Figura 5. Cambio en el tamaño de gota de las emulsiones de los complejos, con respecto al tiempo.

Tal como se observa en la figura anterior en ambas emulsiones no existe un cambio significativo en el incremento en el tamaño de gota a través del tiempo de estudio. El incremento en el tamaño de gota se dio de 4.07 hasta 5.06 μm para la emulsión con el complejo WPI-TSM y de 9.78 a 10.01 μm para la emulsión con el complejo WPI-GA. De acuerdo con los resultados anteriores, la emulsión WPI-GA presenta mayor tamaño de partícula que la emulsión WPI-TSM.

Para conocer la velocidad con la que incrementa el tamaño de gota de las emulsiones a través del tiempo, se ajustaron los datos de tiempo (s) y tamaño de partícula ($D_{4,3}$) a una cinética de primer orden [t vs $\ln(D_{4,3})$].

En la tabla 3 se presentan los valores de la constante cinética de orden uno (K_c) de las emulsiones, así como su respectivo coeficiente de determinación (R^2), encontrando un correcto ajuste de los datos ($R^2 \sim 1$) a una cinética de primer orden. La emulsión WPI-GA es ligeramente más estable a través del tiempo que la emulsión WPI-TSM debido a que el valor de K_c es menor.

Algunos autores han demostrado que entre mayor sea la estabilidad de la emulsión, mejor será la eficiencia de encapsulamiento (EE) (Alpizar-Reyes et al., 2020).

Tabla 3. Parámetros de la cinética de coalescencia de 1° orden de emulsiones o/w

Emulsión	K_c (s^{-1})	R^2
WPI-TSM	2.7×10^{-7}	0.9891
WPI-GA	2.4×10^{-7}	0.9894

8.2 Eficiencia de encapsulamiento del aceite de capulín.

El aceite superficial (SO, por sus siglas en inglés), el contenido de aceite total (TO, por sus siglas en inglés), y la eficiencia de encapsulamiento (EE) de las microcápsulas secadas por aspersión, se muestran en la Tabla 4. Las microcápsulas WPI-GA mostraron mayor contenido de TO, las microcápsulas WPI-TSM presentaron menor contenido de SO (5.8%), y mayor eficiencia de encapsulamiento (82.1%) comparado con el sistema WPI-GA.

En general, a mayor contenido de aceite superficial se generan valores mayores de peróxido. Esto está relacionado con la menor EE obtenida en las microcápsulas WPI-GA que conduce a una pobre protección contra la oxidación lipídica a tiempos prolongados de exposición. Este aceite no-encapsulado, cuando entra en contacto con oxígeno, es mucho más susceptible a la oxidación del aceite que el aceite encapsulado. Cuando el aceite es encapsulado en una matriz vítrea, algunas

partículas de aceite se pueden oxidar rápidamente, mientras otras se oxidan más lentamente debido a la heterogeneidad en el grado de encapsulación.

Tabla 4. Eficiencia del proceso de encapsulamiento del aceite de capulín

Material	Aceite Superficial	Aceite total	Eficiencia de encapsulamiento (%)
WPI-TSM (Microcápsula)	0.2896 g (5.8%)	1.6259 g	82.19%
WPI-GA (Microcápsula)	0.3297 g (6.5%)	1.7074 g	80.69 %

8.3.- Determinación de temperatura de transición vítrea.

Las curvas DSC (Calorimetría diferencial de barrido), obtenidas de las partículas usando como material de pared los complejos WPI-TSM y WPI-GA, muestran modificaciones en el flujo de calor debido a cambios en la capacidad calorífica de las temperaturas de transición de fase. (Figura 6).

La temperatura a la cual el material de pared cambia de un estado vítreo amorfo a un estado gomoso, se conoce como temperatura de transición vítrea (T_g). La temperatura de transición vítrea se ve afectada por diferentes factores como lo es el peso molecular, la estructura química y el contenido de humedad del material. La evaluación de la temperatura de transición vítrea es de gran importancia debido a que sí la temperatura del medio excede la temperatura de transición vítrea, pueden ocurrir cambios negativos en sus propiedades físicas como pegajosidad, cristalización, apelmazamiento o colapso estructural.

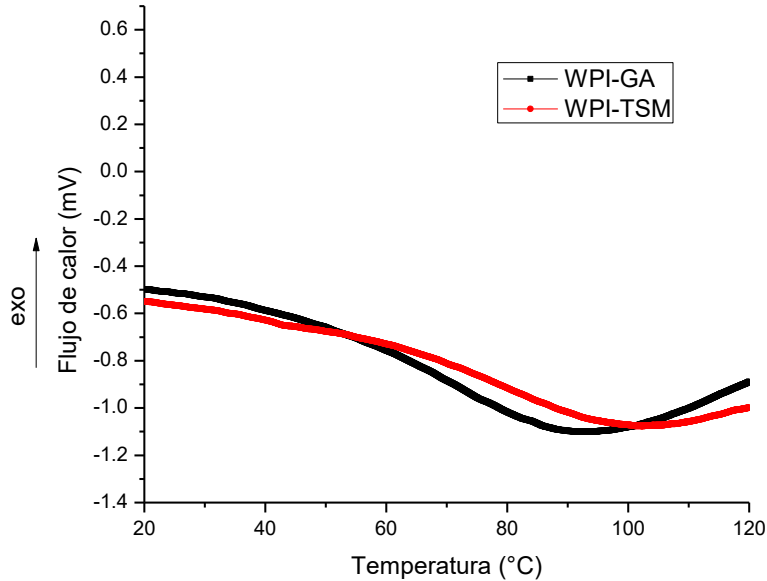


Figura 6. Curvas endotérmicas de las microcápsulas de WPI-TSM Y WPI-GA a flujo constante de N₂

Las temperaturas de transición vítreas fueron registradas del punto medio del intervalo de transición vítreo, la microcápsula de WPI-TSM exhibió mayor T_g que la microcápsula WPI-GA, obteniendo 74 y 65 °C, respectivamente. Es probable que el mucílago de tamarindo incremente la temperatura de transición vítrea debido a que, entre ambos materiales de pared, es el que posee el mayor peso molecular y la temperatura de transición vítrea esta positivamente relacionada con el peso molecular.

Materiales con mayor temperatura de transición vítrea producen partículas que son más estables durante el procesamiento y, más importante, durante el almacenamiento.

8.4.- Estabilidad térmica acelerada.

El proceso de autooxidación de los aceites es un proceso de tipo exotérmico, en el que el calor de reacción generado puede ser medido en función de la temperatura. La figura 7 muestra los termogramas del flujo de calor en función de la temperatura del

aceite de capulín sin microencapsular a un flujo constante de oxígeno, se observan tres zonas importantes, una en la que la pendiente de la curva se eleva gradual y lentamente, de forma similar a lo que ocurre durante el periodo de inducción del proceso autoxidativo.

Otra, en la que se produce un cambio brusco de la pendiente con un gran incremento del flujo de calor coincidiendo con el periodo de iniciación, y la última etapa donde se produce el pico más alto de flujo de calor correspondiente a la máxima oxidación del aceite. El aceite de capulín puro mostró un pico exotérmico máximo bien definido a 151.1 °C, indicando el proceso de oxidación.

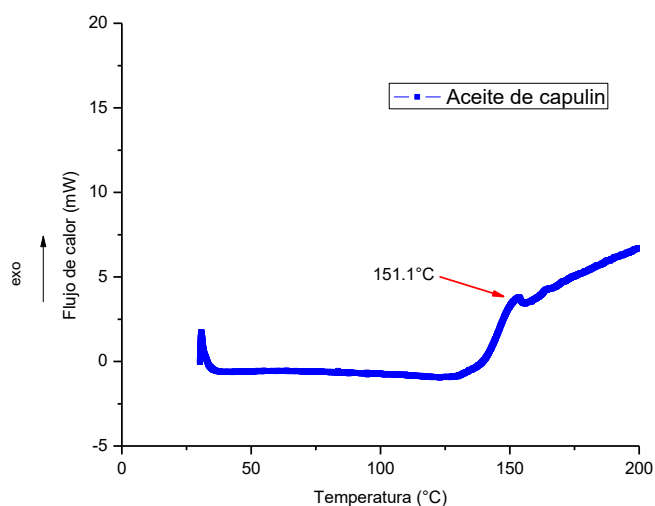


Figura 7. Termograma oxidativo del aceite de capulín

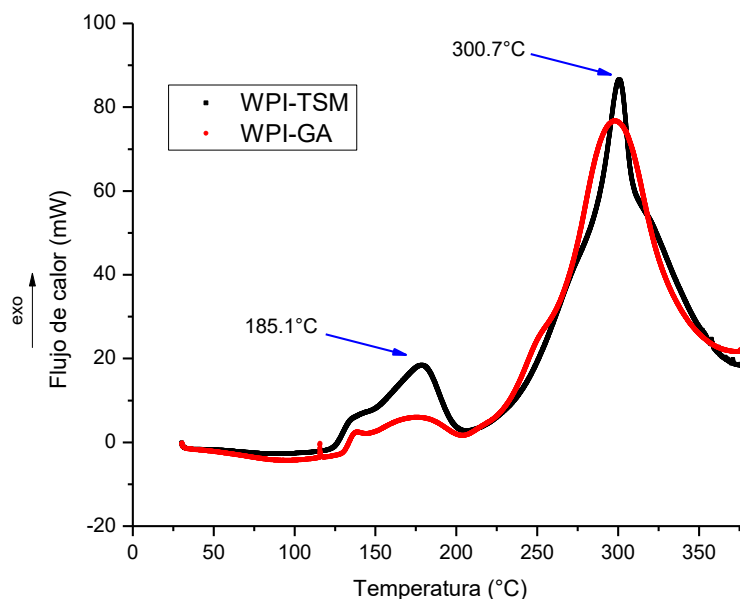


Figura 8. Termograma oxidativo del aceite encapsulado en las microcápsulas de WPI – TSM y WPI – GA

La figura 8 muestra los termogramas de las microcápsulas WPI – TSM y WPI – GA. De acuerdo con la figura anterior, se observan dos picos exotérmicos definidos. El primero corresponde a la oxidación del aceite de capulín microencapsulado, que para ambos sistemas de microcápsulas se encuentra aproximadamente a 185.1°C. El cual ocurre a mayor temperatura que la del aceite sin microencapsular, indicando que el aceite de capulín es menos estable no encapsulado que cuando está microencapsulado.

El segundo pico exotérmico es de mayor intensidad y se lleva a cabo a temperatura mucho más alta que el primero (~300.7 °C). Estos picos máximos exotérmicos observados son debido a la degradación del material de pared (complejos coacervados).

A pesar de que el análisis termooxidativo permitió demostrar que el aceite microencapsulado presenta mejoría en su estabilidad oxidativa con respecto al aceite

sin microencapsular (185.1 °C vs 151.1 °C), no fue posible conocer cuál de las dos microcápsulas (WPI-TSI o WPI-GA) presentó mejor estabilidad oxidativa.

8.5.- Morfología de las microcápsulas

El análisis de las imágenes SEM revela que en ambos sistemas no hay evidencia de grietas en la superficie de las partículas producidas por el secado por aspersión, lo que es importante para asegurar baja permeabilidad de los compuestos volátiles y por tanto mejor protección del aceite interior.

Las partículas obtenidas mediante secado por aspersión generalmente generan estructuras esféricas y con vacuolas, las cuales se relacionan a la expansión el aire dentro de las partículas durante las primeras etapas del secado. Aunque la forma final de las partículas depende en gran medida de las propiedades del material de pared usado.

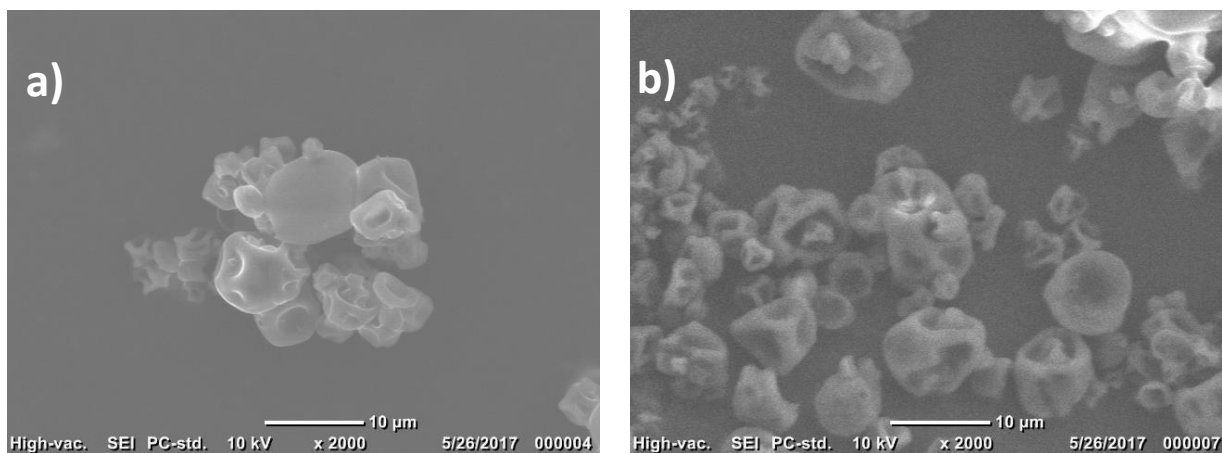


Figura 9. a) Microcápsulas WPI-TSM; b) Microcápsulas WPI-GA

En general, las microcápsulas WPI-TSM (Figura 9a) y WPI-GA (Figura 9b) exhibieron formas semiesféricas. También se distinguen variaciones en la rugosidad de la superficie de las microcápsulas. Esto puede deberse a que las microcápsulas WPI-GA presenta una estructura ligeramente más porosa e irregular que las microcápsulas WPI-TSM.

La estructura porosa hace más fácil que el oxígeno se difunda a través de una pared porosa para acceder al aceite encapsulado, debilitando la estabilidad oxidativa a largo plazo. Esto podría explicar porque las microcápsulas WPI-GA presentan relativamente menor estabilidad oxidativa a largo plazo con respecto a las microcápsulas WPI-TSM.

8.6 Estudio de aceite retenido y estabilidad oxidativa de microcápsulas

El aceite de capulín puro y las microcápsulas WPI-TSM y WPI-GA fueron almacenadas por 30 días para evaluar su estabilidad oxidativa a 35°C y los resultados se muestran en la figura 10.

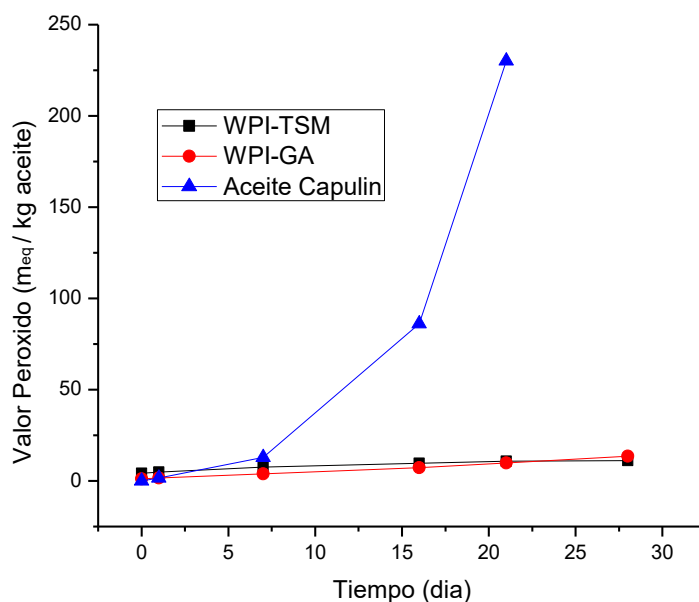


Figura 10. Perfil oxidativo de las microcápsulas y del aceite de capulín puro almacenado a 35°C

Para ambos sistemas de microcápsulas, no hubo incremento significativo en el valor de peróxidos (PV, por sus siglas en inglés) a lo largo del tiempo de estudio. En contraste, el aceite de capulín puro exhibió una etapa de iniciación de aproximadamente 6 días de estudio.

Después de este periodo de tiempo, se identifica un incremento notable en el valor de peróxidos atribuida a la fase de propagación de hidroperóxidos. Estos resultados ponen de manifiesto la eficacia de los complejos WPI-TSM y WPI-GA para retardar significativamente la difusión de agentes oxidantes en el interior de las microcápsulas, confirmando la eficiencia de la microencapsulación en proteger el aceite de capulín contra la oxidación lipídica.

Se determinó el orden de reacción de la formación de hidroperóxidos mediante la oxidación del aceite puro y del aceite microencapsulado. Los datos de la figura 10b se ajustaron a modelos cinéticos de orden cero y uno (Ecuación 10 a y 10 b):

$$C_{HP} = -k_{HP}t + C_{HP_0} \quad (\text{Ecuación 10 a})$$

$$\ln(C_{HP}) = \ln(C_{HP_0}) - k_{HP}t \quad \dots (\text{Ecuación 10 b})$$

Donde C_{HP_0} es el valor de peróxidos (PV) al día 0; C_{HP} es el valor de peróxidos (PV) después del tiempo (t); K_{HP} es la constante de velocidad de formación de hidroperóxidos, que se obtiene a partir de la pendiente de la gráfica de PV en función del tiempo.

Tabla 5. Parámetros de la cinética de oxidación del aceite de capulín.

Material	K_{HP}	R^2	Orden de reacción
WPI-TSM (Microcápsula)	2.22×10^4 (mEq/kg aceite)	0.9372	Cero
WPI-GA (Microcápsula)	3.73×10^4 (mEq/kg aceite)	0.9927	Cero
Aceite Capulín (No microencapsulado)	2.21×10^4 (1/s)	0.9836	Uno

La tabla 5 resume los parámetros cinéticos del aceite encapsulado y no encapsulado. Con respecto a ambos sistemas de microcápsulas, se observa que ambas siguieron cinéticas de orden cero. Esto significa que la velocidad de formación de

hidroperóxidos es independiente de la concentración del aceite y solamente podría depender de factores ambientales (temperatura, actividad de agua, etc.).

La microcápsula WPI-TSM provee mejor protección a la oxidación a largo plazo que la microcápsula WPI-GA, debido a que es menor la constante de velocidad de reacción, K_{HP} .

A pesar de que inicialmente la microcápsula WPI-GA presento valores de PV (1.13 mEq/kg aceite) menores que WPI-TSM (4.18 mEq/kg aceite). Sin embargo, el comportamiento se invierte al cabo de 30 días de estudio (11.16 y 13.6 mEq/kg aceite para WPI-GA y WPI-TSM, respectivamente).

9.- CONCLUSIONES

- No existe cambio significativo en el incremento en el tamaño de gota de las emulsiones formuladas a través del tiempo de estudio. El incremento en el tamaño de gota se dio de 4.07 hasta 5.06 μm para la emulsión con el complejo WPI-TSM y de 9.78 a 10.01 μm para la emulsión con el complejo WPI-GA.
- La emulsión WPI-GA es ligeramente más estable a través del tiempo que la emulsión WPI-TSM debido a que el valor de K_c es menor.
- Las microcápsulas WPI-GA mostraron mayor contenido de aceite total, mientras que las microcápsulas WPI-TSM presentaron menor contenido de aceite superficial (5.8%), y mayor eficiencia de encapsulamiento (82.19%) comparado con el sistema WPI-GA (80.69%).
- La microcápsula de WPI-TSM exhibió mayor T_g que la microcápsula WPI-GA, obteniendo 74 y 65 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Es probable que el mucílago de tamarindo incremente la temperatura de transición vítrea debido a que posee mayor peso molecular y la temperatura de transición vítrea está directamente relacionada con el peso molecular.
- De acuerdo con los termogramas de las microcápsulas WPI – TSM y WPI – GA, la oxidación del aceite de capulín microencapsulado se encuentra aproximadamente a 185.1 $^{\circ}\text{C}$. El cual ocurre a mayor temperatura que la del aceite sin microencapsular, indicando que el aceite de capulín es menos estable no encapsulado que cuando está microencapsulado.
- Las microcápsulas WPI-GA presenta una estructura ligeramente más porosa e irregular que las microcápsulas WPI-TSM. La estructura porosa hace más fácil que el oxígeno se difunda a través de una pared porosa para acceder al aceite encapsulado, debilitando la estabilidad oxidativa a largo plazo.

- Para ambos sistemas de microcápsulas, no hubo incremento significativo en el valor de peróxidos (PV, por sus siglas en inglés) a lo largo del tiempo de estudio. En contraste, el aceite de capulín sin encapsular exhibió una etapa de iniciación de aproximadamente 6 días de estudio.
- Las microcápsulas WPI-TSM provee mejor protección a la oxidación a largo plazo que las microcápsulas WPI-GA, debido a que es menor la constante de velocidad de reacción, K_{HP} .

BIBLIOGRAFÍA

1. Adamiec, J., Kalemba, D. (2006). Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray drying. *Drying Technology*, 24, 1127-1132.
2. Aguerrebere, I., Rojas, A., Oomah, D., Drover, J. (2011). Characteristics of *Prunus serotina* seed oil. *Food Chemistry*, 124, 983-990.
3. 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.
4. Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Romero-Romero, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramírez, J., Pérez-Alonso, C. (2017). Thermodynamic sorption properties and glass transition temperature of tamarind seed mucilage (*Tamarindus indica* L.). *Food and Bioproducts Processing*, 101, 166–176.
5. Alpizar-Reyes, E., Varela-Guerrero, V., Cruz-Olivares, J., Carrillo-Navas, H., Alvarez-Ramirez, J., Pérez-Alonso, C. (2020). Microencapsulation of sesame seed oil by tamarind seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 207–215
6. Archana, G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Mohammed, F.A., Azhagu, P., Babu, S., Sivarajan, M., Sukumar, M. (2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 98, 89– 94.
7. Astray, G., Mejuto, J., Rial, R., González, C., Simal J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1631-1640.

8. Badreldin, H.A. (2009). Biological effects of gum arabic: a review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1):1-8
9. Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.
10. Barbosa-Cánovas, G., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H. (2005). *Food powders: Physical properties, processing and functionality*. Kluwer Academic/Plenum Publishs, New York.
11. Bellinghausen, R. (2019). Spray drying from yesterday to tomorrow: An industrial perspective. *Drying Technology*, 37(5), 612-622.
12. Bertolini, A. C., Siani A. C., Grosso, R. F., (2001), Stability of motorpenes encapsulated in gum Arabic by spray drying, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 780-785.
13. Bhandari, B.R., Dumoulin, E.D., Richard, H.M., Noleau, I., Lebert, A.M. (1992). Flavor encapsulation by spray drying – application to citral and linalyl acetate. *Journal of Food Science*, 57, 217-221.
14. Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S., Thorngate, J. (2001). *Food additives*.
15. Buffo, R.A., Reineccius, G.A., Oehlert, G.W. (2001). Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. *Food Hydrocolloids*, 15(1), 53-66.

16. Carneiro, H., Tonon, C., Grosso, R., Hubinger, C. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
17. Coumans, W.J., Kerkhof, P.J., Bruin, S. (1994). Theoretical and practical aspects of aroma retention in spray drying and freeze drying. *Drying Technology*, 12, 99-149.
18. Dalgleish, D.G. (2006). Food emulsions-their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloids*, 20, 415-422.
19. Dickinson, E. (2008). Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4(5), 932-942.
20. Drusch, S., Mannino, S. (2009) Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids. *Trends Food Science and Technology*, 20(6-7), 237-244.
21. 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.
22. Espinosa-Andrews, H., Sandoval-Castilla, O., Vázquez-Torres, H., Vernon-Carter, E. J., Lobato-Calleros, C. (2010). Determination of the gum Arabic-chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 541-546.

23. Espinoza-Herrera, N., 2002. Elaboración y caracterización de microcápsulas de pared compuesta (proteína-polisacárido) como alimento para acuicultura. Tesis M.C. Universidad Iberoamericana.
24. Fadini, A.L., Alvim, I.D., Ribeiro, I.P., Ruzene, L.G., et al. (2018). Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. *LWT - Food Science and Technology*, 91, 345–352
25. Fathi, M., Martín, A., & McClements, J. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate-based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 39, 18-39.
26. Fennema, O.R. (2000). *Química de los Alimentos*, 2ª Edición, Acribia, Zaragoza, España.
27. García, José (1995), *Nuevas Poli (éter amidas) Alifático-aromáticas, síntesis, caracterización y estudio de propiedades.*
28. Geranpour, M., Assadpour, E., Jafari, S.M. (2020). Recent advances in the spray drying encapsulation of essential fatty acids and functional oils. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 71–90
29. Gharsalloui, 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, 1107-1121.

30. Huertas, R. A. P. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63(2), 5669-5684.
31. Hyun, M., Ding, G., Hong, L., Yun, C., Jae, K., Kyungmin, J., Jung, E., Cheol, Y., Chong, C. (2009). Alpha-eleostearic acid suppresses proliferation of MCF-7 breast cancer cells via activation of PPAR α and inhibition of ERK 1/2. *Cancer Science*, 101(2), 396-402.
32. Ibarra-Alvarado, C., Rojas, A., Luna, F., Rojas, J. I., Rivero-Cruz, B., & Rivero-Cruz, J. F. (2009). Vasorelaxant constituents of the leaves of *Prunus serotina* "capulín". *Revista Latinoamericana de Química*, 37(2), 164-173.
33. Jafari, S., Assadpoor, E., Yinghe, H. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oil during spray drying. *Drying Technology*, 26, 816-835.
34. Jafari, S.M., He, Y., Bhandari, B. (2007). Role of powder particle size on the encapsulation efficiency of oils during spray drying. *Drying Technology*, 25(6), 1019-1099.
35. Kabalnov, A.S. (1998). Coalescence in emulsions, in modern aspects of emulsion science. Cambridge (Reino Unido).
36. 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.
37. King, A. (1988). Flavor encapsulation with alginates. En: Flavor encapsulation (ed. por S. Risch and G. Reyneccius), pp. 122-125. ACS Symposium Series 370, American Chemical Society, Washington D.C.

38. King, A. (1995). Encapsulation of food ingredients. En: Encapsulation and controlled release of food ingredients (ed. por S. Risch and G. Reyneccius), pp. 26-39. ACS Symposium Series 590, American Chemical Society, Washington D.C.
39. Khounvilay, K., Sittikijyothin, W. (2012). Rheological behaviour of tamarind seed gum in aqueous solutions. *Food Hydrocolloids*, 26(2), 334-338.
40. Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41, 1-21.
41. Mahan, L.K., Scott-Stump, S. (1998). *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. 9a Edición. McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México.
42. Manchanda, R., Arora, S., Manchanda, R. (2014). Tamarind Seed Polysaccharide and its Modifications-Versatile Pharmaceutical Excipients–A Review. *International Journal of Pharmaceutical Technology Research*, 6(2), 412-420.
43. McClements, D.J. (1999). *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. Boca Raton (FL): CRC Press.
44. McClements, D.J. (2004). Protein stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9, 305-313.
45. McCune, L. M., Johns, T. (2007). Antioxidant activity relates to plant part, life form and growing condition in some diabetes remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 461–469.

46. Milanović, J., Petrović, L., Sovilj, V., Katona, J. (2014). Complex coacervation in gelatin/sodium caseinate mixtures. *Food Hydrocolloids*, 37, 196-202.
47. Nazzaro, F., Orlando, P., Coppola, R., Fratianni, F. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 182-186.
48. Ordaz-Galindo, A., Wesche-Ebeling, P., Wrolstad, R.E., Rodríguez-Saona, L., Argañiz-Jamet, A. (1999). Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chemistry*, 65, 201-206.
49. Özbek, Z.A., Ergönül, P.G. (2017). A Review on Encapsulation of Oils. *Celal Bayar University Journal of Science*, 13(2), 293-309.
50. Parra, H.R. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), 5669-5689.
51. Patel, T., Morris, G., Ebringerova, A., Vodenicarova, M., Velabny, V., Ortega, A. (2008). Global conformation analysis of irradiated xyloglucans. *Carbohydrate Polymers*, 74, 845-851.
52. Pérez-Alonso, C., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J.F., Rodríguez-Huezo, M.E., Báez-González, J.G., Vernon-Carter, E.J., (2008). DSC thermo-oxidative stability of red chili oleoresin microencapsulated in blended biopolymers matrices. *Journal of Food Engineering*, 85, 613-624.
53. Phani, G., Gangarao, B., Kotha, N. (2011). Isolation and evaluation of tamarind seed polysaccharide being used as a polymer in pharmaceutical dosage forms.

Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 2(2), 274-290.

54. Philips, G.O., & Williams, P.A. (2000). Handbook of Hydrocolloids. Boca Raton (Florida): CRC press.
55. Pons, A. (2015). Aceites vegetales, hacia una producción sostenible. El Hombre y la Máquina, Núm 46, 9-19.
56. Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., & Randeria, N. P. (2013). Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. Carbohydrate Polymers, 92(2), 1685-1699.
57. 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.
58. Raya, J., Aguirre, C., Tapia, R., Ramírez, J., Covarrubias, J. (2012). Caracterización de las proteínas de reserva y composición mineral de la semilla de capulín (*Prunus serotina*). Polibotánica, 34, 203-215.
59. Ré, M. I., (1998), Microencapsulation by spray drying, Drying Technology, 16, 1195-1236.
60. Reineccius, G.A. (2004). The spray drying of food flavors. Drying Technology, 22, 1289-1324.
61. Rishabh, M., Pranati, S., & Kulkarni, G.T. (2011). Applications of mucilages in drug delivery—A review. Advances in Biological Research, 5(1), 1–7.

62. Rocha, C. M., Souza, H. K., Magalhães, N. F., Andrade, C. T., & Gonçalves, M. P. (2014). Rheological and structural characterization of agar/whey proteins insoluble complexes. *Carbohydrate Polymers*, 110, 345-353.
63. 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.
64. Rustan, A.C., & Drevon, C.A. (2005). Fatty acids: Structures and properties. In *Encyclopedia of life sciences*. John Wiley & Sons, Ltd.
65. Shahidi, F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. John Wiley & Sons.
66. Sharma, M., Mondal, D., Mukesh, C., Prasad, K. (2014). Preparation of tamarind gum based soft ion gels having thixotropic properties. *Carbohydrate Polymers*, 102, 467-471.
67. Sharmin, E., Zafar, F., Akram, D., Alam, M., Ahmad, S. (2015). Recent advances in vegetable oils-based environment friendly coatings: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 215–229.
68. Sootitawantawat A, Bigeard F, Yoshii H, Furuta T, Ohkawara M, Linko P. (2005). Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Food Science & Technology*, 6, 107-114.

69. Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate–chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 52, 554-563.
70. Thies, C. (1996). A survey of Microencapsulation processes. En: *Microencapsulation*. (ed. por S. Benita), pp. 1-20. Marcel Dekker, Inc. N.Y., EUA.
71. US Patent 2003/0013639 A1, January 16, 2003.
72. Weinbreck, F., Minor, M., De Kruyf, G. (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum arabic coacervates. *Journal of Microencapsulation*, 21 (6), 667-679.
73. Xiao, Z., Liu, W., Zhu, G., Zhou, R., Niu, Y. (2014). A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(8), 1482-1494.
74. Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Márquez, M., & Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva*, 21, 313-319.
75. Ye, Q., Georges, N., Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 167–179.
76. Zhang, T., Gao, Y., Mao, Y., Zhang, Q., Lin, C., Lin, P., Zhang, J., Wang, X. (2011). Growth inhibition and apoptotic effect of alpha-eleostearic acid on human breast cancer cells. *Journal of Natural Medicines*, 66(1), 77-84.