



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MANIZALES

Evaluación técnica de microencapsulación de compuestos bioactivos empleando los métodos de coacervación y gelificación

Microencapsulation technical evaluation of bioactive
compounds
using coacervation and gelification methods

Miguel Ángel Rojas Restrepo

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química
Manizales, Colombia
2016

Evaluación técnica de microencapsulación de compuestos bioactivos empleando los métodos de coacervación y gelificación

Miguel Ángel Rojas Restrepo

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ingeniería - Ingeniería Química

Director:

Ph.D., M.Sc, Ingeniería Química Carlos Ariel Cardona Alzate

Línea de Investigación:

Estabilización de compuestos bioactivos

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química

Manizales, Colombia

2016

*A mi hermana, Claudia Rojas, por ser como
una madre frente a la ausencia de la mía.*

Agradecimientos

Quisiera agradecer a quienes contribuyeron durante mi investigación, especialmente a mi tutor Carlos Ariel Cardona Álzate quien además de brindarme la oportunidad de pertenecer al grupo de investigación PQCB, me orientó con su conocimiento y experiencia durante este proceso. Al profesor Moshe Rosemberg de la Universidad de California Davis, por su orientación durante el desarrollo de la investigación. A mis amigos: Laura Daza, Ángela Idarraga, Ángela Rúales, Javier Dávila, Valentina Hernández, Valentina Aristizabal, Carlos García, Juan Camilo Carvajal, Héctor Forero, Ángela Gonzales, Sebastián Serna, Oscar Prado, Cristian Galvis, y Harold Ibarra. A mis compañeros del Instituto de Biotecnología y Agroindustria: Maribel Cortez, Juan David Cardona, María Denir Velásquez, Diana Manrique, Natalia Salgado y Doña Marta.

Al Instituto de Biotecnología y Agroindustria de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Al Instituto de Minerales CIMEX de la Universidad Nacional Sede Medellín, por facilitar los equipos, e instalaciones necesarias durante el desarrollo del trabajo de investigación.

Finalmente, agradezco a la Dirección de Investigación Sede Manizales por su convocatoria apoyo estudiantes de posgrado 2013 – 2015. Al Hermes por su programa nacional de internacionalización del conocimiento 2013 - 2015. Por último, al Departamento de Ingeniería Química por su programa de monitores.

Resumen

Múltiples beneficios se atribuyen a la ingesta de compuestos bioactivos (CB), el más relevante es el asociado a los efectos benéficos sobre la salud. Sin embargo, los CB se caracterizan por poseer una baja estabilidad química y física, además de los inconvenientes asociados a su baja solubilidad y sabor amargo. En esta tesis, se evaluó la estabilización de CB presentes en el aceite de aguacate (*Persea americana Mill*) y extracto de mora (*Rubus glaucus benth*).

La tesis se encuentra dividida en dos partes: parte experimental y parte de simulación. En la parte experimental, los CB obtenidos a partir del extracto de mora fueron estabilizados por medios de Partículas de Biopolímeros (PB) y Secado por Aspersión (SA). El aceite de aguacate (AA), fue estabilizado por medio de Partículas de Hidrogel (PH). Y en la parte de simulación fue realizada por medio de Aspen Plus. Los CB estabilizados obtenidos a través de los tres métodos de encapsulación evaluados fueron caracterizados en su carga eléctrica, tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación, contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, morfología de partícula.

En el método de PB, las mejores condiciones se obtuvieron a pH 4. A este valor de pH, las soluciones de biopolímeros tienen cargas eléctricas opuestas, lo que facilita la formación de las PB. La estabilidad de los CB estabilizados fue corroborada por medio de su carga eléctrica, la cual se relaciona con la estabilidad de los CB encapsulados. Este resultado es relevante, debido a que en la literatura no se encuentran estudios en el cual se utiliza PB para estabilizar extractos de mora.

El tamaño de partícula de los tres sistemas de estabilización (PB, SA y PH) evaluados se encuentran influenciados por los materiales y condiciones de operación. El menor tamaño de partícula se encontró en el método de PH, seguido por las PB y SA. Es de importancia

conocer los rangos de los tamaños obtenidos debido a que este determina su potencial campo de aplicación.

En la parte de simulación se encontró que el método de estabilización con menor costo de producción fue el SA. Los métodos de PB y PH presentaron un mayor costo de producción. El costo de fabricación de los métodos de estabilización se encuentran relacionado con las materias primas utilizadas durante el proceso. El factor con mayor porcentaje sobre el costo final de los métodos de encapsulación es el de las materias primas. Con el objetivo de obtener un menor costo de fabricación, a futuro se pueden utilizar materias primas (proteínas) de bajo costo, las cuales pueden ser producidas a partir de los residuos de la industria, como es el caso del suero de leche. Este costó contribuiría a disminuir el costo de estabilización de CB a nivel industrial, convirtiendo este método mas atractivo para la industria.

Palabras clave: Aceite de aguacate, Extracto de mora, Encapsulación, Evaluación económica, Partículas de Biopolímeros, Partículas de hidrogel, Secado por aspersión.

Abstract

Several health-benefit have been attributed to the intake of bioactive compounds. However, its poor chemical stability, low water-solubility and bitter taste. In this study is evaluated the stabilization of bioactive compounds: i) avocado oil (*Persea americana Mill*) and ii) blackberry extract (*Rubus glaucus benth*). The biopolymer particles and spray dried were used to stabilize the blackberry extract and the hydrogel particles was used to stabilize avocado oil. The stabilized compounds were characterize in their particle size, electrical charge, encapsulation efficiency, phenolic compounds content, antioxidant capacity and morphology. The encapsulation processes were evaluated economically providing an approximate cost of production.

The better conditions to stabilize blackberry extract using the particle of biopolymer was found at pH 4. In this value, the biopolymer solution had opposite electrical charge, which can be used to form biopolymer particles. The stability of the particles was confirmed through the ζ -potential. This result is relevant because in the literature there is not found the stabilization of blackberry extract using the casein-pectin and casein arabic gum system.

The particle size of the three encapsulation methods (biopolymer particle, spray dried and hydrogel particle) evaluated were influenced by the raw material and operation conditions. The lowest particle size was found with the hydrogel particle, followed by the biopolymer particle and spray dried. It's relevant to know the particle size of the compounds stabilized due to this determine their potential application.

The encapsulation efficiency was highest using spray dried, in contrast to the other methods. In the economic evaluation was found that the lowest production cost was obtained with spray dried. The production cost of the encapsulation method is related with the raw materials used in the process.

Keywords: Avocado oil, Blackberry extract, Encapsulation, Economic evaluation, Biopolymer particles, Hydrogel particle, spray dried.

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Abstract	VIII
Lista de figuras	XIV
Lista de tablas	XVI
Lista de publicaciones	XVII
Congresos.....	XVII
Lista de abreviaciones	XIX
Definición de conceptos usados	XX
Introducción	1
Hipótesis	4
Objetivos	4
1. Capítulo 1: Estabilización de compuestos bioactivos	5
1.1 Estabilización de compuestos bioactivos	5
1.1.1 Alimentos funcionales	5
1.1.2 Limitaciones de los compuestos bioactivos	6
1.1.3 Estabilización de compuestos bioactivos.....	7
1.1.4 Contexto colombiano: mora y aceite de aguacate	9
1.2 Materiales empleados en la estabilización de CB	11
1.2.1 Proteínas.....	12
1.2.1.1 Caseína.....	13
1.2.2 Polisacáridos.....	14
1.2.2.1 Pectina	14
1.2.2.2 Goma arábica	15
1.2.2.3 Maltodextrina	15
1.2.3 Surfactantes.....	16
1.3 Métodos de estabilización.....	17
1.3.1 Reducción de tamaño de partícula	18
1.3.1.1 Emulsificación espontánea.....	19
1.3.1.2 Partículas de hidrogel.....	19

1.3.2	Incremento de tamaño de partícula.....	21
1.3.2.1	Partículas de biopolímeros	21
1.3.2.2	Secado por aspersion.....	23
2.	Capítulo 2: Materiales y Métodos.....	25
2.1	Materiales.....	25
2.2	Métodos experimentales.	26
2.2.1	Partículas de biopolímeros	27
2.2.1.1	Preparación de las soluciones de caseína, pectina y goma arábica ...	27
2.2.1.2	Preparación de partículas de biopolímeros sin extracto	27
2.2.1.3	Preparación de PB con carga.	27
2.2.2	Partículas de Hidrogel.....	28
2.2.2.1	Formación de emulsión.....	28
2.2.2.2	Formación de partículas de hidrogel	29
2.2.3	Secado por aspersion.....	30
2.3	Caracterización de los CF estabilizados	31
2.3.1	Tamaño de partícula	31
2.3.2	Carga eléctrica (ζ - Potencial)	31
2.3.3	Determinación de Compuestos Fenólicos.....	32
2.3.4	Determinación de la Eficiencia de Encapsulación	33
2.3.5	Actividad antioxidante	33
2.3.6	Morfología de partícula	34
2.4	Descripción del proceso de simulación.....	34
2.4.1	Proceso de simulación.....	34
2.4.2	Evaluación económica	35
3.	Capítulo 3: Resultados experimentales.....	37
3.1	Caracterización fisicoquímica de los CB.....	37
3.1.1	Extracto de mora (<i>Rubus glaucus benth</i>)	37
3.1.2	Aceite de aguacate	38
3.2	Partículas de biopolímeros	39
3.2.1	Soluciones de biopolímeros	39
3.2.1.1	Características eléctricas de las soluciones biopoliméricas	39
3.2.2	Formación PB sin adicción de extracto	41
3.2.2.1	Características eléctricas y tamaño de partícula	41
3.2.3	Formación partículas de biopolímeros con carga.....	44
3.2.3.1	Tamaño de partícula	45
3.2.3.2	Determinación de Compuestos Fenólicos y actividad antioxidante	45
3.2.3.3	Capacidad de carga y Eficiencia de encapsulación	47
3.2.3.4	Morfología de partícula	48
3.2.4	Emulsificación espontánea	49
3.2.4.1	Tamaño de partícula	49
3.2.5	Partículas de hidrogel	52
3.2.5.1	Preparación y Caracterización de Hidrogeles	52
3.3	Secado por aspersion.....	53
3.3.1	Tamaño de partícula	53
3.3.2	Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante.....	54
3.3.3	Eficiencia de encapsulación.....	55

4. Capítulo 4: Resultados simulación	57
4.1 Partículas de biopolímeros	57
4.2 Hidrogeles	61
4.3 Secado por aspersión	62
5. Conclusiones y recomendaciones.....	63
5.1 Conclusiones	63
5.2 Recomendaciones	63
Referencias.....	64

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1–1 Número de artículos y patentes publicadas en el campo de alimentos funcionales entre los años 2000 y 2014 (Fuente Scopus, Septiembre 2015, Palabra Clave: Functional food)	5
Figura 1–2 Factores limitantes del uso de CB sin estabilizar en alimentos [24].....	6
Figura 1–3 Representación esquemática de las condiciones fisicoquímicas del tracto digestivo [41].....	7
Figura 1–4 Número de artículos y patentes publicadas en el área de estabilización de compuestos entre los años 2000 hasta 2014. (Fuente: Scopus, Septiembre 2015, Palabras Clave: Stabilization y active ingredient).....	8
Figura 1–5 Procedimiento esquemático en la estabilización de CB.....	8
Figura 1–6 Principales CF en la mora: antocianinas, flavonoides, elagitaninos [29].....	10
Figura 1–7 Producción Nacional de Mora y aguacate (Fuente Agronet, Septiembre 2015)	10
Figura 2–1. Materias primas y CB empleadas durante el trabajo: a) residuo de mora, b) fruto de aguacate, c) extracto de mora, y c) aceite de aguacate [69]	26
Figura 2–2 Esquema de estabilización de CF empleando PB	28
Figura 2–3 Representación de la formación de hidrogeles en la estabilización de aceite de aguacate.....	29
Figura 2–4 Equipo de secado por aspersion.	30
Figura 2–5 Instrumento de electroforesis de partícula (Zetasizer, Nano ZS series, Malvern Instruments Ltda, Malvern, UK).....	32
Figura 2–6 Microscopio de barrido electrónico (SEM) FEI Quanta™ 250	34
Figura 3–1 Influencia del pH sobre la carga eléctrica de las soluciones de biopolímeros.	41
Figura 3–2 Influencia del pH sobre el la carga eléctrica de las partículas de biopolímeros	42

Figura 3–3: Tamaño de partícula para las PB formadas por el sistema caseína – goma arábica	43
Figura 3–4: Tamaño de partícula para las PB formadas por el sistema caseína – pectina	44
Figura 3–5 Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de CFT.....	46
Figura 3–6 EE de las PB a diferentes relaciones entre biopolímeros.....	47
Figura 3–7 EE de PB a diferentes relaciones entre las soluciones de biopolímeros.	48
Figura 3–8 Fotografía tomada por medio de SEM a PB formadas por la interacción caseína – pectina. Relación 1:1 y cargadas 300 mg/L de extracto.....	49
Figura 3–9 Efecto de la composición de la fase oleosa (AA y AO) sobre el tamaño de partícula	50
Figura 3–10 Tamaño de partícula de los extractos estabilizados por medio de secado por aspersión.....	53
Figura 3–11 Efecto de la relación extracto maltodextrina sobre los compuestos fenólicos totales	55
Figura 3–12 Eficiencia de encapsulación de compuestos fenólicos, empleando diferentes relaciones entre extracto y maltodextrina.	56
Figura 4–1 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por medio de PB. Biopolímeros caseína y pectina	59
Figura 4–2 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por medio de partículas de biopolímeros empleando caseína – goma arábica	60
Figura 4–3 Distribución de costos en la estabilización de aceite de aguacate por PH	61
Figura 4–4 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por secado por aspersión empleando maltodextrina	62

Lista de tablas

Tabla 1–1 Propiedades moleculares de las proteínas empleadas en la fabricación de PB [34][35].....	12
Tabla 1–2 Características de las proteínas empleadas en la fabricación de PB [34].....	13
Tabla 1–3 Propiedades moleculares de los polisacáridos empleados en la fabricación de PB.....	14
Tabla 1–4 Polisacáridos empleadas en la estabilización de CB [34][41].	15
Tabla 1–5 Tipos de Surfactantes empleados en la estabilización de CB [34].....	17
Tabla 1–6 Interacciones fisicoquímicas entre biopolímeros y factores relevantes	18
Tabla 1–7 CB lipofílicos estabilizados empleando PH.....	20
Tabla 1–8 CB estabilizados empleando emulsificación espontánea.....	20
Tabla 1–9. Compuestos bioactivos estabilizados por medio de PB.....	21
Tabla 1–10. CB estabilizados por medio de secado por aspersion.	23
Tabla 2–1 Parámetros económicos empleados durante la simulación.	35
Tabla 2–2 Precios de las materias primas empleados durante la evaluación económica.	36
Tabla 2–3 Precios de los productos empleados durante la evaluación económica.	36
Tabla 3–1 Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto de mora (<i>Rubus glaucus benth</i>)	38
Tabla 3–2 Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del de aceite de aguacate.	39
Tabla 3–3. Diámetro de partícula a diferentes relación fase oleosa - surfactante.....	51
Tabla 4–1. Costo de producción de los sistemas de encapsulación.....	58
Tabla 4–2: Parámetros asociados a los costos de producción de los sistemas de encapsulación.	59
Tabla 4–3: Costos de producción anual de PB.....	60

Lista de publicaciones

Artículos sometidos

Rojas Restrepo M.A., Moshe R, Cardona CA. Encapsulation of blackberry phenolic compounds using biopolymer particles elaborate by casein and pectin. Submitted to: Food Hydrocolloids

Artículo en revisión por el tutor

Rojas Restrepo M.A., Moshe R, Cardona CA. Use of casein and arabic gum on the synthesis of biopolymer particles for the stabilization of phenolic compounds from blackberry extract.

Capítulos de libro

Rojas Restrepo M.A., Gonzales Villa A., Cardona Alzate C.A. "Evaluación del potencial de frutas exóticas para la obtención de productos de alto valor agregado" Alternativas innovadoras para la agregación de valor a las frutas colombianas. P. 43-61.2005

Congresos

American institute of Chemical Engineerings (AiChe) Annual Meeting 2014.

Atlanta (United States), November 16-21, 2014.

Rojas M, Dávila J, Moshe R, Cardona CA. Microencapsulation of blackberry antioxidants. Modeling and simulation. Presentación oral.

Rojas M, Dávila J, Moshe R, Cardona CA. Economic analysis of different stabilization methods of antioxidants. Atlanta Marriot Marquis. Presentación oral.

Hernández V, Daza, L, **Rojas M**, Castro E, Cardona CA. Analysis of the production of Biofertilizers from Colombian Lignocellulosic Feedstocks. Poster

Daza L, **Rojas M**, Cardona CA. A new policy for the Use of Agricultural Residues in Tropical Countries Based on Biorefineries

VI Simposio Internacional Biofabricas.

Medellín (Colombia), Agosto 12 al 14 de 2015.

Rojas M, Dávila J, Moshe R, Cardona CA. Estabilización de productos de alto valor agregado en biorefinerías. Caso compuestos fenólicos de Mora. Presentación Oral

Dávila J, **Rojas M**, Moshe R, Cardona CA. Biorefinería basada en pulpa de mora (*Rubus glaucus* Benth). Caso compuestos fenólicos de Mora. Presentación Oral

Dávila J, **Rojas M**, Moshe R, Cardona CA. Integral Use of Avocado (*Persea americana mill*) Under Biorefinery concept. Poster

Lista de abreviaciones

Abreviación	Significado
PB	Partículas de biopolímeros
PH	Partículas de hidrogel
CF	Compuestos fenólicos
AA	Aceite de aguacate
EE	Eficiencia de encapsulación
pKa	Fuerza de disociación molecular
AM	Pectina de alto metoxilo
BM	Pectina de bajo metoxilo
GA	Goma arábica
DE	Dextrosa equivalente
BHL	Balance de grupos hidrofílicos y lipofílicos
RTP	Reducción de tamaño de partícula
ITP	Incremento de tamaño de partícula
O/W	Emulsiones oleosas en soluciones acuosas
W/O	Emulsiones acuosas en soluciones oleosas
IE	Interacción electrostática
NA	No aplica
MCT	Triglicéridos de cadena media
CB	Caseína
Pe	Pectina
EES	Emulsificación espontánea
DMSO	Dimethyl sulfoxido
TEAC	Capacidad antioxidante en trolox equivalente
SEM	Microscopio de barrido electrónico

Definición de conceptos usados

Concepto	Definición
Compuestos bioactivos	Sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud
Gelificación	Transformación de un líquido en un sólido o semi-sólido
Coacervación	Separación de dos líquidos en dos fases las cuales contienen concentraciones diferentes de los componentes.
Partículas de biopolímeros	Partículas compuestas por polímeros con una densa matriz en la cual solo incorpora una limitada cantidad de líquidos
Partículas de hidrogel	Partículas compuestas de polímeros gelificados que incorporan cantidades apreciables de líquido dentro de estructuras de redes poliméricas
Polisacáridos	Macromoléculas compuestas de monosacáridos unidos mediante enlaces glicosídicos
Proteína	Las macromoléculas compuestas de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos
ζ - potencial	Medida del diferencial del potencial eléctrico de un coloide cargado, el cual depende de la densidad de carga superficial y la presencia de contra-iones

Introducción

En la actualidad, las industrias de alimentos y farmacéutica centran su atención sobre diferentes familias de compuestos bioactivos (CB). Este interés se debe a que los consumidores prefieren alimentos funcionales, los cuales confieren efectos benéficos sobre la salud, más allá de sus propiedades nutricionales.

Entre los CB más demandados se encuentran los extractos de frutas con altos contenidos de compuestos fenólicos [1]–[4]. Los compuestos fenólicos (CF) son CB presentes en múltiples frutas y hortalizas. La importancia de los CF radica en su capacidad de limitar la acción de los radicales libres, responsables de daños celulares. Los métodos de acción de los CF pueden ser: i) Unión molecular con proteínas pro-oxidantes, ii) fijación de iones de metales pro-oxidantes (Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+}) y iii) atrapando los radicales libre [5]. El impacto comercial de los CB es relevante debido a su amplio uso en la industria de alimentos. Entre los principales usos se encuentran los aditivos naturales tales como colorantes, conservantes y antioxidantes naturales [5].

La encapsulación es definida como una tecnología de micro-empaque de materiales sólidos, líquidos o gaseosos [6]. Los compuestos atrapados al interior de los diferentes sistemas de estabilización, pueden ser liberados como consecuencia de una respuesta al entorno [7]. En la industria farmacéutica, la encapsulación se ha aplicado en el desarrollo de fármacos en forma de capsulas. Los sistemas de encapsulación pueden proteger los fármacos de la degradación para luego ser liberados en sitios específicos. Lo anterior, minimiza los efectos secundarios (irritación gástrica), y mejorando la biodisponibilidad de los fármacos [8][9].

En la industria de alimentos, la encapsulación ha sido empleada en el control de liberación de sabores y en la producción de alimentos que contienen ingredientes activos funcionales tales como probióticos y CB [10]. Otros propósitos de la encapsulación en la industria de alimentos consideran la protección de CB sensibles al entorno, liberación controlada de CB iii) enmascaramiento de olores y sabores, facilitar el manejo y manipulas de los CB y mejoramiento de su solubilidad, biodisponibilidad de los CB [8], [11]–[13] [14]–[16].

Los materiales empleados durante la estabilización deben ser capaces de proteger los CB de los daños ocasionados por el entorno. Entre los principales causantes de alteraciones en la estabilidad de los CB se encuentran condiciones físicas y químicas [9]. Los principales tipos de materiales empleados para estabilizar CB se encuentran: proteínas, polisacáridos, fosfolípidos y surfactantes [17]. La selección del tipo de material a emplear se relaciona con el propósito de la encapsulación y con las propiedades de partícula deseada.

Los beneficios asociados a la ingesta de CB son limitados, debido a la degradación de los compuestos durante su paso por el tracto digestivo [18]. Los CB presentan barreras que impiden su incorporación en matrices alimenticias o productos farmacéuticas. Algunas limitaciones son su baja estabilidad física y química, baja biodisponibilidad (en algunos casos) y sabores indeseables.

En búsqueda de sobrepasar estas limitaciones, se ha estudiado la estabilización de CB por medio de sistemas de encapsulación [14], [19]–[21]. Uno de los aspectos más importantes en la estabilización de CB es la selección del método de encapsulación. Existen diversas tecnologías de encapsulación, las cuales pueden ser clasificados en dos grupos de acuerdo a sus condiciones de preparación: i) procesos físicos y ii) químicos [22].

Entre las principales características que se buscan en los sistemas de encapsulación son obtener altas eficiencias de encapsulación y que el costo de producción sea bajo [10]. En la industria farmacéutica los costos asociados a la encapsulación no representan limitante, debido a las altas márgenes de ganancias

obtenidas en este sector. En cambio, en la industria de alimentos puede convertirse en una limitante, debido a los bajos márgenes de ganancia de este sector [10]. De acuerdo a la literatura, el método más utilizado debido a su bajo costo y tecnología disponible es el secado por aspersion. Sin embargo, los métodos de coacervación y gelificación están ganado interés debido a su capacidad de ofrecer una liberación controlada. Este trabajo, se enfoca en la estabilización de CB empleando los métodos coacervación, gelificación y secado por aspersion

Hipótesis

Es posible conservar las características fisicoquímicas de los compuestos bioactivos microencapsulados por medio de los métodos de coacervación y gelificación.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar los métodos de coacervación y gelificación desde el punto de vista técnico en la estabilización de compuestos bioactivos obtenidos a partir de residuos agroindustriales.

Objetivos específicos

1. Evaluar experimentalmente el proceso de microencapsulación coacervación y gelificación.
2. Realizar la caracterización de las partículas obtenidas mediante los métodos de coacervación y gelificación.
3. Comparación técnico económica y ambiental de los métodos propuestos con el método convencional (secado por aspersión)

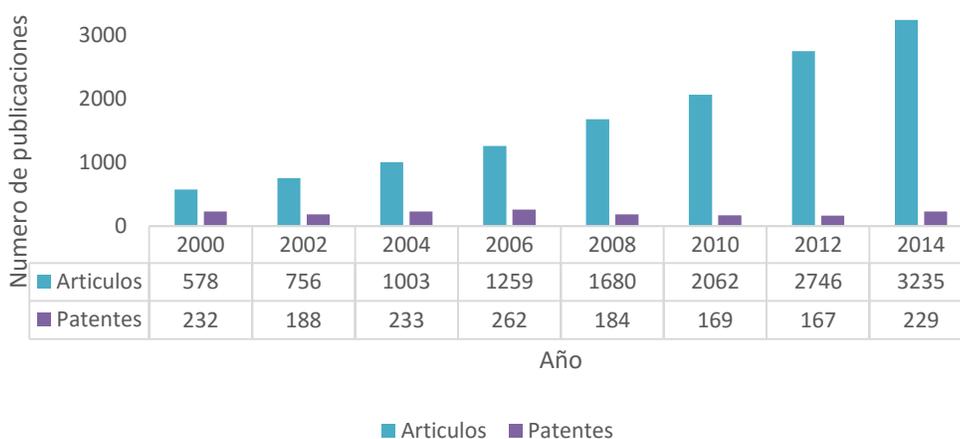
Capítulo 1: Estabilización de compuestos bioactivos

1.1 Estabilización de compuestos bioactivos

1.1.1 Alimentos funcionales

La fortificación de alimentos con diversos tipos de compuestos bioactivos (CB) ha ganado interés debido a la creciente tendencia del consumidor hacia los alimentos funcionales, los cuales se caracterizan por conferir efectos benéficos sobre la salud a quienes los consumen. El creciente interés por los alimentos funcionales, tanto por la industria (a través de patentes) como por la academia (a través de artículos científicos), se ve evidenciado en la Figura 1–1.

Figura 1–1 Número de artículos y patentes publicadas en el campo de alimentos funcionales entre los años 2000 y 2014 (Fuente Scopus, Septiembre 2015, Palabra Clave: Functional food)

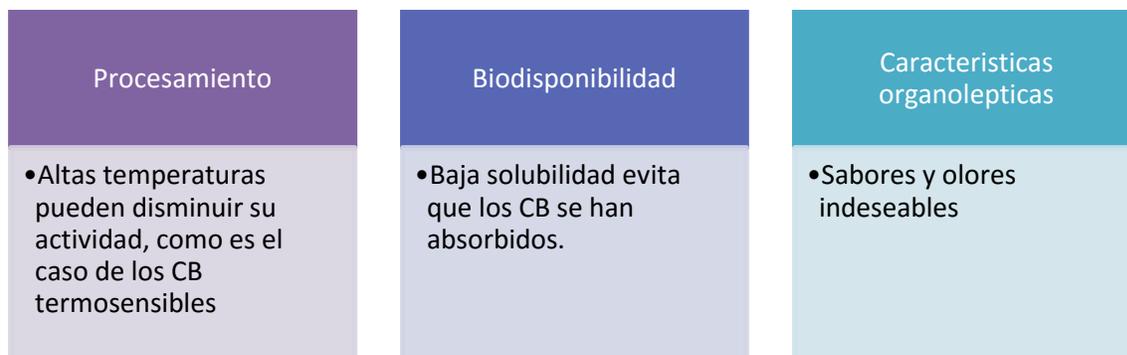


Los consumidores cada vez, tienen más conciencia de los problemas de salud, asociados a la ingesta de alimentos. Entre las principales enfermedades asociadas a la ingesta de alimentos se encuentran las enfermedades neurodegenerativas, diabetes, cáncer, y enfermedades cardiorrespiratorias [23].

1.1.2 Limitaciones de los compuestos bioactivos

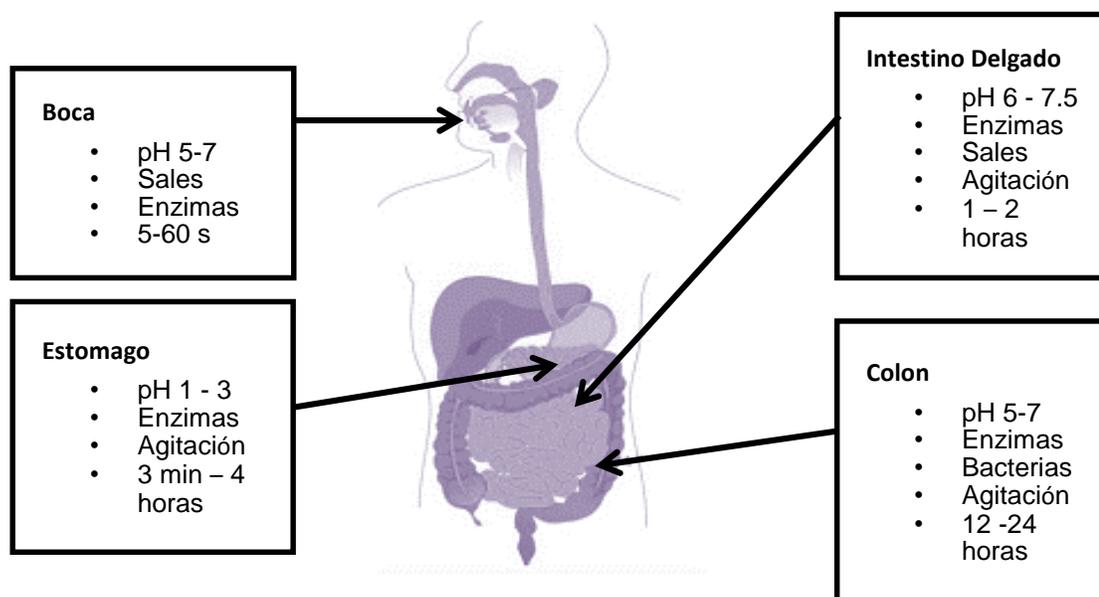
La fortificación de alimentos con CB muestra gran potencial en la industria de alimentos, debido a los beneficios que confiere al ser ingeridos. Sin embargo este tipo de compuestos no pueden ser incorporados dentro de matrices alimenticias debido a su inestabilidad química y física. Además, de la incompatibilidad entre el compuesto incorporado y la matriz [24]. Los principales factores que limitan el uso de los CB se mencionan en la Figura 1–2.

Figura 1–2 Factores limitantes del uso de CB sin estabilizar en alimentos [24]



Por otro lado, para que los CB cumplan su función deben ser absorbidos en el intestino delgado. Para que los CB lleguen hasta el intestino delgado deben soportar las condiciones adversas que presenta el tracto digestivo. Estas condiciones pueden producir la pérdida de su actividad biológica. Entre las principales condiciones adversas que presenta el tracto digestivo son los entornos ácidos y presencia de otros nutrientes, como en el caso del estómago. En la Figura 1–3 se muestran los entornos que deben recorrer los CB para ser absorbidos.

Figura 1–3 Representación esquemática de las condiciones fisicoquímicas del tracto digestivo [41].



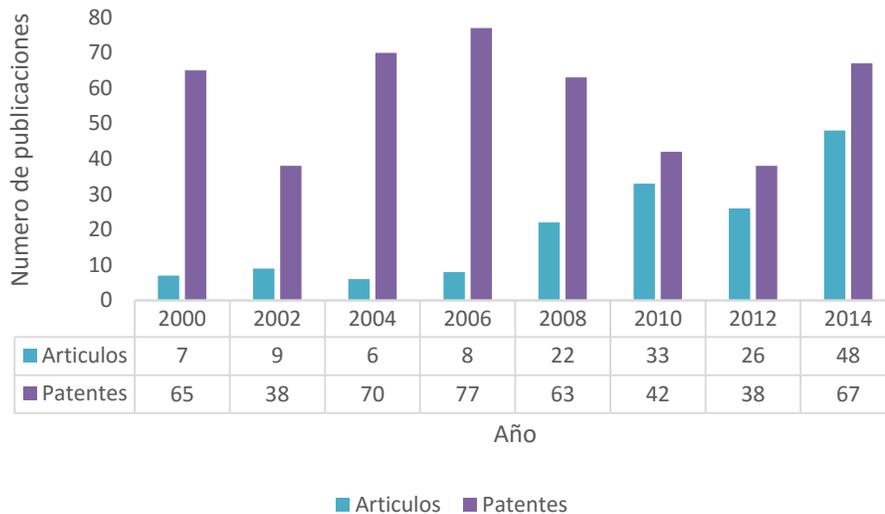
1.1.3 Estabilización de compuestos bioactivos

En busca de superar las limitaciones que presentan el uso de CB sin estabilizar (Figura 1–2) se han desarrollado sistemas de estabilización que permitan la incorporación de CB en diversas matrices de alimentos. Entre las principales razones para encapsular CB se encuentran: i) Enmascarar sabores indeseables, evitando la interacción en la boca entre el CB y los receptores de sabor, ii) proteger el CB de la degradación dentro de ciertas regiones específicas del tracto digestivo y iii) liberación de los CB en sitios específicos de acción (Figura 1–3). La incorporación de CB en diversos productos depende de sus propiedades fisicoquímicas y de la existencia de interacciones moleculares favorables con otros componentes involucrados [25].

Un factor relevante en la encapsulación de los compuestos es el método de entrega. La respuesta de liberación depende del tipo de CB estabilizado y del método de encapsulación utilizado. La cantidad de artículos científicos y patentes publicados en el

campo de estabilización de CB demuestra el interés tanto a nivel académico como en la industria (Figura 1–4).

Figura 1–4 Número de artículos y patentes publicadas en el área de estabilización de compuestos entre los años 2000 hasta 2014. (Fuente: Scopus, Septiembre 2015, Palabras Clave: Stabilization y active ingredient).



El concepto de encapsulación fue empleado por primera vez por la industria farmacéutica, para controlar la liberación de medicamentos dentro del organismo. La introducción de este concepto de encapsulación en la industria de alimentos permitió la incorporación de saborizantes en cierto tipo de alimentos (helados y yogures), así como el mejoramiento de las propiedades funcionales [24]. La cadena lógica en la elección del método de encapsulación a emplear se presenta en la Figura 1–5

Figura 1–5 Procedimiento esquemático en la estabilización de CB.



Entre los CB de gran interés en la industria de alimentos se encuentran los Compuestos fenólicos (CF) y los aceites vegetales que posean alto contenido de ácidos grasos mono y poliinsaturados. Los compuestos ricos en CF, son ampliamente conocidos por su capacidad de neutralizar los radicales libres [26]. Esta característica convierte los CF en una interesante familia de compuestos con aplicaciones nutracéuticas entre otros [26], [25].

1.1.4 Contexto colombiano: mora y aceite de aguacate

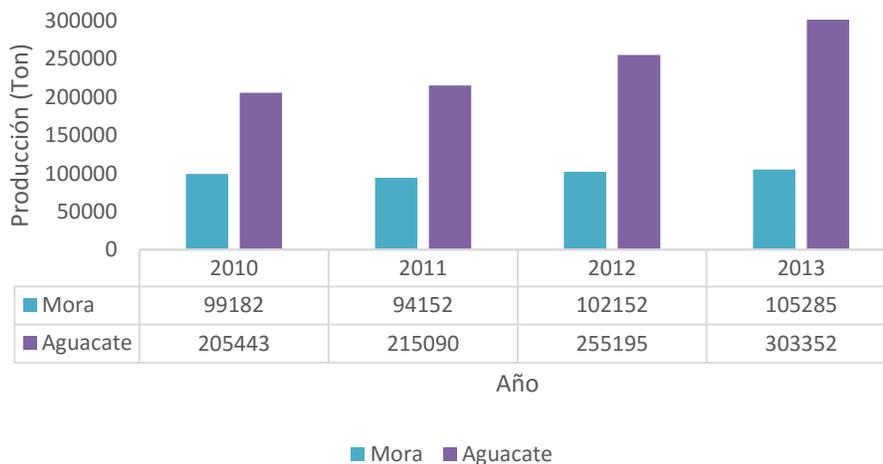
La mora (*Rubus glaucus benth.*) es una fruta conocida por poseer cantidades considerables de CF tales como antocianinas, flavonoides, ácidos clorogénicos y elagitaninos (Figura 1–6). Estos compuestos presentan alta actividad biológica y pueden ofrecer beneficios en la salud [27]. Debido a las condiciones climáticas y de suelos, Colombia presenta altos volúmenes de producción de esta fruta (Figura 1–7). Según reportes de Agronet para el año 2013, el área cultivada reportada y de producción fueron de 11,986 ha y 105,285 toneladas, respectivamente [28]. El procesamiento de la mora genera alrededor del 20% de residuos, los caules contienen considerable contenido de CF [29].

Los aceites vegetales con un alto contenido de ácidos grasos tienen un amplio rango de aplicaciones en varias industrias. Este tipo de aceites son empleados principalmente en suplementos nutricionales, y productos cosméticos [30]. Según reportes de la FAO en el año 2013, la producción mundial del fruto de aguacate fue de alrededor de 4,717,102 t/año siendo los principales productores México, República Dominicana, Colombia, Perú e Indonesia [31]. Colombia ocupó el tercer lugar con un área cultivada de 32,066.0 hectáreas, y una producción de 303,352 toneladas (Figura 1–7.)

Figura 1–6 Principales CF en la mora: antocianinas, flavonoides, elagitaninos [29].

Antocianinas	Flavonoides	Elagitaninos
<ul style="list-style-type: none"> •Cyanidin 3-galactoside •Cyanidin 3-glucoside •Cyanidin 3-arabinoside •Cyanidin 3-xyloside •malvidin 3-arabinoside •Pelargonidin 3-glucoside •Cyanidin 3-rutinoside •Cyanidin 3-sophoroside •Cyanidin 3-glucosylrutinoside •Cyanidin 3-(3-malonyl) glucoside •Cyanidin 3-(6-malonyl) glucoside 	<ul style="list-style-type: none"> •Quercetin 3- galactoside •Quercetin 3-glucoside •Quercetin 3-rutinoside •Quercetin 3-xylosylglucoronide •Quercetin 3-glucosylpentoside •Kaempferol 3-glucoronide •Kaempferol 3-glucoside •Kaempferol 3-galactoside •Kaempferol 3-xylosylglucoronide •Quercetin 3- glucoronide •Quercetin 3-methoxyhexoside •quercetin 3-oxalylpentoside 	<ul style="list-style-type: none"> •Sanguin H-6 •Lambertianin C •pedunculagin •lambertianin D •galloyl-bis-HHDP glucose •sanguin H-10 isomer •sanguin H-6 minus gallic acid moiety •lambertianin C minus ellagic acid moiety •galloyl-HHDP glucose •sanguin H-2 •sanguin H-6 plus gallic acid moiety •castalagin/vescalagin •ellagic acidi •methyl ellagic acid penstose conjugate

Figura 1–7 Producción Nacional de Mora y aguacate (Fuente Agronet, Septiembre 2015)



El aceite extraído a partir de la pulpa de aguacate se caracteriza por contener un alto porcentaje de ácido oleico (C18:1, 69-74% del total de ácidos grasos). El ácido oleico se encuentra clasificado como ácido graso monoinsaturado, el cual se ha relacionado con la prevención de cáncer de mama. Además, el AA contiene ácidos grasos poliinsaturados de las familias omega-3 y omega-6 (ω -3 y ω -6, respectivamente). De la familia ω -6, el AA contiene linolénico (C18:2, 10-14%) y de la familia ω -3 incluye alfa linolénico (C18:3, 1-2%) [32], [33].

El aceite de aguacate (AA) contiene diferentes CB, incluyendo fitoesteroles, carotenoides, alcoholes terpénicos y tocoferoles [32]. Estos ácidos se caracterizan por ser altamente fotosensible y por su tendencia a ser oxidados con facilidad, de modo que este tipo de ácidos grasos necesitan ser protegidos para poder ser incorporados en los alimentos.

En este contexto, las técnicas de encapsulación tales como PB, PH y Secado por aspersión permiten mejorar la estabilidad y biodisponibilidad de este tipo de compuestos.

1.2 Materiales empleados en la estabilización de CB

Uno de los aspectos más importantes en la estabilización de CB es la selección de los materiales apropiados. Los materiales de encapsulación empleados pueden ser proteínas, polisacáridos, fosfolípidos y surfactantes. La selección de los biopolímeros a utilizar se encuentra relacionada con las características fisicoquímicas del compuesto bioactivo a estabilizar, su potencial aplicación y al costo de los materiales de encapsulación.

El uso de biopolímeros en la fabricación de PB y PH se debe a su disponibilidad y al bajo costo que presentan. Sin embargo el diseño de sistemas de encapsulación para propósitos de estabilización, involucra los estudios sistemáticos de las propiedades funcionales de los biopolímeros por individual y la interacción molecular entre biopolímeros y los compuestos. Las dos principales clases de biopolímeros grado

alimenticio empleados durante la fabricación de partículas de biopolímeros funcionales son las proteínas y los polisacáridos.

1.2.1 Proteínas

Las proteínas son utilizadas en la fabricación de PB en su estado natural, o pueden ser modificadas (química, física, o enzimática) con el fin de ser empleadas en campos específicos. En general, las proteínas poseen superficie activa (responden al entorno) debido a que contienen una mezcla de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos a lo largo de su cadena de polipéptidos [17]. Las características específicas de las proteínas de grado alimenticio que se utilizan en la fabricación de partículas de biopolímeros se muestran en la Tabla 1–1 y Tabla 1–2.

Tabla 1–1 Propiedades moleculares de las proteínas empleadas en la fabricación de PB [34][35].

Propiedades Moleculares	Proteínas
Conformación molecular	Globular: Con residuos no polares en su interior Lineal: Estructura secundaria
Características eléctricas	Positiva: - NH ₃ ⁺ Negativo: - COO ⁻ pI: Positivo y negativo
Características hidrofóbicas	Funcionalidad: Superficie (efectiva) en comparación con el interior (ineficaz)
Interacciones físicas	Van der Waals, electrostática, hidrofóbica y enlaces de hidrogeno
Reactividad química	Intercambios disulfuro, deshidratación, reacciones de Maillard, reacciones transglutaminasa

pI: Punto isoeléctrico

Tabla 1–2 Características de las proteínas empleadas en la fabricación de PB [34]

Nombre	Fuente	Tipo de estructura	pl	Solubilidad
β - lactoglobulina	Leche	Globular	~ 5.0	Agua
Caseína	Leche	Flexible	~ 4.6	Agua
Albúmina de suero bovino	Leche / Sangre	Globular	~ 4.7	Agua
Lactoferrina	Leche	Globular	~ 8.0	Agua
Ovoalbúmina	Clara de huevo	Globular	~ 4.6	Agua
Lisozima	Clara de huevo	Globular	~ 11.0	Agua
Fosvitina	Yema de huevo	Globular	~ 4.0	Agua
α -Lactoalbumina		Globular	~ 4.0	Agua
Gelatina	Colágeno animal	Flexible	~ 8 ^A	Agua
Proteína de arveja	Arveja	Globular		
Proteína de soja	Soja	Globular	~ 5.0	Agua
Zein	Maíz	Globular	~ 6.2	Solvente orgánico

1.2.1.1 Caseína

La Caseína es una proteína aislada de la leche que una estructura abierta con segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos. La caseína puede ser utilizada en la liberación de compuestos en sitios específico debido a su digestibilidad, y baja toxicidad [36]. Esta característica convierte a la caseína en una proteína con potencial para ser utilizado en el desarrollo de sistemas de encapsulación.

1.2.2 Polisacáridos

Los polisacáridos se caracterizan por poseer económicos y presentar alta disponibilidad [37]. Al igual que las proteínas, los polisacáridos pueden ser modificados (física, química y enzimática) teniendo en cuenta su potencial aplicación. Las propiedades moleculares de los principales polisacáridos se encuentran en la Tabla 1–3. En general, los polisacáridos son moléculas hidrofílicas y sus mecanismos de estabilización son basados en incrementar la viscosidad de la fase acuosa, inhibiendo el movimiento de las partículas presentes [17].

Tabla 1–3 Propiedades moleculares de los polisacáridos empleados en la fabricación de PB.

Propiedades Moleculares	Proteínas
Conformación molecular	Lineal o espiral aleatoria
Características eléctricas	Positiva: - NH ₃ ⁺ Negativo: - COO ⁻ , -SO ₄ ⁻
Características hidrofóbicas	Interacción con residuos no polares, conjugación con proteínas
Interacciones físicas	Van der Waals, electrostática, hidrofóbica y enlaces de hidrogeno
Reactividad química	Conjugación, esterificación, radicalización, despolimerización,

1.2.2.1 Pectina

La pectina es un polisacárido que posee iones con cargas eléctricas negativas (aniónico). Su pKa (fuerza que tienen las moléculas de disociarse) se encuentra entre 2.9 y 3.5 [38]. La carga eléctrica de la pectina es producto de la relación entre el pH y su pKa. De este modo, las pectinas tienden a tener carga negativa a valores de pH altos y carga eléctrica neutra a pH bajos.

Las pectinas pueden ser clasificadas como pectinas de bajo metoxilo (BM) y alto metoxilo (AM). Pectinas AM forman geles bajo condiciones ácidas, lo cual es atribuido a la reducción de la repulsión electrostática a valores de pH bajos. Pectinas BM forman geles en la presencia de iones de calcio, lo cual es atribuido a la capacidad de los iones de calcio divalente catiónicos (Ca^{2+}) para formar enlaces electrostáticos entre las regiones aniónicas de la estructura de la pectina [34].

1.2.2.2 Goma arábica

La goma arábica (GA) es el principal polisacárido natural que se utiliza en la industria de alimentos. Este polisacárido es extraído de los exudados de Acacia Senegal y se compone de un alto número de fracciones de alto peso molecular. La GA es altamente hidrosoluble y posee una baja viscosidad en comparación con otras gomas diluidas, esto se debe a su estructura compacta [39].

1.2.2.3 Maltodextrina

La maltodextrina es un polisacárido hidrosoluble de alto peso molecular que se emplea en la estabilización de compuestos a través del método de secado por aspersión. El secado por aspersión, el alto peso molecular de la maltodextrina previene la adherencia del producto en la cámara de secado y reduce la higroscopicidad del polvo. Otra característica importante de usar maltodextrina en secado por aspersión son las altas eficiencias de encapsulación que se obtienen [40].

Tabla 1–4 Polisacáridos empleadas en la estabilización de CB [34][41].

Nombre	Fuente	Tipo de estructura	Carga	pKa	Gelificación
Carragenina	Algas	lineal / helicoidal	Aniónico	-2,0	Enfriamiento (K^+ o Ca^{2+})
Alginato	Algas	Lineal	Aniónico	-3.5	Entrecruzamiento Ca^{2+}

Pectina	Paredes celulares de las plantas	Ramificado	Aniónico	2.9 - 3.3	Azúcar/Calentamiento (AM); Ca ²⁺ (BM)
Pectina a partir de remolacha	Pulpa de remolacha azucarera	Ramificado	Aniónico	2.9 - 3.3	Calentamiento (AM); Ca ²⁺ (BM)
Goma arábica	Savia de acacia	Ramificado	Aniónico	~3,5	Forma geles a altas concentraciones
Quitosano	crustáceos invertebrados	Lineal	Catiónico	~6,5	Entrecruzamiento polifosfato
Goma xantana	<i>Xanthomonas campestris</i>	lineal / helicoidal	Aniónicos	~3.5	Forma geles a altas concentraciones

1.2.3 Surfactantes

Los surfactantes son utilizados en la de y la estabilidad de CB hidrofílicos y lipofílicos. La fuerza conductora que permite la obtención de sistemas de encapsulación es el auto-ensamble a través de efectos hidrofóbicos. De este modo, se evita emplear métodos mecánicos (homogenización) en la estabilización de los CB.

Surfactantes hidrosolubles con un balance entre sus grupos hidrofílicos y lipofílico (BHL) entre 8 y 18 se emplean en la formación de emulsiones oleosas en acuosas (O/W), permitiendo que las moléculas oleosas puedan ser incorporadas en productos acuosos. Surfactantes liposolubles con BHL entre 2 y 6 son utilizados en la formación de emulsiones agua en aceite (W/O).

Las emulsiones O/W son utilizadas en la estabilización de CB lipofílicos. No obstante, las emulsiones son inestables a condiciones expuestas durante su producción, transporte, y almacenaje. En busca de sobrepasar estas limitantes, se emplea tipos alternativos de emulsiones como las PH.

Tabla 1–5 Tipos de Surfactantes empleados en la estabilización de CB [34].

Nombre	Característica	Abreviación	Solubilidad	Numero BHL
Lecitina	Iónico - Híbrido		Agua - Aceite	2-8
Monoleato de Sorbitano		Span 80	Aceite	4.3
Triestearato de sorbitano		Span 65	Aceite	2.2
Monoestearato de sorbitano		Span 60	Aceite	4.7
Monopalmitato de Sorbitano		Span 40	Aceite	6
Monolaureato de sorbitano	No iónico	Span 20	Aceite	8.6
Poliglicerol poliricinoleato		PGPR	Aceite	1.5
Polisorbato 80		Tween 80	Agua	15
Polisorbato 60		Tween 60	Agua	14.9
Polisorbato 40		Tween 40	Agua	15.6
Polisorbato 20		Tween 20	Agua	16.7

1.3 Métodos de estabilización

Existen diferentes métodos de encapsulación de CB basados en procesos, físicos, físico-químicos y químicos. Entre los métodos de encapsulación basada en la modificación de las propiedades fisicoquímicas se encuentra las PB. Las principales fuerzas de interacción involucrados en la formación de las PB se encuentran en la Tabla 1–6.

Los métodos empleados durante la fabricación de PB pueden ser clasificados en dos categorías: reducción de tamaño de partícula (RTP) e incremento del tamaño de partícula (ITP).

Tabla 1–6 Interacciones fisicoquímicas entre biopolímeros y factores relevantes

Tipo de interacción	Signo	Efecto del entorno
Interacción electrostática	Atractivo: Cargas opuestas.	Magnitud: <ul style="list-style-type: none"> • pH • Constante dieléctrica del biopolímero
	Repulsivo: Cargas similares	Rango: <ul style="list-style-type: none"> • pH • Fuerza iónica • Constante dieléctrica
Enlaces de hidrogeno	Atractivo	Magnitud: <ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • Constante dieléctrica del solvente
Interacciones hidrofóbicas	Atractivo	Magnitud y rango: <ul style="list-style-type: none"> • Características del biopolímero • Constante dieléctrica • Temperatura
Efecto de volumen excluido	Atractivo	Magnitud y rango: Conformación del biopolímero

1.3.1 Reducción de tamaño de partícula

La RTP involucra la reducción del tamaño de partículas sólidas o líquidas. En esta categoría, el sistema más relevante de encapsulación es aquella basada en emulsiones (Tabla 1–4). La fabricación de emulsiones se puede realizar empleando dos enfoques: alto y bajo consumo energético.

En el enfoque de alto consumo energético las partículas son producidas por medio de equipos mecánicos tales como los homogeneizadores. Estos equipos se caracterizan por tener un alto costo en el mercado, además de los altos costos asociados a su operación y mantenimiento. En cambio, el enfoque de bajo consumo energético se caracteriza por ser un método económico y fácil de implementar en la industria [42]. Este enfoque de bajo consumo energético está relacionado al método de formación espontánea de partículas. No obstante, este enfoque requiere altas cantidades de surfactantes y las emulsiones formadas son inestables a temperaturas elevadas debido a la naturaleza de los surfactantes empleados [43].

1.3.1.1 Emulsificación espontánea

La emulsificación espontánea es el método de bajo consumo energético de mayor uso y se caracteriza por producir partículas con tamaños de partícula pequeños [44]. El método de estabilización se basa en poner el surfactante junto con la fase oleosa, esta mezcla es llamada fase orgánica. La fase orgánica se inyecta en la fase acuosa. Al realizar alteraciones en el sistema tales como mezclado, los surfactantes migran de la fase oleosa a la fase acuosa, produciendo las partículas [45].

1.3.1.2 Partículas de hidrogel

Las partículas obtenidas por medio de emulsificación espontánea son inestables a cambios térmicos. Con el propósito de resolver estos inconvenientes se puede incorporar la fase orgánica (surfactante + fase oleosa) en una fase acuosa que contenga algún tipo de biopolímero (gelatina), la cual inhibe la agregación de partículas.

Las partículas de hidrogel (PH) se forman en dos etapas. La primera etapa comprende la preparación de una emulsión O/W, (a través de emulsificación espontánea) homogenizando la fase oleosa con el surfactante. La segunda etapa consiste en combinar las partículas obtenidas en la emulsificación espontánea, en una solución de biopolímeros. La mezcla es sometida a alteraciones del entorno (temperatura, agitación) con el propósito promover la formación de las PH [46].

Tabla 1–7 CB lipofílicos estabilizados empleando PH.

Compuesto	Fase oleosa	Biopolímeros	Formación	Reference
CB lipofílico	Aceite de maíz	Caseína : Gelatina	IE	[47]
CB lipofílico	Aceite de maíz	Alginato: Caseína	IE	[48]
CB lipofílico	Aceite de canola	Caseína : Pectina AM	IE	[44]
CB lipofílico	Aceite de pescado	Caseína : Pectina BM	IE	[20]
Omega - 3	Aceite de pescado	Caseína : Pectina de AM	IE	[49]

IE: Interacción electrostática

Tabla 1–8 CB estabilizados empleando emulsificación espontánea.

Compuesto	Fase oleosa	Biopolímeros	Surfactante	Referencia
CB lipofílico	MCT	Gelatina : Gelatina de postres	Tween 80	[50]
Vitamina E	MCT	NA	Tween 80	[43]
CB lipofílico	Aceite de canola, MCT	NA	Span 20 Tween 20, 40, 60, 80 y 85	[42]
Aceite esenciales (Thyme oil)	Aceite de maíz	NA	Tween 80	[45]

MCT: Triglicéridos de cadena media

NA: No aplica

En la industria de alimentos, los hidrogeles son fabricados empleando biopolímeros. La naturaleza de los biopolímeros empleados durante su fabricación determinan las propiedades físico-químicas y funcionales de los hidrogeles. El costo de las proteínas representa un alto costo para el proceso. De modo, que encontrar proteínas de bajo costo es de gran interés en el desarrollo de sistemas de encapsulación viables a nivel industrial.

1.3.2 Incremento de tamaño de partícula

En el caso de los métodos ITP se caracterizan por crear partículas por medio de auto-ensamble de las moléculas debido al cambio en las condiciones del entorno, tales como el pH, fuerza iónica, temperatura, o concentración [51]. En los métodos ITP empleados para preparar PB actúan principalmente dos tipos de fuerzas: i) asociativa y ii) segregativa [52]. Estos métodos dependen de las condiciones en que se encuentren los biopolímeros y el solvente involucrado, además de la naturaleza del mecanismo que induce la formación de las PB.

1.3.2.1 Partículas de biopolímeros

Las PB son estructuras coloidales que pueden ser elaboradas a partir de uno o más tipos de moléculas de biopolímeros las cuales tienen un número de potenciales aplicaciones en diversos campos. Por ejemplo en la industria de alimentos, las PB pueden ser empleadas para encapsular y proteger CB o para modificar la estabilidad, textura, y propiedades ópticas en productos alimenticios (Tabla 1–9) [53]. Las proteínas contribuyen a aumentar la eficiencia de encapsulación proporcionando afinidad para unirse a los CB a través de enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, mientras que los polisacáridos funcionan como una barrera para proteger la degradación enzimática de las proteína en el estómago y por lo tanto proporcionar una liberación de los compuestos encapsulados en el intestino delgado [52].

Tabla 1–9. Compuestos bioactivos estabilizados por medio de PB.

Clase	CB	Biopolímero	Método de formación	Referencia
Carotenoides	Curcumina	Caseína	Auto-ensamble	[54]
	Curcumina	Zein / Pectina	Interacción electrostática	[55]
Ácidos grasos	α - Ácido linoleico	β -lactoglobulina / Pectina	Interacción electrostática	[56]

Compuestos fenólicos	Catequinas	Policaprolactona (PCL) / Alginato	Precipitación antisolvente	[57]
	Ácido clorogénico	Quitosano / trifosfato de sodio	Gelificación ionotrópica	[58]
	Ácido elálgico	Trifosfato de sodio / Quitosano	Gelificación ionotrópica	[59]
	Quercetina	Zein : Caseinato de sodio/	Precipitación antisolvente	[60]
	Resveratrol	Glianidin: Zein : Caseinato de sodio / Pectina	Precipitación antisolvente	[14]
	Antocianinas	Caseína / Pectina AM	Interacción electrostática	[46]
	Timol (2-isopropil- 5-metilfenol)	Zein: Caseína / Quitosano	Interacción electrostática	[61]
	3',4',5,7 – tetrahydroxyflavone – 3- rutinoside	Caseína / Pectina	Interacción electrostática –gelificación.	[36]
Vitaminas	Riboflavina (Vitamina B2)	Caseína / Quitosano	Interacción electrostática	[62]
	α-Tocoferol (Vitamina E)	Zein / Quitosan	Interacción electrostática	[63]
Mezcla de bioactivos	Indole-3- carbinol and 3,3- diindolyBMethane	Zein / Carboximetil quitosan	Separación de fases - Gelificación	[64]

1.3.2.2 Secado por aspersión

El secado por aspersión es la tecnología de encapsulación empleada por la industria de alimentos en la estabilización de colorantes naturales y CB. Este método se caracteriza por trabajar en continuo, ser de bajo costo y producir capsulas de buena calidad. Además la tecnología requerida para producir las capsulas se encuentra disponible [65]. El secado por aspersión se ha utilizado para estabilizar ciertas clases de compuestos fenólicos, algunos de los principales se encuentran en la Tabla 1–10.

Tabla 1–10. CB estabilizados por medio de secado por aspersión.

Clase	CB	Fuente	Biopolímero	Referencia
Compuestos fenólicos	Antocianinas	Zanahoria negra	Maltodextrina [28 – 31 DE]	[66]
			Glucodry 210 [20-23 DE]	
	Procianidinas	Semillas de uva	Goma arábica (40%) y maltodextrina (60%)	[67]
			Polifenoles	Grosella negra (<i>Ribes nigrum</i>)
Polifenoles	Cascara de granada	Maltodextrina DE (14-17) DE (18 - 20) DE (13 – 17) DE (16.5 – 19.5)	[65]	

DE: Dextrosa equivalente

Capítulo 2: Materiales y Métodos

Uno de los factores más críticos al momento de estabilizar CB es la selección de materiales apropiados. El potencial uso industrial de los CB estabilizados por medio de encapsulación se encuentra ligado a los métodos y condiciones de fabricación, además de los materiales involucrados durante la estabilización. Un CB estabilizado ideal debe ser formado completamente a partir de materiales grado alimenticio, brindar protección contra condiciones adversas del entorno y poseer alta eficiencia de carga. Entre los materiales empleados en la fabricación de cápsulas capaces de estabilizar CB se encuentran: i) proteínas, ii) polisacáridos, y iii) surfactantes. El uso de los materiales puede ser por individual o en combinación.

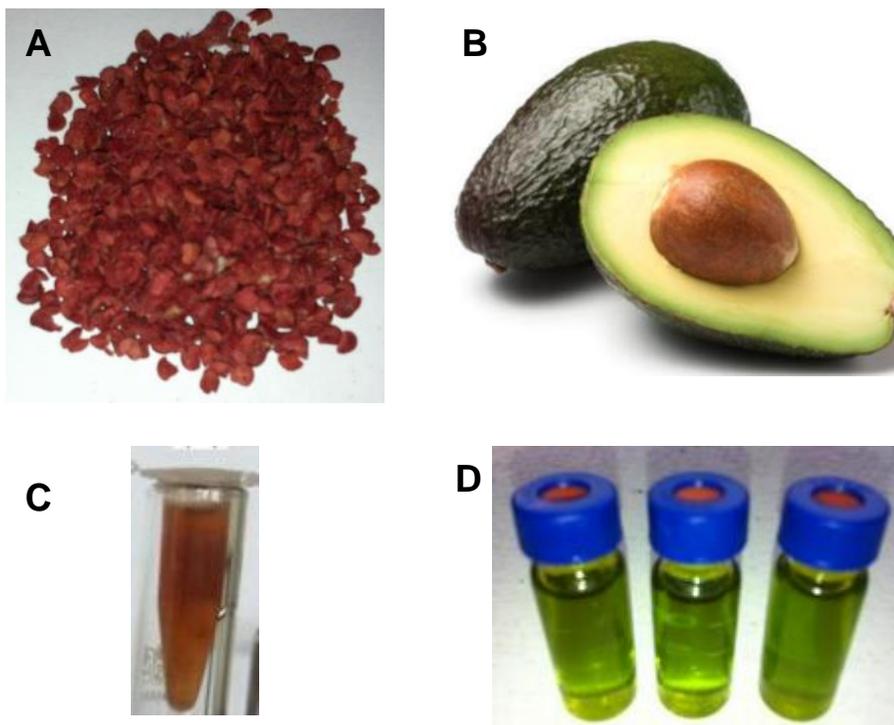
Con el propósito de establecer las condiciones del proceso en las cuales se obtienen alta eficiencia de encapsulación de CB, se tomó la decisión de emplear materiales grado analítico durante la parte experimental, a pesar de conocer el alto costo que representa el uso de estos materiales a nivel industrial.

2.1 Materiales

El polisorbato 80 (Tween 80) se compró a Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA). Gelatina comercial (Frutiño sin sabor) y Aceite de oliva (Olivetto) se adquirió de un distribuidor local (Manizales, Caldas, Colombia). Goma arábica y Pectina de AM (Genu Pectin (Citrus)) se compró a CP Kelco (Atlanta, Georgia, USA). Su grado de esterificación fue aproximadamente 61.4%. Maltodextrina (Dextrosa equivalente (DE 21)) se compró de Shandong Bangye Co Ltda (Yishui, Shandong, China) Caseína en polvo, se compró de Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Todos los reactivos químicos empleados durante el desarrollo de la parte experimental se compraron a Sigma Aldrich (St. Louis, USA). Agua grado HPLC se empleó durante la preparación de las soluciones y las emulsiones. Los CB a estabilizar: extracto de mora rico en compuestos fenólicos (BE) y aceite de aguacate (AA) fueron producto del desarrollo de la tesis de Doctoral de Javier Dávila Rincón (2015)

[69]. El extracto de mora se obtuvo a partir del residuo de su procesamiento de la fruta (semilla y pulpa), los cuales fueron suministrados por Frugy S.A (Manizales, Colombia). El fruto de aguacate se compró a un distribuidor local en Manizales, Colombia.

Figura 2-1. Materias primas y CB empleadas durante el trabajo: a) residuo de mora, b) fruto de aguacate, c) extracto de mora, y c) aceite de aguacate [69]



2.2 Métodos experimentales.

Durante el desarrollo del trabajo de investigación se estabilizaron los CB empleando los métodos de encapsulación: i) partículas de biopolímeros, ii) Secado por aspersion y iii) partículas de hidrogel. Las PB y Secado por aspersion se elaboraron con el propósito de estabilizar extractos ricos en CF y las PB se fabricaron para estabilizar AA.

2.2.1 Partículas de biopolímeros

2.2.1.1 Preparación de las soluciones de caseína, pectina y goma arábica

Las soluciones acuosas de caseína (CB) (5% w/v), Pectina cítrica (Pe) (2% w/v) y goma arábica (GA) (2% w/v) se prepararon dispersando cada polímero dentro de una solución buffer fosfato (10mM ; pH 7.0; 500 rpm; 25°C). La solución se dejó durante la noche hasta completar la hidratación. Transcurrido este periodo se ajustó el pH de las soluciones a 6.0.

2.2.1.2 Preparación de partículas de biopolímeros sin extracto

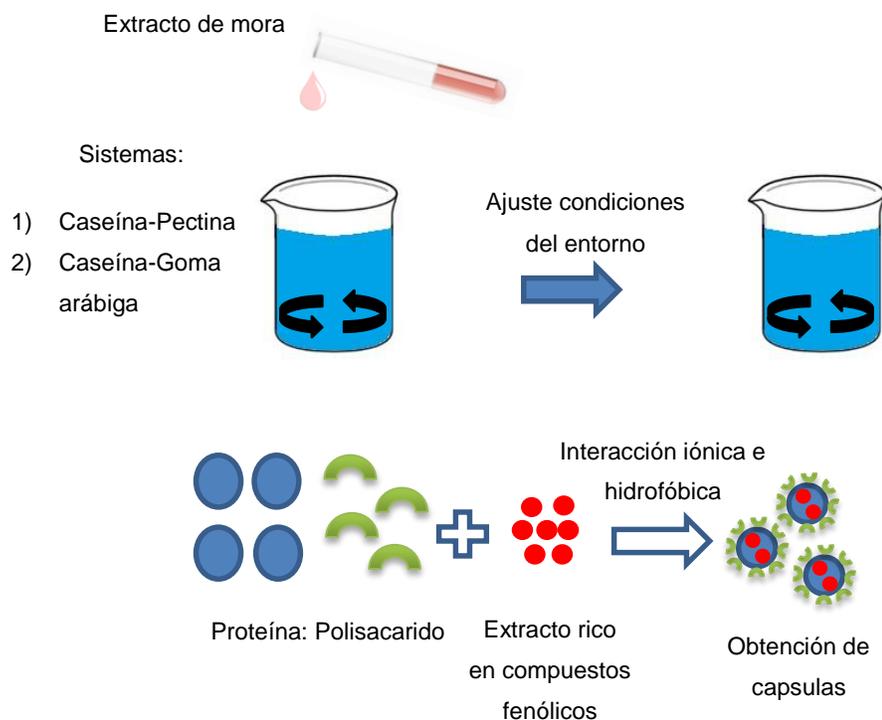
Las PB sin carga se fabricaron siguiendo el procedimiento descrito por Arroyo & McClements [46] con algunos modificaciones. En total se elaboraron 2 sistemas de estabilización: i) caseína – pectina y ii) caseína-goma arábica. A cada sistema (mezcla de las soluciones de biopolímeros) se les evaluó diferentes relaciones v/v (1:1, 2:1 y 1:2). Los sistemas se sometieron a agitación constante a 200 rpm durante un periodo de 3 minutos. Luego a los sistemas se les ajustó el pH a 6 y se sumergió en baño maría a 90°C durante 5 minutos con el fin de promover el desdoblamiento de la proteína globular (caseína). Después tratamiento térmico, se realizó un paso de acidificación con el objetivo de promover la adsorción de las moléculas de pectina sobre la superficie de las partículas de proteína. Luego se ajustó el pH de la solución desde 6 a 4.0 agregando HCL 0.1 M.

2.2.1.3 Preparación de PB con carga.

A partir de los sistemas de estabilización elaborados en el numeral anterior (2.2.1.2.) se evaluó su capacidad de incorporación de extractos de mora ricos en CF (Figura 2–2). La solución del extracto se agregó a los sistemas de encapsulación hasta alcanzar una concentración de 300 o 600 mg/mL, considerando los resultados encontrados por Arroyo-Maya & McClements 2015 [46]. Los sistemas con el extracto se sometieron a

calentamiento térmico en baño maría a 90°C durante un periodo de 5 minutos. Luego del calentamiento, se realizó una etapa de acidificación donde se ajustó el pH desde 6.0 a 4.0 con HCL (0.1 M). La resultante suspensión de PB se almacenaron a 4°C hasta futuros análisis.

Figura 2-2 Esquema de estabilización de CF empleando PB



2.2.2 Partículas de Hidrogel

2.2.2.1 Formación de emulsión

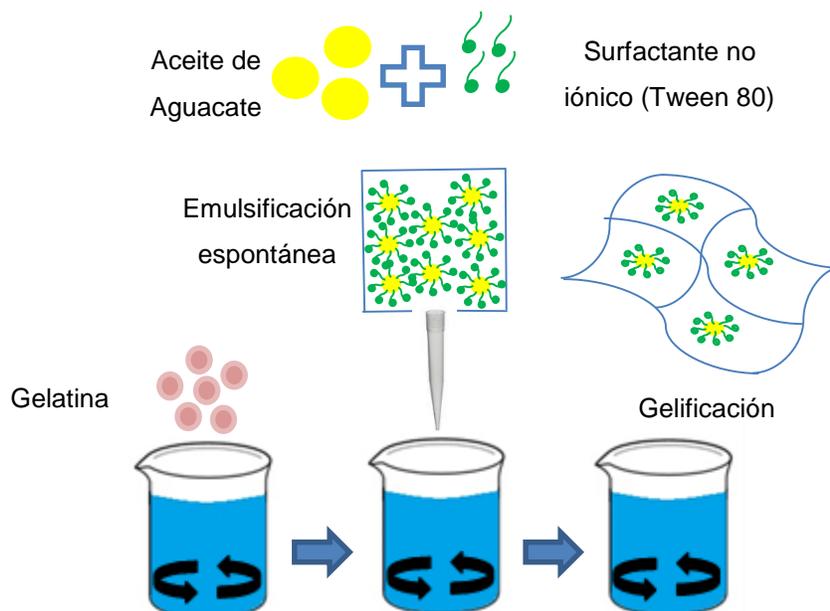
La emulsión se prepararon empleando el método de emulsificación (EES) espontanea empleando un tween 80. La emulsión se realizo con el objetivo de facilitar la formación de partículas con diámetros pequeños. La fase oleosa que se empleó fue AA. La EES se llevó a cabo siguiendo la metodología desarrollada por Komaiko & McClements 2015 [50], la

cual consiste en la adición de la fase oleosa y el surfactante dentro de una solución acuosa a 60°C. La fase orgánica se encuentra compuesta por la fase oleosa y el surfactante. La fase orgánica se agregó empleando una micropipeta durante un periodo de 10 minutos. Luego de agregar la fase orgánica a la fase acuosa, la mezcla se agitó durante un periodo de 10 minutos. Las emulsiones tuvieron una relación surfactante: fase oleosa fue de 1. El sistema consiste en 1% (p/p) Aceite de aguacate, 1% (p/p) Surfactante (Tween 80), y 98% (p/p) de la fase acuosa (Figura 2–3).

2.2.2.2 Formación de partículas de hidrogel

Las condiciones de preparación de las PH en la estabilización de aceite de aguacate se realizaron por medio de hidrogeles. La metodología se basó en los estudios publicados previamente por Komaiko & McClements 2015 [50]. La solución acuosa se sometió a calentamiento (60°C) y agitación durante un periodo de 10 minutos antes de la dilución de la gelatina. La gelatina en polvo fue gradualmente agregada en un la solución acuosa a 60°C con agitación constante (Figura 2–3). Las muestras se dejaron equilibrar a temperatura ambiente (~25°C) durante una hora con el fin de promover la formación del gel. El sistema de PH final contiene 2% (p/p) de gelatina.

Figura 2–3 Representación de la formación de hidrogeles en la estabilización de aceite de aguacate.

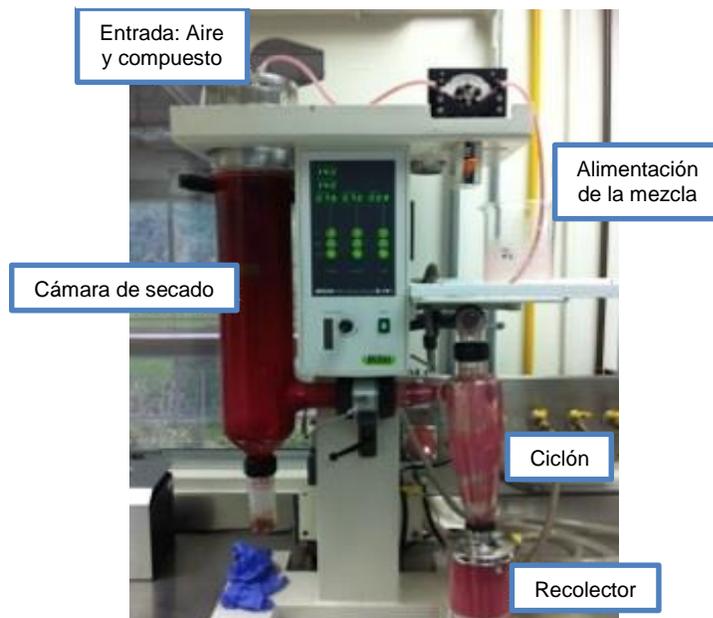


2.2.3 Secado por aspersión

El extracto de mora rico en CF, el cual contiene un contenido de sólidos de 9 °Brix se suplemento con maltodextrina hasta obtener una concentración de sólidos de 18, 27 y 36 °Brix. Luego, la mezcla soluciones obtenidas se sometieron a agitación (300 rpm) en condiciones oscuras hasta diluir completamente.

El proceso de estabilización se realizó empleando un secado por aspersión a escala de laboratorio (Model B191, Buchi, Laboratoriums – Technik, Flawil, Switzerland). Las condiciones en la cual se llevó el proceso de estabilización se basó en estudios realizados por Ferrari et al [70]–[73] La mezcla a estabilizar se alimentó al interior de la cámara de secado a temperatura ambiente (25°C) empleando una bomba peristáltica con un flujo ajustado a 0.44 L/h. La temperatura del aire de entrada fue 160°C y temperatura de salida estuvo entre 75 a 80°C. El tamaño del atomizador fue de 0.7 mm de diámetro. El flujo de aire de entrada fue 0.36 m³/ h. El polvo obtenido se almaceno en recipientes ámbar y se almacenaron a 4°C hasta realizar la caracterización (Figura 2–4).

Figura 2–4 Equipo de secado por aspersión.



2.3 Caracterización de los CF estabilizados

2.3.1 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las muestras fue analizado a diferentes pH (4 - 6) empleando un Instrumento de dispersión dinámica de luz (Zetasizer Nano ZS series, Malvern Instruments Ltda, Malvern, UK) (Figura 2–5). Las muestras a ser analizadas fueron diluidas agregando 10 μL del sistema dentro de 5 mL de buffer fosfato (10 mM). El buffer se encuentra al mismo pH de la muestra con el objetivo de evitar los múltiples efectos de dispersión [47]. El fundamento de la técnica se basa en la dispersión de la luz por las partículas debido al movimiento browniano en movimiento en un líquido [74]. El movimiento de las partículas es relacionado con el tamaño de las partículas. Cada valor arrojado por el equipo fue un promedio de 13 corridas.

2.3.2 Carga eléctrica (ζ - Potencial)

La carga eléctrica de las partículas se midieron a diferentes pH (3 - 6) empleando un equipo de electroforesis de partícula (Zetasizer Nano ZS series, Malvern Instruments Ltda, Malvern, UK) (Figura 2–5). Las muestras fueron diluidas antes de realizar la medición agregando 10 μL del sistema dentro de 5 mL de buffer fosfato 10 mM. El buffer se encuentra al mismo pH de la muestra. Los sistemas diluidos se introdujeron en celdas y se realizaron las mediciones. La técnica se basa en determinar la dirección y velocidad de las partículas en movimiento en un campo eléctrico aplicado. El potencial- ζ proporciona una estimación de la carga neta de una partícula real más la carga asociada con cualquier de los iones que se mueven junto con la partícula en el campo eléctrico. Una medición de potencial- ζ individual reportada por el equipo es el promedio de 3 lecturas tomadas de la misma muestra.

Figura 2–5 Instrumento de electroforesis de partícula (Zetasizer, Nano ZS series, Malvern Instruments Ltda, Malvern, UK)



2.3.3 Determinación de Compuestos Fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) se determinó empleando el método Folin – Ciocalteu [75]. En el caso de los compuestos estabilizados se realizó una etapa adicional en comparación con las muestras sin estabilizar. La etapa adicional consiste en realizar una ruptura de la capa que rodea los compuestos bioactivos. Esta ruptura se realizó sacando una alícuota del sistema que contiene las capsulas formadas y diluirla en dimetil sulfóxido (DMSO) a una relación 1:5 (v/v) entre las capsulas y el solvente. Luego, se cogió una alícuota de 0,2 mL del sistema diluido junto con 1 mL del reactivo Folin – Ciocalteu y se agregaron a 4,8 mL de agua destilada. La mezcla se sometió a agitación y se agregó 1 mL de una solución de carbonato de sodio al 20% (Na_2CO_3). Las soluciones se dejaron en reposo a temperatura ambiente en condiciones oscuras durante un periodo de 2 horas. Se tomaron alícuotas de las muestras para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) empleando un espectrofotómetro (Jenway UV/ Visible Spectrophotometer, Thermo - scientific, Staffordshire, UK) a una longitud de onda 765 nm. Ácido gálico se empleó en la elaboración de la curva estándar. El contenido de CF se realizó por triplicado y los datos se reportaron como mg de ácido gálico equivalente por g de extracto (mg GAE g^{-1}).

2.3.4 Determinación de la Eficiencia de Encapsulación

La eficiencia de encapsulación (EE) se determinó centrifugando a 6000 rpm (Hermle Labortechnik GmbH, Germany) una alícuota del sistema en el cual se encuentran las PB cargadas con los extractos ricos en CF con el objetivo de separar los compuestos atrapados y compuestos libres en la solución. La concentración de los compuestos fenólicos libres (CFL) (no encapsulados) en la solución acuosa se determinó midiendo la absorbancia a 765 nm en espectrofotómetro (Jenway UV/ visible spectrophotometer, Thermo-scientific, Staffodshire, UK). La cantidad de compuestos fenólicos libres se determinó a partir de una curva estándar y la eficiencia de carga se calculó empleando la Ecuación 1.

$$\%EE = \frac{CFT - CFL}{CFT} \times 100 \quad \text{Ecuacion (1)}$$

Donde: *CFT* = Compuestos fenólicos totales

CFL = Compuestos fenólicos libres

2.3.5 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los sistemas se determinó midiendo la capacidad de los compuestos fenólicos en las muestras para secuestrar radicales libres DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) siguiendo el método de Brand-Williams [76]. La solución de DPPH se elaboró disolviendo 20 mg de DPPH en 100 ml de etanol y se almacenó a -20°C. El grado de decoloración de la solución indica la eficiencia anti-radical de la sustancia añadida. Cada muestra fue diluida. Luego se adicionó 150 µL de las diluciones de las muestras en 2850 µL de la solución de DPPH (0.2 mM) y se dejó en reposo en ausencia de luz durante 60 minutos. La absorbancia de la solución se midió en espectrofotómetro a 515 nm (Jenway UV/ visible spectrophotometer, Thermo-scientific, Staffodshire, UK). Soluciones de trolox desde 100 a 1000 µM se agregaron a la solución DPPH como estándar. Los resultados son expresados en términos capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC, por sus siglas en inglés).

2.3.6 Morfología de partícula

La morfología de partícula y la apariencia de las partículas fueron analizadas empleando microscopio electrónico de barrido (SEM) (FEI QUANTA 250) (Figura 2–6). El SEM se emplea para observar la forma de las partículas formadas. Antes de realizar la medición empleando SEM los sistemas evaluados fueron sometidos a liofilización con el objetivo de obtener los compuestos en forma sólida.

Figura 2–6 Microscopio de barrido electrónico (SEM) FEI Quanta™ 250



2.4 Descripción del proceso de simulación

2.4.1 Proceso de simulación

Los datos obtenidos durante el desarrollo de la parte experimental son la base del desarrollo de la simulación. EL proceso se evaluó para una base de cálculo de 1 t/h, para ambos casos: CF y AA. Esta base de cálculo se estimó considerando el volumen total de producción nacional (Figura 1–7). Estos datos son alimentados al proceso de simulación. La principal herramienta de simulación empleada fue el paquete Aspen Plus v8.0 (Aspen Technology, Inc., USA). Algunos de los compuestos involucrados en el desarrollo de la

simulación no se encontraron en la base de datos de Aspen Properties, de modo que fue necesario calcular sus propiedades. El cálculo de propiedades se realizó dibujando el compuesto en “User Defined Compound Wizard” of Aspen Plus v8.2 y luego exportarlo dentro del módulo de propiedades, el cual utiliza los datos reportados por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnologías (NIST). El modelo termodinámico empleado durante el desarrollo de la simulación fue el Non Random Two Liquids (NRTL). La estimación de los requerimientos energéticos se realizó basados en los resultados de los balances de masa y energía generados por la simulación.

2.4.2 Evaluación económica

El análisis económico se realizó empleando el software comercial Aspen Economic Analyser V. 8.0. [46 –53]. El análisis económico nos proporciona el costo estimado de producción por kilogramos de productos en los modelos de estabilización. El costo total de producción considera los costos de materias primas, utilidades, mano de obra, mantenimiento, y costos administrativos. El análisis se estimó en dólares por un periodo de 10 años a una tasa de interés anual del 16.02%. Teniendo en cuenta el método de depreciación en línea recta y un impuesto sobre la renta del 33%. Empleando la información suministrada por Aspen Plus y los datos ingresados de acuerdo a las condiciones específicas del proceso, el software estima el costo de capital de las unidades de proceso, el costo de operación entre otros datos de interés. En la Tabla 2–1, Tabla 2–2 y Tabla 2–3 se muestran los costos de los ítems empleados durante el análisis económico.

Tabla 2–1 Parámetros económicos empleados durante la simulación.

Parámetro	Unidades	Unidades	Referencia
Impuestos a la renta	%	33	[84]
Tasa de interés anual	%	17	[84]
Costo operario	USD/h	2,14	[84]
Costo supervisor	USD/h	4,29	[84]
Electricidad ^a	USD/kWh	0,10	[84]

36 Evaluación técnica de microencapsulación de compuestos bioactivos empleando los métodos de coacervación y gelificación

Agua potable	USD /m ³	1,25	[84]
Combustible	USD / MWh	26,81	[84]

^a Promedio de costos Nacional

Tabla 2–2 Precios de las materias primas empleados durante la evaluación económica.

Parámetro	Unidades	Precio	Referencia
Extracto de mora	USD/ kg	23,4	[69]
Aceite de aguacate	USD/kg	40	[69]
Maltodextrina	USD/kg	0,6	[85]
Goma arábica	USD/kg	4,18	[86]
Pectina alto metoxilo	USD/kg	12,1	[86]
Caseína	USD/kg	35	[85]
Gelatina	USD/kg	5,94	[86]
Surfactante (Tween 80)	USD/ton	1500	[85]

Tabla 2–3 Precios de los productos empleados durante la evaluación económica.

Parámetro	Unidades	Precio (USD / kg)	Referencia
Extracto de arándano (polvo)	USD/kg	240	[87]

Capítulo 3: Resultados experimentales

3.1 Caracterización fisicoquímica de los CB

La caracterización fisicoquímica de los CB a estabilizar (EM y AA) a través de los métodos de encapsulación PB, SA y PH, fue realizó en conjunto con la tesis de doctorado de Javier Andrés Dávila Rincón [69].

3.1.1 Extracto de mora (*Rubus glaucus benth*)

El EM estabilizado fue obtenido empleando fluidos supercríticos (45°C; 300 bar; Agua: etanol/ 90:10). Los resultados obtenidos del EM se muestran en la Tabla 3–1. El contenido de CFT del extracto de mora fue $5,39 \pm 0,02$ mg GAE/ g de extracto. El cual se encuentra en el rango de los reportados por Pasquel et al [29]. Los autores [29] evaluaron la extracción de CF de los residuos de mora. Encontró que el contenido de CF incrementa al aumentar la temperatura de extracción. Este incremento en el contenido de CF se debe a que las altas temperaturas incrementa la solubilidad de los CF. La actividad antioxidante se obtuvo median el método DPPH dando como resultado 40,3 TEAC. La actividad antioxidante se encuentra entre los reportados por Pasquel et al. [29] (Tabla 3–1). . Autores como Machado et al. [88] reportaron que un incremento en CF en los extractos es debido al uso de solventes durante la extracción de CF. Sin embargo, la obtención de un mayor contenido de CF o actividad antioxidante depende no solo del método de extracción. Existen otros factores a considerar tales como, variedad del fruto, estado de madurez, condiciones agroecológicas del cultivo, y forma de preparación de las muestras [89].

Tabla 3–1 Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto de mora (*Rubus glaucus benth*)

Característica	Este estudio ^a	Pasquel et al [88] ^b	Pasquel et al [88] ^c	Pasquel et al [88] ^d	Pasquel et al [88] ^e	Pasquel et al [88] ^f
Compuestos						
fenólicos totales	5,39 ±	4.44 ±	3,77 ±	12,73 ±	6,51 ±	49,36 ±
[mg GAE/ g de extracto]	0,02	0,30	0,30	1,26	0,30	0,27
Actividad						
antioxidante DPPH	40,3 ±	21,24 ±	21,57 ±	53,43 ±	45,07 ±	96,11 ±
TEAC [µmolTE/g de extracto]	0,36	0,54	0,54	4,51	2,2	4,49

^a Extracción supercrítica (45°C; 300 bar; Agua: Etanol/ 90:10)

^b Extracción supercrítica (60°C; 200 Bar)

^c Extracción supercrítica (40°C; 200 Bar)

^d Extracción supercrítica (60°C; 150 Bar; CO₂:EtOH/90:10; Asistida con ultrasonido)

^e Extracción supercrítica (60°C; 150 Bar; CO₂:EtOH/95:5; Asistida con ultrasonido)

^f Extracción supercrítica (60°C; 150 Bar; CO₂:Agua/90:10; Asistida con ultrasonido)

3.1.2 Aceite de aguacate

Los CF presentes en las frutas y vegetales son los principales responsables de la actividad antioxidantes de los CB. El AA analizado por el método Folin Ciocalteu mostró un contenido de compuestos fenólicos de $1,6 \pm 0,2$ mg GAE/ g (Tabla 3–2). El contenido de metabolitos secundarios en vegetales está condicionado a múltiples factores. Entre los más representativos se encuentran las condiciones agronómicas y ambientales en que fueron producidas [89]. Este valor es ligeramente inferior a los reportados por Daiuto et al [89] y Wang et al [90] (Tabla 3–2). Este valor puede ser consecuencia de las condiciones de extracción del aceite, además de las condiciones de cultivo del fruto.

Con respecto a la capacidad antioxidante del AA evaluado por el método DPPH se presentan en la Tabla 3–2. La capacidad anti-radical DPPH del aceite estudiado fue de $2,8 \pm 1,2$ TEAC. Autores como Prescha et al [91] encontraron que la capacidad antioxidante

de los aceites extraídos a partir del aguacate se debe a la fracción lipofílica (tocoferoles) en lugar que la fracción hidrofílica (compuestos fenólicos). Los valores de actividad antioxidante de AA son relativamente bajos en comparación con otro tipo de extractos de frutas. Una razón de este valor se debe a que del total del fruto de aguacate, la parte oleosa es la que menor cantidad de CF posee. Los mayores valores se encuentran en la semilla y la cascara [89], [90]. Conociendo que los AA no tienen altos contenidos de CF además de su baja actividad antioxidante, estos aceites pueden ser empleados como medios de transporte de otro tipo de CB tales como vitamina lipofílicas.

Tabla 3–2 Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del de aceite de aguacate.

Característica	Este estudio	Prescha et al [91]	Daiuto et al [89] ^a	Wang et al [90] ^a
Compuestos fenólicos totales [mg GAE/ g]	1,6 ± 0,2	ND	3,3 ± 0.7	4.9 ± 0.7
Actividad antioxidante DPPH TEAC [μmolTE/g]	2,8 ± 1,2	0.58 ± 0.08	8,1 ± 1,9	1.3 ± 0.1

ND: No determinada

^a Pulpa de aguacate

3.2 Partículas de biopolímeros

3.2.1 Soluciones de biopolímeros

3.2.1.1 Características eléctricas de las soluciones biopoliméricas

A nivel laboratorio se evaluó la influencia del pH sobre las características eléctricas de las tres soluciones de biopolímeros (Caseína, Pectina y Goma arábica).

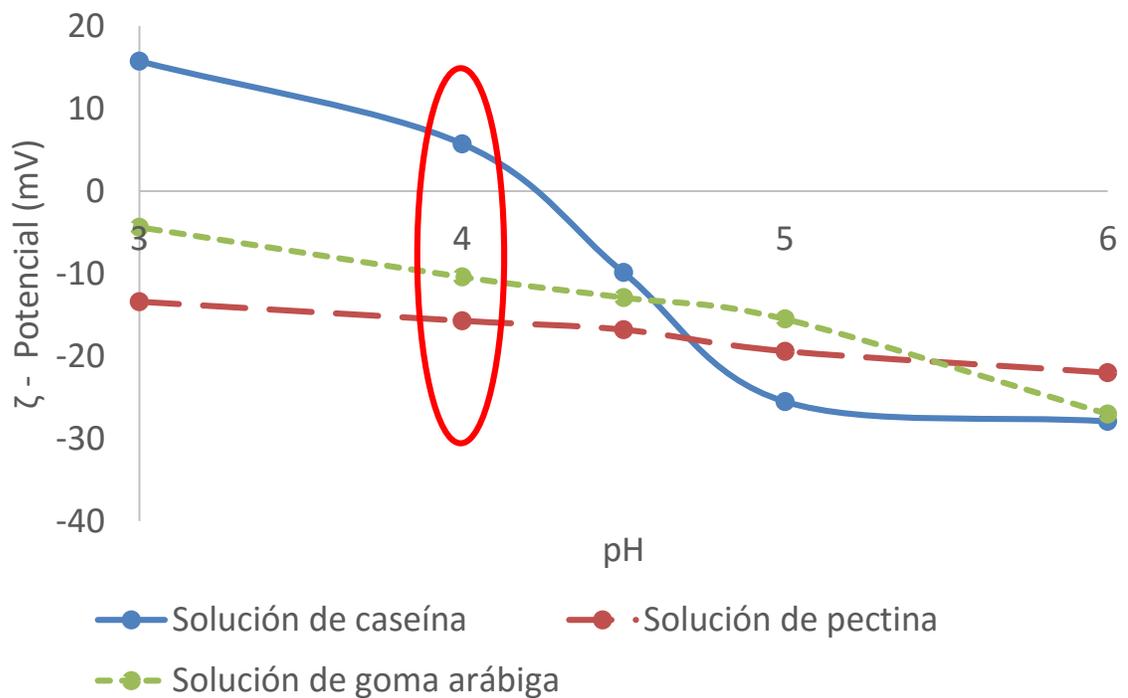
Los resultados mostraron que el ζ -potencial se encuentra influenciado por el pH de la solución. Conocer la carga eléctrica de las soluciones de biopolímeros permite conocer en que rangos de pH existe atracción o repulsión de las soluciones de biopolímeros. Además, la carga eléctrica de las soluciones define su estabilidad.

En el caso de la solución de caseína, el ζ -potencial cambia de negativo a positivo a medida que el pH disminuye de 6 a 3 con una carga nula alrededor del pH 4,3 (Figura 3–1). David-Parto et al. [14], atribuyen este cambio de las propiedades eléctricas en las proteínas debido a la presencia de grupos amino (-NH₂) y carboxilo (-COOH) en su estructura. A pH igual a 4 se observa que la solución de proteína presenta cargas eléctricas positiva., lo cual es importante si se desea generar atracción con las soluciones de polisacáridos. Los datos encontrados del comportamiento de la carga eléctrica respecto a los valores de pH son similares a los reportados por Arroyo-Maya & McClements [46]. Los autores reportan valores de carga eléctrica a pH básicos (pH 8,0) de la caseína de -20 mV y a valores ácidos (pH 3.0) de -30 mV. El valor del punto isoeléctrico (pI) de la caseína encontrada en este estudio fue ligeramente menor a los reportados por Luo et al [36] y Arroyo-Maya & McClements [46]. Los autores reportaron la pI de la caseína a un valor de pH aproximado de 4,6.

En el caso de las soluciones de polisacáridos (pectina y GA) se comportaron como poli-electrolito anionico (Figura 3–1). Es decir, que las soluciones mantienen sus cargas eléctricas negativas en todo el rango de pH evaluados. Sin embargo, a medida que las soluciones se acidifican se nota una disminución en su carga eléctrica. Esto se debe a que las soluciones de biopolímeros se acercan a su constante de disociación (pKa) [39]. Estos resultados se encuentran en concordancia con otras investigaciones realizadas en soluciones de biopolímeros [52], [92], [39], [93]. Los autores de atribuyen la disminución de la carga eléctrica a los grupos carboxílicos presentes en la estructura de algunos polisacáridos

De los resultados obtenidos en las soluciones de biopolímeros se observa que a pH 4, la solución de proteína y las soluciones de polisacáridos presentan cargas opuestas. Lo cual es relevante, si se busca crear sistemas de encapsulación que se basan en la atracción entre biopolímeros.

Figura 3–1 Influencia del pH sobre la carga eléctrica de las soluciones de biopolímeros.



3.2.2 Formación PB sin adición de extracto

3.2.2.1 Características eléctricas y tamaño de partícula

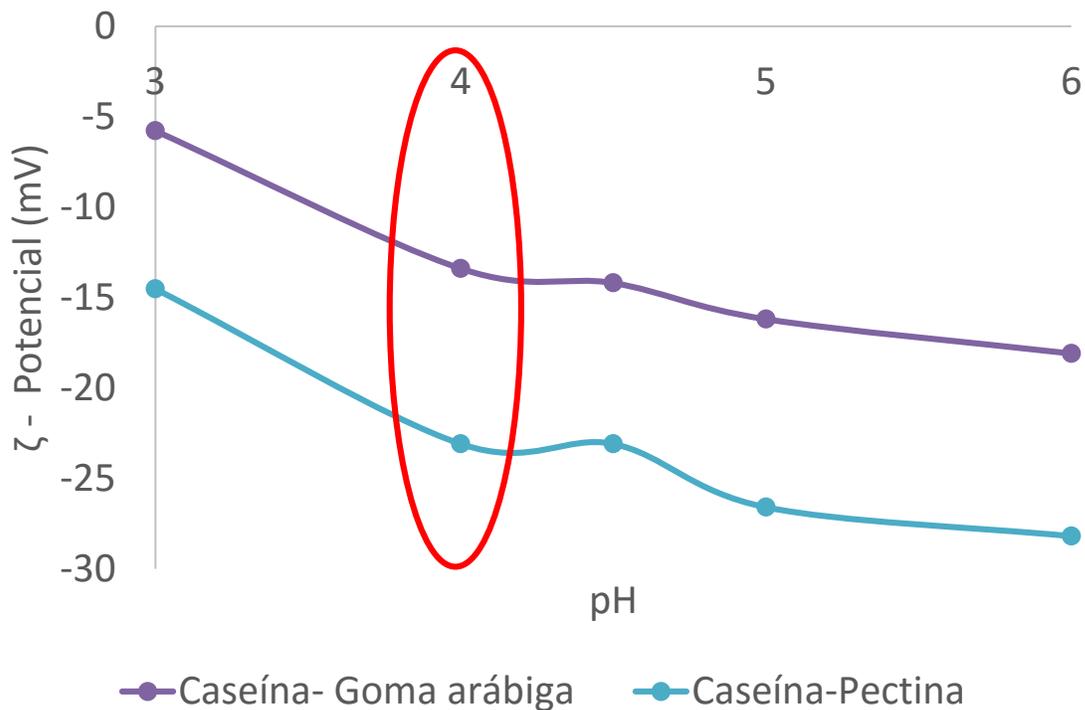
Conociendo las características eléctricas de las soluciones de biopolímeros se pasó a crear los dos sistemas de encapsulación (caseína – pectina y caseína goma arábica). Luego de crear los sistemas de encapsulación se evaluó su estabilidad entre los rangos pH 3 y 6.

En el sistema caseína – pectina, la carga eléctrica paso de ser altamente negativa a pH 6,0 (-28,2 mV) a moderadamente negativa a pH 3 (-14,23 mV). Del mismo modo, el sistema caseína - goma arábica el ζ -potencial paso de ser negativo a pH 6 (-18,1 mV) a ser ligeramente negativos a pH 3 (-5,78 mV)

Figura 3–2. La estabilidad de los sistemas se encuentra relacionado con sus características eléctricas. Si el valor de la carga eléctrica es cercana a cero, su inestabilidad es alta. Considerando los resultados encontrados con anterioridad, en la cual se observa una

atracción entre las soluciones de biopolímeros a un valor de pH igual 4, se observa su estabilidad al mismo valor de pH. Los resultados muestran que el sistema de encapsulación más estable es el sistema caseína-pectina (Figura 3-2).

Figura 3-2 Influencia del pH sobre el la carga eléctrica de las partículas de biopolímeros



La importancia del tamaño de partícula en los sistemas de encapsulación se debe a que este parámetro determina el potencial campo de aplicación. Tamaños de partícula superior a 200 nm debe ser empleada en matrices alimenticias opacas (yogures, helados, pastas), mientras que tamaños de partículas menores a 200 nm pueden ser empleadas en bebidas transparentes.

De los sistemas de encapsulación evaluados (caseína – pectina y caseína goma arábica) se observa que en ambos sistemas se obtuvieron tamaños de partícula mayores a 200 nm. A pH 4 se obtuvieron menores tamaños de partícula en ambos sistemas. Lo cual concuerda con los resultados encontrados en las cargas eléctricas (Figura 3–1)

Los sistema de encapsulación caseína- pectina y caseína-goma arábica presentaron tamaños de partícula de 271,9 (Figura 3–4) y 317,7 (Figura 3–3) nm. Este tamaño corresponde a los sistemas de encapsulación sin agregar el extracto.

Figura 3–3: Tamaño de partícula para las PB formadas por el sistema caseína – goma arábica

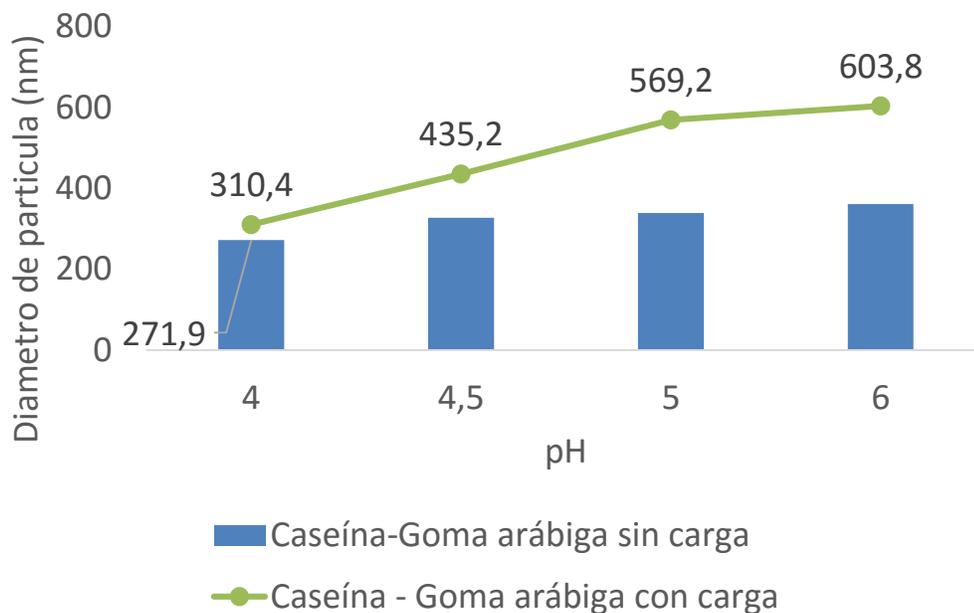
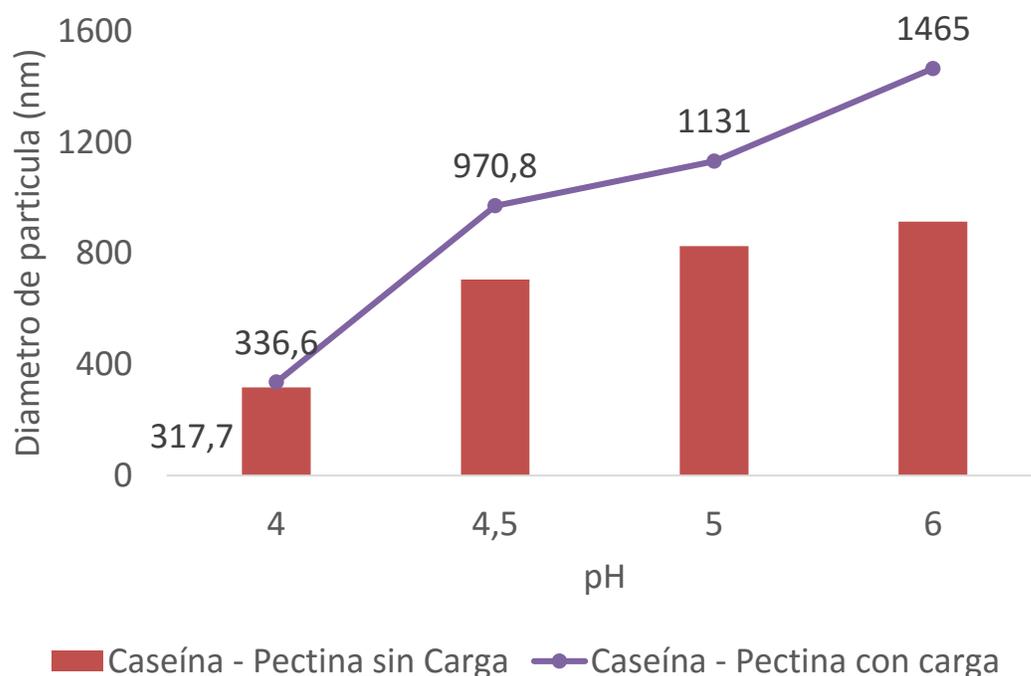


Figura 3–4: Tamaño de partícula para las PB formadas por el sistema caseína – pectina



Los resultados de los tamaños de partícula son consistentes con los reportados otros autores. Luo et al [36] estudio la fabricación de partículas de biopolímeros empleando soluciones de caseína y pectina. Los autores reportan diámetros de partícula a pH básicos (7.0) iguales a 577 nm y logran reducir su tamaño a 204,6 nm acidificando el medio a pH 3.7. Arroyo-Maya & McClements [46], estudio la elaboración de PB empleando lcaseína – pectina. Encontraron que los tamaños de partículas a condiciones básicas son 580 nm, y a condiciones ácidas de 180 nm.

3.2.3 Formación partículas de biopolímeros con carga

La capacidad de retención de los compuestos bioactivos en los sistemas estudiados (caseína – pectina y caseína – goma arábica). A los sistemas se les adicionó 300 mg/ mL de extractos de mora rico en CF antes del tratamiento térmico (90°C, 5 min). Luego a los sistemas se acidifico a pH 4 para inducir la adsorción de los polisacáridos sobre la superficie de las partículas de proteínas.

3.2.3.1 Tamaño de partícula

Se conoce que las proteínas pueden formar complejos covalentes con los CF. La naturaleza de estas interacciones depende de las condiciones de la solución, tales como pH, agitación, temperatura, y relación entre biopolímeros [94].

La incorporación de los extractos de mora afecta el tamaño de partícula obtenido. Por ejemplo a pH 4, el tamaño de partícula para los sistemas (caseína-pectina y caseína – goma arábica) resultaron ser superiores a los tamaños de los sistemas sin extracto (Figura 3–3y Figura 3–4). El incremento en el tamaño de partícula encontrado es producto de la incorporación de los extractos al interior de las PB.

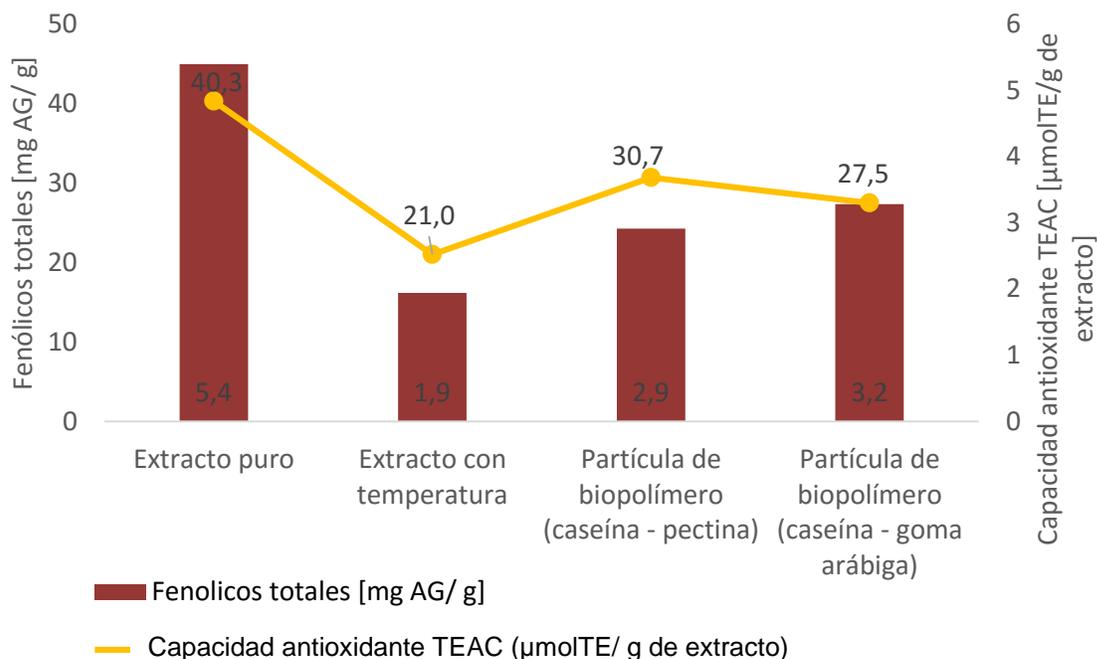
3.2.3.2 Determinación de Compuestos Fenólicos y actividad antioxidante

Los compuestos fenólicos son los principales responsables de la capacidad antioxidante en extractos obtenidos a partir de frutas y hortalizas. En la literatura se reporta algunos tipos de CF son afectados por condiciones físicas y químicas (temperatura, luz, oxígeno, humedad), debido a la presencia de enlaces insaturados en su estructura molecular [16]. Sin embargo, la degradación térmica de los compuestos bioactivos depende del tipo de extracto. En algunos casos se ha reportado que el contenido de compuestos fenólicos incrementa, luego de someter el extracto a tratamientos térmicos [95].

En base a lo anterior se evaluó el comportamiento de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante al ser sometidos a tratamientos térmicos (Figura 3–5). De las condiciones (extracto puro, extracto puro + temperatura, sistema caseína – pectina y sistema caseína – goma arábica) evaluadas el mayor contenido de compuestos fenólicos fue en el extracto puro (5,40 mg AG/g de extracto). Al someter el extracto puro a las mismas condiciones de fabricación de los sistemas de encapsulación (90°, 5 min) se notó una disminución en el contenido de CF de (1,94 mg AG / g de extracto). Resultados similares fueron encontrados por Volf et al [96], los autores reportaron que los tratamientos térmicos afectan la estabilidad de los CF. Sin embargo, la disminución o incremento del contenido de CF en los extractos depende de la estructura del extracto [97]. Los extractos

estabilizados por los sistemas caseína –pectina y caseína – goma arábiga se nota que los sistemas protegen los CF de los tratamientos térmicos, comparado a los extractos sin protección.

Figura 3–5 Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de CFT



Con respecto a la capacidad antioxidante tiene un comportamiento similar al de los CF (Figura 3–5). Las condiciones térmicas utilizadas durante la fabricación de los sistemas de encapsulación causan una disminución de su capacidad antioxidante, comparado al extracto puro inicial. Al igual que los CF, la actividad antioxidante fue de los sistemas de encapsulación fueron mayores, que los del extracto puro sometido a las condiciones de elaboración (90°, 5 min). Esto se debió a que las antocianinas son susceptibles a degradación térmica [99]. Incorporar extractos con un alto contenido de antocianinas puede mejorar la estabilidad de estos valiosos compuestos. En la literatura se encuentran reportes donde muestran que encapsular CF al interior de las PB mejora su inestabilidad térmica [100]–[102].

En general, los resultados nos muestran que la incorporación de extractos de mora al interior de sistemas de encapsulación previene la pérdida de CF y la disminución de su actividad antioxidante.

3.2.3.3 Capacidad de carga y Eficiencia de encapsulación

Con el objetivo de determinación de la máxima cantidad de extractos de mora que puede ser incorporados en los sistemas de encapsulación se evaluaron dos concentraciones de extracto: i) 300 mg/ mL y ii) 600 mg/ mL. Además a cada carga se le evaluó el efecto de la relación entre las soluciones de proteína y polisacáridos (Figura 3–6 y Figura 3–7).

En el caso de los sistemas caseína – pectina (carga 600 mg/L) la mayor EE fue de 59,8% y en el caso caseína – goma arábica fue de 63,4 %. La EE incrementa levemente al incrementar el contenido de proteína en el sistema, debido a que existen más sitios de unión disponibles para la unión de los CF. No obstante, emplear grandes cantidades de proteínas en los procesos no puede ser recomendable, debido a su alto costo en el mercado. En consecuencia, se eligió continuar la experimentación con la relación 1:1 entre proteína – polisacáridos y cargados con 300 mg/L de extracto. Esta elección se debió a que aumentar el contenido de proteína en el sistema, no incrementa significativamente la EE.

Figura 3–6 EE de las PB a diferentes relaciones entre biopolímeros.

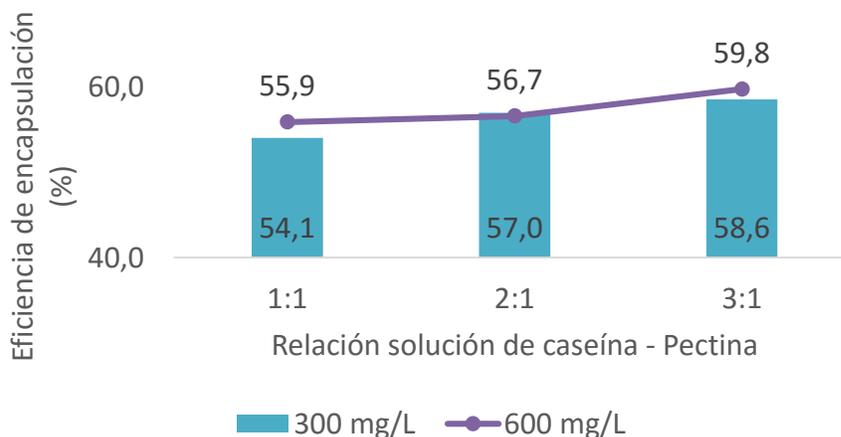
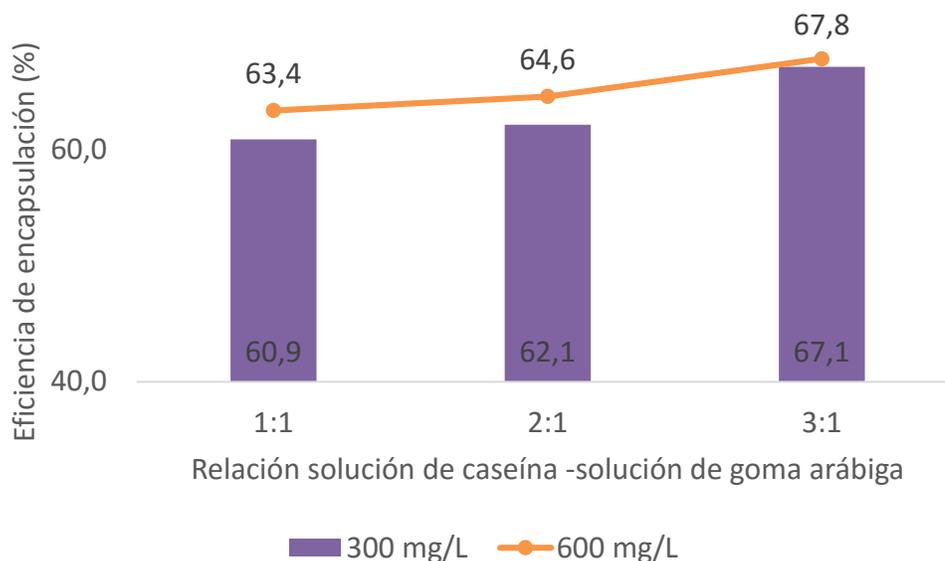


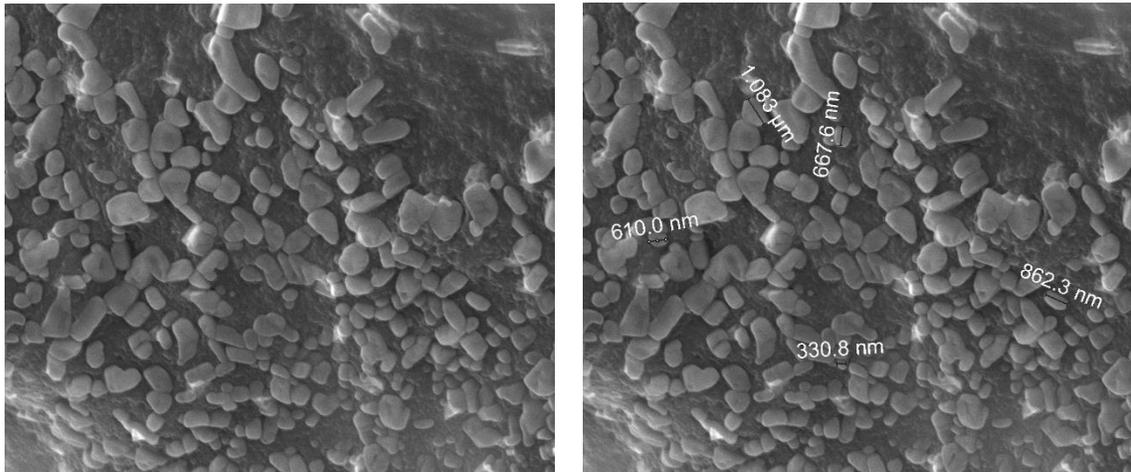
Figura 3–7 EE de PB a diferentes relaciones entre las soluciones de biopolímeros.



3.2.3.4 Morfología de partícula

Con el objetivo de facilitar la caracterización de las PB por medio de SEM. La solución de PB cargadas con extracto de mora, se sometió a liofilización para obtener las muestras en estado sólido. En la Figura 3–8 se muestra las imágenes de las PB producidas por la interacción entre caseína y pectina. Las PB presentan diversas formas geométricas y una superficie lisa. El tamaño de partícula se observa que se obtienen partículas con tamaños de partícula entre 330,8 nm y 1038 nm, lo cual se encuentra en concordancia con los tamaños de partícula encontrados por medio de medio de dispersión dinámica de luz.

Figura 3–8 Fotografía tomada por medio de SEM a PB formadas por la interacción caseína – pectina. Relación 1:1 y cargadas 300 mg/L de extracto



3.2.4 Emulsificación espontánea

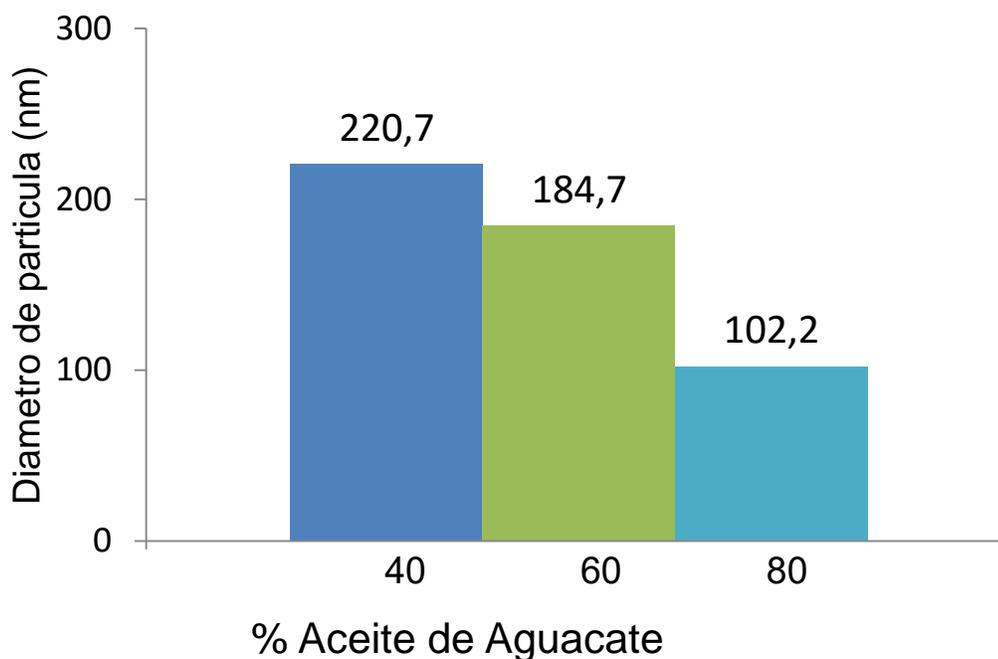
3.2.4.1 Tamaño de partícula

Como se mencionó con anterioridad el tamaño de partícula es uno de los factores que determina la potencial aplicación de los sistemas de encapsulación. En el trabajo, estudiamos a que condiciones de fabricación se pueden obtener tamaños de partículas pequeños.

Las emulsiones son altamente inestables. Considerando su inestabilidad, evaluamos la composición de la fase oleosa variando las relaciones volumétricas entre aceite de aguacate (AA) y aceite de oliva (AO). Las relaciones volumétricas evaluadas se muestran en la Figura 3–9. Las condiciones de la formación de emulsión espontánea fueron

estandarizadas para las cuatro relaciones evaluadas (fase oleosa 10%, tween 80 10%, (500 rpm ,25 °C).

Figura 3–9 Efecto de la composición de la fase oleosa (AA y AO) sobre el tamaño de partícula



La fase oleosa tiene gran influencia sobre el tamaño de partícula final obtenida en las emulsiones [103]. De las relaciones en la composición de la fase oleosa, se logró un menor tamaño de partícula al emplear un 80% de AA en la fase oleosa (Figura 3–9).

La literatura reporta que en algunos casos la viscosidad de la fase oleosa influye en el tamaño de partícula obtenidas por medio de emulsificación espontánea [42], [104]. Considerando lo anterior, evaluamos la viscosidad de la fase oleosa, en la cual se obtuvo un menor tamaño de partícula. La viscosidad a estas condiciones corresponde a de 0,13 Pa.s. La viscosidad del aceite podría influenciar la velocidad en que las moléculas de surfactante se mueven de la fase orgánica (fase oleosa + surfactante) hacia la fase acuosa.

De modo que a menor viscosidad de la fase oleosa, las moléculas del surfactante se podrían mover con mayor facilidad y por lo tanto producir partículas con menor tamaño. Sin embargo, Hossein et al [105], mencionan que hasta el momento no es clara la relación entre el tamaño de partícula y la viscosidad obtenida. De modo, que los mecanismo fisicoquímicos que gobiernan el tamaño de las partículas producidas por EES son todavía poco claras, y necesitan mayor investigación en esta área [106].

Se considera la relación entre surfactante y fase oleosa. De las relaciones evaluadas se obtuvo que la relación (v/v) 1:1 fue la que menor tamaño se obtuvo. Emplear menores o mayores concentraciones de surfactantes provoca un incremento en el tamaño de partícula [42], [107].

Tabla 3–3. Diámetro de partícula a diferentes relación fase oleosa - surfactante

Relación surfactante – fase oleosa	Diámetro de partícula (nm)
1:2	182,3
1:1	102,3
2:1	165,5

Este comportamiento se ha atribuido a los diferentes fenómenos fisicoquímicos involucrados durante la formación de EES. Los principales son debido a que las moléculas de surfactantes se adhieren a la interface aceite-agua, lo que conduce a una disminución en la tensión superficial, facilitando la formación de partículas pequeñas [104]. Otra característica se debe al número de moléculas de surfactante que se difunden de la fase orgánica a la fase acuosa, se obtiene partículas muy finas [84], Sin embargo al continuar incrementando el contenido de surfactante en la mezcla se observa un incremento en el tamaño de partícula. Este fenómeno es debido a que un aumento en el contenido de

surfactantes en la mezcla, produce un incremento en la viscosidad de la solución, en consecuencia la formación espontánea de las partículas es más difícil de llevar a cabo [108].

Los resultados muestran que la estabilización de AA se puede llevar a cabo empleando el método de EES. Este método produce partículas con tamaño de partículas pequeñas. Teniendo en cuenta el tamaño de partícula y el costo comercial del surfactante en el mercado, se eligió continuar la estabilización empleando el porcentaje de surfactante respecto a la fase oleosa del 100%, es decir a una relación 1:1 entre la fase oleosa y el surfactante. Empleando esta relación, se obtuvo el menor tamaño de partícula (102,2 nm). A pesar de que las partículas obtenidas poseen un tamaño de partícula pequeño, estas partículas son susceptibles a desestabilización causados por alteraciones del entorno. Considerando que este tipo de CB estabilizados tiene como objetivo ser aplicados en matrices de alimentos, surge la necesidad de garantizar su estabilidad. En base a lo anterior, se evaluó la estabilización de las emulsiones espontáneas por medio de hidrogeles.

3.2.5 Partículas de hidrogel

3.2.5.1 Preparación y Caracterización de Hidrogeles

La emulsión formada empleando el método de EES se incorporó a la fase acuosa. La fase acuosa consiste en un modelo simple de hidrogel, la cual está compuesta por gelatina (2% p/v) disuelta en agua. El tamaño de partícula de los hidrogeles que estabilizan la emulsión, no se pueden medir empleando métodos tradicionales de dispersión de luz o por medio de microscopio óptico, debido a que la fase acuosa se encuentra gelificada y el tamaño de partícula es demasiado pequeño. Incorporar la nano emulsión dentro de hidrogeles, puede reducir la coalescencia entre las partículas durante el proceso de emulsificación espontánea, debido al incremento en la viscosidad de la fase acuosa [20], [20], [109], [110].

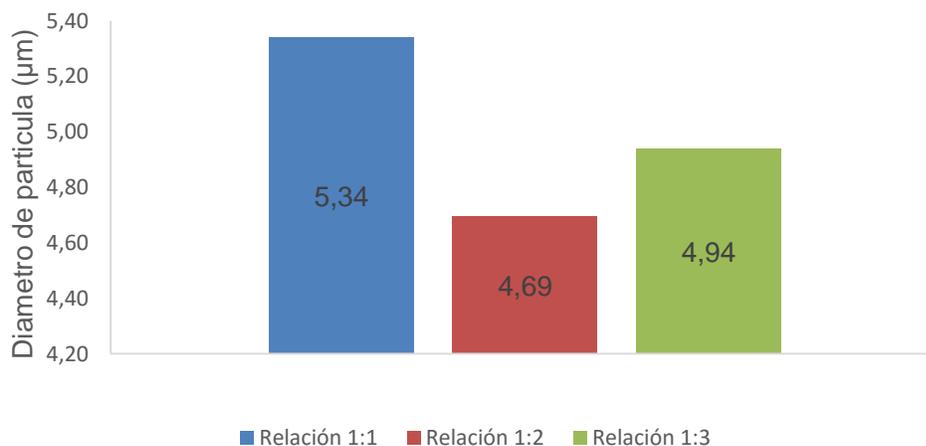
3.3 Secado por aspersión

Secado por aspersión es la tecnología más empleada en la industria para transformar alimentos líquidos o suspensiones en polvos en un solo paso [111]. Esta tecnología es fácil de emplear a nivel industrial, además permite trabajar en continuo. Este método de estabilización se ha empleado en la estabilización de diversos extractos de frutas [111],[66],[112],[113],[40],[65].

3.3.1 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de los CB estabilizados tiene gran importancia a nivel industrial, debido a que el tamaño define su potencial aplicación en matrices alimenticias. En general cuando los compuestos estabilizados presentan grandes tamaños de partículas, su uso potencial se encuentra en el rango de matrices líquidas opacas (productos lácteos) ó matrices sólidas (salsamentaría, chocolates, entre otros) [114].

Figura 3–10 Tamaño de partícula de los extractos estabilizados por medio de secado por aspersión.



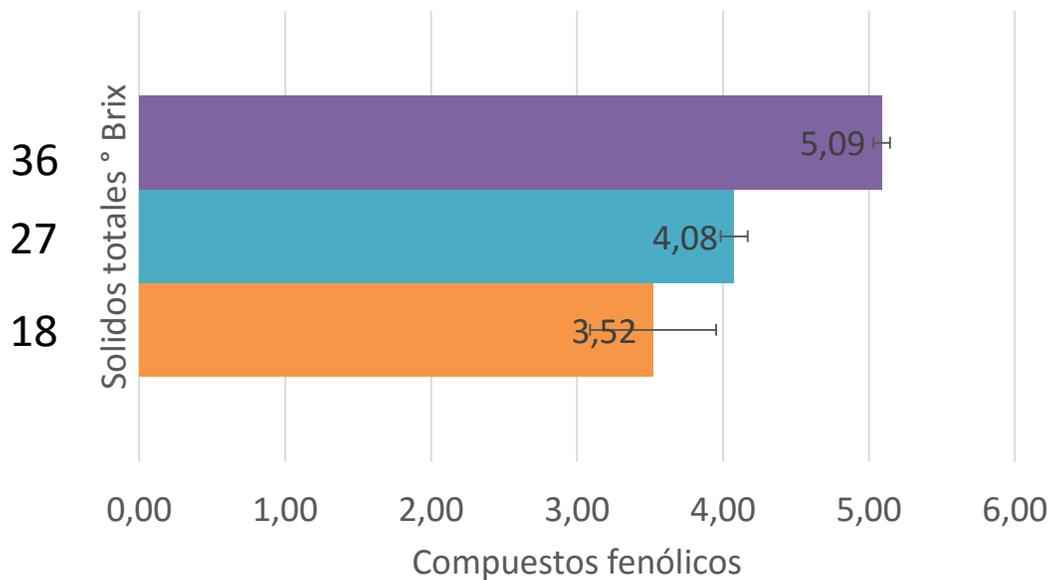
En la Figura 3–10 se muestran los tamaños de partícula de los extractos estabilizados empleando las tres relaciones mencionadas. Empleando la relación 1:2 entre extracto y maltodextrina se obtuvo el menor tamaño de partícula (4,69 µm). Si empleamos relaciones diferentes se notó un incremento en el tamaño de partícula. En contraste con las otras

técnicas evaluadas (PB y EE), el secado por aspersión presenta tamaños de partícula muy superiores (Figura 3–10) en comparación con las partículas de biopolímeros y emulsificación espontánea. Krishnaiah et al [111], evaluaron la estabilización de extracto de *Morinda citrifolia L* empleando polisacáridos tales como maltodextrina y k-carragenina. El menor tamaño de partícula se encontró al emplear una relación 1:2 entre extracto y agente encapsulante. Considerando el menor tamaño de partícula encontrado durante este paso, se evaluó el efecto de la relación extracto proteína sobre los compuestos fenólicos totales y su capacidad antioxidante.

3.3.2 Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante

El contenido de CFT obtenidos en las partículas formadas empleando secado por aspersión se muestra en la Figura 3–11. Entre los contenidos de sólidos evaluados, la concentración de sólidos 36°Brix obtuvo un mayor contenido de CF (5,09 mgEAG / g muestra). Este comportamiento puede ser el resultado de la unión entre compuestos activos y maltodextrina [111]. Por otro lado, la concentración que obtuvo un menor contenido de CF fue a 18°Brix (3,52 mg AG / g de muestra). La mejor capacidad antioxidante se encontró empleando 36°Brix (16,25 $\mu\text{molTE/g}$ de extracto). La baja capacidad antioxidante puede ser debido a la pérdida de compuestos fenólicos volátiles responsables de la capacidad antioxidante del extracto durante el proceso de estabilización. Krishnaiah et al [111], reporta la pérdida de compuestos bioactivos termolábiles, como consecuencia de las altas temperaturas de secado manejadas durante el proceso de secado por aspersión.

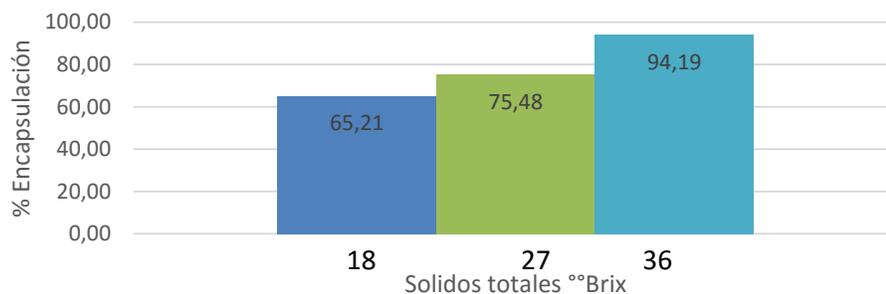
Figura 3–11 Efecto de la relación extracto maltodextrina sobre los compuestos fenólicos totales



3.3.3 Eficiencia de encapsulación

La EE de los CF incorporados al interior de las capsulas se encuentra en el rango de 65,21 a 94,18% Figura 3–12. La mayor eficiencia de encapsulación fse obtuvo al emplear la concentración de solidos de 36°Brix (94,19%). La EE se encuentra en concordancia con otros estudios realizados empleando diferentes extractos. Mustafa et al [65], reportaron que el balance óptico entre compuestos fenólicos y maltodextrina en la cual se obtiene la mayor eficiencia de encapsulación fue de 1:4 (EE = 98,4%). Silva et al, [115], evaluó la estabilización de *myricaria jabolicaba*, con maltodextrina a diferentes condiciones de operación. Los investigadores reportaron que a una temperatura de secado de 160°C, la retención de antocianinas fue de 99,02 %. Si bien los resultados son similares a los reportados por los otros autores, la EE se encuentra influenciada por los tipos de CF presentes en la muestra y su grado de termolabilidad.

Figura 3–12 Eficiencia de encapsulación de compuestos fenólicos, empleando diferentes relaciones entre extracto y maltodextrina.



La EE de los CF empleando el método de secado por aspersión (Figura 3–12) es mayor a los encontrados en las PB (Figura 3–6 y Figura 3–7). Estos resultados muestran que por medio del método de secado por aspersión se pueden alcanzar altas eficiencia de encapsulación de los CB. Sin embargo, las condiciones de procesamiento del secado por aspersión afectan ciertos CF responsables de la capacidad antioxidante del extracto. Por otro lado, al seleccionar un método de estabilización de compuestos se deben considerar otros factores importantes tales como el sitio de liberación del compuesto y el tipo de matriz alimenticia en el cual se van a incorporar los compuestos estabilizados. En este tipo de aspectos las PB han demostrado tener mayor potencial.

Capítulo 4: Resultados simulación

Los costos de la estabilización de CB se encuentra relacionado con las características de las compuestos estables obtenidas al final del proceso. Los datos recolectados durante el desarrollo de la parte experimental, se emplearon para alimentar la simulación de los diferentes procesos evaluados. La evaluación económica nos permite obtener una primera aproximación de los costos de producción de los CB estabilizados. Los costos de producción de CB estabilizados pueden variar significativamente, desde centavos de dólar por kg a decenas de dólares por kg. Este costo se encuentra influenciado por múltiples factores, entre lo más relevantes se encuentran: formulación, volumen, condiciones de operación, tamaño de partícula y eficiencia de encapsulación [116]. Los parámetros asociados a los costos de producción en los métodos de estabilización se encuentran mencionados en Tabla 4–2.

4.1 Partículas de biopolímeros

La estabilización de CF de mora por medio de PB se encuentra fuertemente ligada al costo de los materiales empleados durante la estabilización. El costo del extracto de mora a estabilizar es de 23,4 USD Kg. Los costos juegan un factor relevante decidir si emplear o no la estabilización de los compuestos. En general, la gran mayoría de extractos poseen altos valores comerciales y son apetecidos por la industria farmacéutica y de alimentos. La revisión de los costos de producción es un factor importante en la determinación de la viabilidad de los métodos. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se muestra los precios de producción, para los tipos de partículas evaluadas.

Los costos de producción de los dos tipos de biopolímeros se presentan a continuación: en el caso de las partículas de biopolímeros formados al emplear caseína y pectina el costo

de producción por cada kg de extracto estabilizado fue de 39,6 USD, mientras que en el caso de las PB formados empleando caseína – goma arábica fue de 35,4 USD kg (Tabla 4–1. Costo de producción de los sistemas de encapsulaciónTabla 4–1). Gaonkar et al. [116] enfatiza en la importancia de la eficiencia de encapsulación de los métodos de encapsulación debido a su importancia sobre el precio final de los extractos estabilizados. El autor expresa que a medida en que la eficiencia de encapsulación sea alta, el precio de producción es menor. En este estudio, se obtuvo una mayor eficiencia de encapsulación de CF empleando goma arábica como polisacárido (60,9%) (Figura 3–7) mientras que en el caso de emplear pectina la EE fue de 54,1% (Figura 3–6). Por ende, estos datos están con concordancia con los datos reportados por el Gaonkar et al [116]

Tabla 4–1. Costo de producción de los sistemas de encapsulación

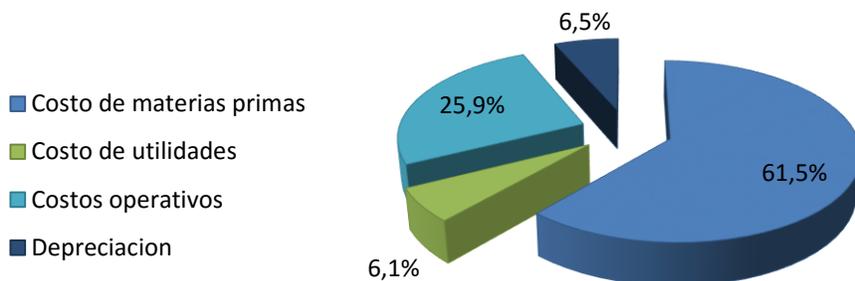
Costo de producción por Kg	USD
PB: Caseína – Pectina	39,6
PB: Caseína – Goma arábica	35,4

A nivel comercial no se encuentra reportado el costo de producción de PB cargadas con extractos de mora. En busca de poder realizar una comparación de costos de producción obtenidos durante el estudio y los encontrados a nivel comercial, se eligió los costos de los extractos de arándano en polvo, debido a las características similares del arándano con los extractos de mora (Tabla 2–2 Precios de las materias primas empleados durante la evaluación económica.). No obstante, la empresa que los comercializa no especifica el método de encapsulación ni el contenido de compuestos fenólicos del extracto de arándano en polvo. Con el fin de realizar una comparación más robusta y profunda es necesario contar con los datos mencionados con anterioridad, lo cual no fue posible, debido a que la empresa no suministra estos datos. Los costos de fabricación de los extractos de mora estabilizados empleando el método de coacervación en las partículas de biopolímeros fue menor al costo de comercialización de los extractos de arándanos el cual fue de 240 USD/kg.

Tabla 4–2: Parámetros asociados a los costos de producción de los sistemas de encapsulación.

Factor Económico	Descripción
Costo de materias primas	Costos asociados a los biopolímeros y extracto.
Costo energéticos	Costos asociados a los servicios de la planta (requerimientos de vapor, electricidad y agua)
Costo de operación	Costos asociados al número de equipos empleados (mantenimiento, costos administrativos)
Costos de depreciación	Costos asociados al número de equipos involucrados en cada planta

Figura 4–1 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por medio de PB. Biopolimeros caseína y pectina



La distribución de los costos de distribución para los dos casos, se muestra en las Figura 4–1 y Figura 4–2. En ambos casos el ítem que más influye sobre el costo total de las partículas finales, son las materias primas empleadas durante su elaboración. La selección de los apropiados materiales para encapsular compuestos bioactivos vía coacervación es un tema relevante, debido a las regulación y los bajos márgenes de ganancia. El precio de las proteínas es relativamente costoso al utilizarlo a nivel industrial. Su costo es dependiente del grado de pureza y de las características que presente, sin embargo las propiedades fisicoquímicas son importantes en las características funcionales del producto

final. Por el contrario, los polisacáridos presentan un precio bajo en comparación con las proteínas Tabla 2–2. A pesar de su bajo costo, tienen influencia sobre el costo final. En el caso de utilizar pectina como polisacárido, se obtuvo que el porcentaje final sobre el costo final del producto del 61,5 % (Figura 4–1) superior al encontrado empleando goma arábica 57,7% (Figura 4–2) (Tabla 4–3).

Figura 4–2 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por medio de partículas de biopolímeros empleando caseína – goma arábica

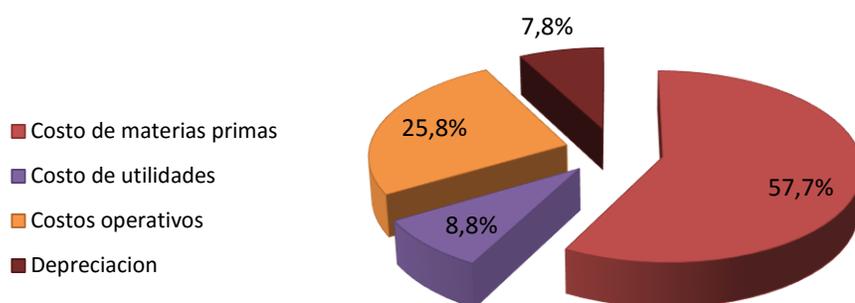


Tabla 4–3: Costos de producción anual de PB.

Parámetro económico	PB: Caseína - Pectina		PB: Caseína – goma arábica	
	Costo / año (1x 10 ³ USD)	Porcentaje (%)	Costo / año (1x 10 ³ USD)	Share (%)
Materia prima	2268,144	61,5	1902,289	57,7
Utilidades	224,681	6.,	224.681	8,8
Operacionales	955,131	25,9	955.131	25,8

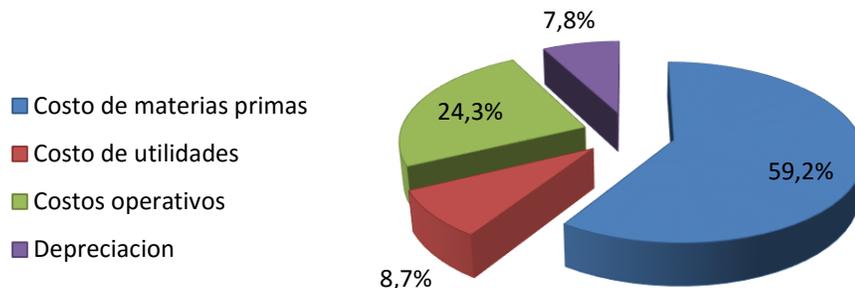
Depreciación	240,398	6,5	240.398	7,8
Costo total del proyecto	3688.355	100	3688.355	100

4.2 Hidrogeles

La tendencia en los procesos de encapsulación se encuentra enfocados en la reducción del tamaño de partícula, reducir los costos de producción y evitar el uso de solventes o químicos potencialmente tóxicos [116]. Se conoce que los costos de estabilizar compuestos bioactivos incrementan como consecuencia de complejidad del método utilizado. En el caso de la estabilización de aceite de aguacate por medio de los métodos de emulsificación espontánea seguido de gelificación se obtuvo un costo de elaboración de 53,7 USD/ kg. Los costos de las materias primas involucrados durante la estabilización de los aceites son relativamente menores en comparación con los precios de las materias primas utilizadas en la elaboración de partículas de biopolímeros (Tabla 2–2). EL ítem que influye con mayor fuerza sobre el precio final es el del compuesto a estabilizar y los costos asociados a la estabilización representan un ligero incremento del compuesto inicial.

La distribución de los costos de producción se muestra en la Figura 4–3. Al igual que las partículas de biopolímeros, el ítem más influyente es el de las materias primas (59,2%). Esto es debido a los precios de los compuestos a estabilizar sumado a los costos de los compuestos utilizados durante la estabilización.

Figura 4–3 Distribución de costos en la estabilización de aceite de aguacate por PH

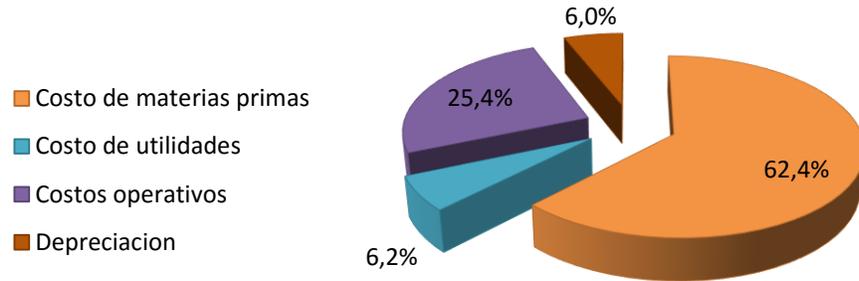


4.3 Secado por aspersión

El secado por aspersión es una tecnología ampliamente utilizada en la industria de alimentos debidos a su alta disponibilidad de los equipos, versatilidad y bajo costo comparado con las otras tecnologías [117].

El costo de producción en la estabilización de extractos de mora vía secado por aspersión se estimó en 27,8 USD / kg. Los materiales empleados en el método de secado por aspersión son bajos, en comparación con los empleados en la elaboración de partículas de biopolímeros (Tabla 2–2) Desde el punto de vista económico, los costos de estabilización de extractos de mora vía secado por aspersión son menores comparados al método de coacervación. Sin embargo, no es posible realizar una comparación equivalente, debido a que los las características de los extractos obtenido al final del proceso son diferentes.

Figura 4–4 Distribución de costos en la estabilización de extractos de mora por secado por aspersión empleando maltodextrina



La muestra la distribución de costos obtenidos durante la obtención de extractos de mora estabilizados vía secado por aspersión. Los costos de las materias primas influyen con el mayor porcentaje de los costos de producción (62%). Este alto porcentaje se debe en gran medida al alto costo del extracto estabilizado (Tabla 2–2)

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

En este trabajo se demostró la posibilidad de emplear el principio de coacervación en la fabricación de sistemas de encapsulación (caseína-pectina y caseína – goma arábica). Las propiedades eléctricas de las soluciones de biopolímeros mostraron cargas opuesta a pH 4. Este factor muestra la posibilidad de crear sistemas de encapsulación basados en interacciones eléctricas.

Los sistemas de encapsulación evaluados mostraron buena estabilidad, lo cual fue comprobado con sus características eléctricas. Los tamaños de partícula nos muestran que los compuestos estabilizados por diferentes métodos deben ser incorporados en matrices de alimentos con características distintas.

Los sistemas de encapsulación mostraron conferir protección de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. Los costos aproximados de producción de los sistemas de encapsulación mostraron ser distintos y son influenciados por el costo inicial de las materias primas.

5.2 Recomendaciones

En futuros estudios en la elaboración de partículas de hidrogel se recomienda considerar el enriquecimiento de la fase oleosa con vitaminas liposolubles. De este modo se logra proteger la vitamina de posibles degradaciones y pérdida de actividad como consecuencia del entorno. También se recomienda emplear otro tipo de surfactantes que presenten menores costos y sean de origen vegetal. En la formulación de partículas de biopolímeros se recomienda evaluar otro tipo de proteína de menor costo en el mercado y estudiar su efecto sobre la eficiencia de encapsulación y el tamaño de partícula obtenido.

Referencias

- [1] J. L. Bauer, B. Harbaum-Piayda, and K. Schwarz, "Phenolic compounds from hydrolyzed and extracted fiber-rich by-products," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 47, no. 2, pp. 246–254, Jul. 2012.
- [2] B. Wang, B. Adhikari, and C. J. Barrow, "Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation.," *Food Chem.*, vol. 158, pp. 358–65, Sep. 2014.
- [3] C. Mertz, A. L. Gancel, Z. Gunata, P. Alter, C. Dhuique-Mayer, F. Vaillant, A. M. Perez, J. Ruales, and P. Brat, "Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 22, pp. 381–387, 2009.
- [4] B. Wang, B. Adhikari, and C. J. Barrow, "Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation.," *Food Chem.*, vol. 158, pp. 358–65, Oct. 2014.
- [5] A. Munin and F. Edwards-Lévy, *Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review.*, vol. 3, no. 4. 2011.
- [6] M. S. Uddin, M. N. Hawlader, and H. J. Zhu, "Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics.," *J. Microencapsul.*, vol. 18, no. 2, pp. 199–209, 2001.
- [7] S. S. Kuang, J. C. Oliveira, and a M. Crean, "Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food.," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 50, no. 10, pp. 951–68, Nov. 2010.
- [8] T. Egan, J.-C. Jacquier, Y. Rosenberg, and M. Rosenberg, "Cold-set whey protein microgels for the stable immobilization of lipids," *Food Hydrocoll.*, vol. 31, no. 2, pp. 317–324, Jun. 2013.
- [9] P. L. Lam and R. Gambari, "Advanced progress of microencapsulation technologies: in vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries.," *J. Control. Release*, vol. 178, pp. 25–45, Mar. 2014.
- [10] S. S. Kuang, J. C. Oliveira, and a M. Crean, "Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food.," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 50, no. 10, pp. 951–68, Dec. 2010.

- [11] S. Je Lee and M. Rosenberg, "Whey Protein-based Microcapsules Prepared by Double Emulsification and Heat Gelation," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 33, no. 2, pp. 80–88, Mar. 2000.
- [12] T. Egan, J.-C. Jacquier, Y. Rosenberg, and M. Rosenberg, "Cold-set whey protein microgels containing immobilised lipid phases to modulate matrix digestion and release of a water-soluble bioactive.," *J. Microencapsul.*, vol. 31, no. 2, pp. 184–92, Jan. 2014.
- [13] T. Egan, J.-C. Jacquier, Y. Rosenberg, and M. Rosenberg, "Cold-set whey protein microgels containing immobilised lipid phases to modulate matrix digestion and release of a water-soluble bioactive.," *J. Microencapsul.*, vol. 31, no. 2, pp. 184–92, Jan. 2014.
- [14] G. Davidov-Pardo, I. J. Joye, and D. J. McClements, "Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 1: Preparation and characterization," *Food Hydrocoll.*, vol. 45, pp. 309–316, 2015.
- [15] J. a. Eldridge, D. Repko, and R. J. Mumper, "Retention of Polyphenolic Species in Spray-Dried Blackberry Extract Using Mannitol as a Thermoprotectant," *J. Med. Food*, vol. 17, no. 10, pp. 1064–1069, 2014.
- [16] C. G. da Rosa, C. D. Borges, R. C. Zambiasi, M. R. Nunes, E. V. Benvenutti, S. R. Da Luz, R. F. D'Avila, and J. K. Rutz, "Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan," *Ind. Crops Prod.*, vol. 46, pp. 138–146, Apr. 2013.
- [17] B. Ozturk and D. J. McClements, "Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions," *Curr. Opin. Food Sci.*, 2015.
- [18] D. J. McClements, "Utilizing food effects to overcome challenges in delivery of lipophilic bioactives: structural design of medical and functional foods.," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 10, pp. 1621–32, 2013.
- [19] M. Matos, G. Gutiérrez, J. Coca, and C. Pazos, "Preparation of water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double emulsions containing trans-resveratrol," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 442, pp. 69–79, 2014.
- [20] Z. Zhang, E. A. Decker, and D. J. McClements, "Encapsulation, protection, and release of polyunsaturated lipids using biopolymer-based hydrogel particles," *Food Res. Int.*, vol. 64, pp. 520–526, 2014.
- [21] M. Gibis, K. Thellmann, C. Thongkaew, and J. Weiss, "Interaction of polyphenols and multilayered liposomal-encapsulated grape seed extract with native and heat-treated proteins," *Food Hydrocoll.*, vol. 41, pp. 119–131, 2014.

-
- [22] M. J. Cocero, Á. Martín, F. Mattea, and S. Varona, "Encapsulation and coprecipitation processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 3, pp. 546–555, Jan. 2009.
- [23] P. Rajendran, N. Nandakumar, T. Rengarajan, R. Palaniswami, E. N. Gnanadhas, U. Lakshminarasiah, J. Gopas, and I. Nishigaki, "Antioxidants and human diseases," *Clin. Chim. Acta.*, vol. 436C, pp. 332–347, Jun. 2014.
- [24] M. I. Dias, I. C. F. R. Ferreira, and M. F. Barreiro, "Microencapsulation of bioactives for food applications," *Food Funct.*, vol. 6, no. 4, pp. 1035–1052, 2015.
- [25] C. G. Da Rosa, C. D. Borges, R. C. Zambiasi, J. K. Rutz, S. R. da Luz, F. D. Krumreich, E. V. Benvenuto, and M. R. Nunes, "Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*)," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 58, no. 2, pp. 527–533, 2014.
- [26] O. Aizpurua-Olaizola, P. Navarro, A. Vallejo, M. Olivares, N. Etxebarria, and A. Usobiaga, "Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes," *Food Chem.*, vol. 190, pp. 614–621, 2016.
- [27] L. Kaume, L. R. Howard, and L. Devareddy, "The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, pp. 5716–5727, 2012.
- [28] Agronet, "Area Cosechada, Producción, y Rendimiento de Mora, 2013." [Online]. Available: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx>. [Accessed: 28-Aug-2015].
- [29] J. Luis, P. Reátegui, A. Paula, G. F. Barbero, C. a Rezende, and J. Martínez, "The Journal of Supercritical Fluids Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus sp.*) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 94, pp. 223–233, 2014.
- [30] A. Esmaeili and M. Gholami, "Optimization and preparation of nanocapsules for food applications using two methodologies," *Food Chem.*, vol. 179, pp. 26–34, 2015.
- [31] Faostat, "No Title." [Online]. Available: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. [Accessed: 27-Aug-2015].
- [32] M. a Z. Dos Santos, T. V. R. Alicieo, C. M. P. Pereira, G. Ramis-Ramos, and C. R. B. Mendonça, "Profile of bioactive compounds in avocado pulp oil: Influence of the drying processes and extraction methods," *JAOCs, J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 91, pp. 19–27, 2014.

- [33] D. Sun-Waterhouse, L. Penin-Peyta, S. S. Wadhwa, and G. I. N. Waterhouse, "Storage Stability of Phenolic-Fortified Avocado Oil Encapsulated Using Different Polymer Formulations and Co-extrusion Technology," *Food Bioprocess Technol.*, vol. 5, pp. 3090–3102, 2012.
- [34] D. J. McClements, *Nanoparticle- and Microparticle-Based Delivery Systems*. .
- [35] O. G. Jones and D. J. McClements, "Functional Biopolymer Particles: Design, Fabrication, and Applications," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 9, no. 4, pp. 374–397, 2010.
- [36] Y. Luo, K. Pan, and Q. Zhong, "Casein/pectin nanocomplexes as potential oral delivery vehicles," *Int. J. Pharm.*, vol. 486, no. 1–2, pp. 59–68, 2015.
- [37] I. J. Joye and D. J. McClements, "Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 19, no. 5, pp. 417–427, 2014.
- [38] C. J. F. Souza, E. E. Garcia Rojas, N. R. Melo, a. Gaspar, and J. F. C. Lins, "Complex coacervates obtained from interaction egg yolk lipoprotein and polysaccharides," *Food Hydrocoll.*, vol. 30, no. 1, pp. 375–381, Jan. 2013.
- [39] R. V. D. B. Fernandes, S. V. Borges, and D. A. Botrel, "Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil.," *Carbohydr. Polym.*, vol. 101, pp. 524–32, Jan. 2014.
- [40] P. I. Silva, P. C. Stringheta, R. F. Teófilo, and I. R. N. de Oliveira, "Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses," *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 4, pp. 538–544, Aug. 2013.
- [41] D. J. McClements, "Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems," *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 219, pp. 27–53, 2015.
- [42] J. Komaiko and D. J. McClements, "Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: Factors influencing particle size," *J. Food Eng.*, vol. 146, pp. 122–128, 2015.
- [43] A. H. Saberi, Y. Fang, and D. J. McClements, "Thermal reversibility of vitamin E-enriched emulsion-based delivery systems produced using spontaneous emulsification," *Food Chem.*, vol. 185, pp. 254–260, 2015.
- [44] C. Chung, B. Degner, E. A. Decker, and D. J. McClements, "Oil-filled hydrogel particles for reduced-fat food applications: Fabrication, characterization, and properties," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 20, pp. 324–334, 2013.

-
- [45] Y. Chang, L. McLandsborough, and D. J. McClements, "Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate)," *Food Chem.*, vol. 172, pp. 298–304, 2015.
- [46] I. J. Arroyo-Maya and D. J. McClements, "Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: Fabrication and properties," *Food Res. Int.*, vol. 69, pp. 1–8, 2015.
- [47] Z. Zhang, R. Zhang, Q. Tong, E. A. Decker, and D. J. McClements, "Food-grade filled hydrogels for oral delivery of lipophilic active ingredients: Temperature-triggered release microgels," *Food Res. Int.*, vol. 69, pp. 274–280, 2015.
- [48] Z. Zhang, R. Zhang, E. A. Decker, and D. J. McClements, "Development of food-grade filled hydrogels for oral delivery of lipophilic active ingredients: pH-triggered release," *Food Hydrocoll.*, vol. 44, pp. 345–352, 2015.
- [49] L. Salcedo-Sandoval, S. Cofrades, C. Ruiz-Capillas, A. Matalanis, D. J. McClements, E. a. Decker, and F. Jiménez-Colmenero, "Oxidative stability of n-3 fatty acids encapsulated in filled hydrogel particles and of pork meat systems containing them," *Food Chem.*, vol. 184, pp. 207–213, 2015.
- [50] J. Komaiko and D. J. McClements, "Food-grade nanoemulsion filled hydrogels formed by spontaneous emulsification and gelation: Optical properties, rheology, and stability," *Food Hydrocoll.*, vol. 46, pp. 67–75, 2015.
- [51] H. Salminen, K. Herrmann, and J. Weiss, "Oil-in-water emulsions as a delivery system for n-3 fatty acids in meat products," *Meat Sci.*, vol. 93, no. 3, pp. 659–667, 2013.
- [52] C. Thongkaew, J. Hinrichs, M. Gibis, and J. Weiss, "Sequential modulation of pH and ionic strength in phase separated whey protein isolate – Pectin dispersions: Effect on structural organization," *Food Hydrocoll.*, vol. 47, pp. 21–31, 2015.
- [53] G.-Q. Huang, Y.-T. Sun, J.-X. Xiao, and J. Yang, "Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan.," *Food Chem.*, vol. 135, no. 2, pp. 534–9, Nov. 2012.
- [54] K. Pan, Y. Luo, Y. Gan, S. J. Baek, and Q. Zhong, "pH-driven encapsulation of curcumin in self-assembled casein nanoparticles for enhanced dispersibility and bioactivity," *Soft Matter*, vol. 10, pp. 6820–6830, 2014.
- [55] K. Hu, X. Huang, Y. Gao, X. Huang, H. Xiao, and D. J. McClements, "Core-Shell Biopolymer Nanoparticle Delivery Systems: Synthesis and Characterization of Curcumin Fortified Zein-Pectin Nanoparticles," *Food Chem.*, vol. 182, pp. 275–281, 2015.

- [56] A. a. Perez, O. E. Sponton, R. B. Andermatten, A. C. Rubiolo, and L. G. Santiago, "Biopolymer nanoparticles designed for polyunsaturated fatty acid vehiculization: Protein–polysaccharide ratio study," *Food Chem.*, vol. 188, pp. 543–550, 2015.
- [57] V. Sanna, G. Lubinu, P. Madau, N. Pala, S. Nurra, A. Mariani, and M. Sechi, "Polymeric Nanoparticles Encapsulating White Tea Extract for Nutraceutical Application," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 63, pp. 2026–2032, 2015.
- [58] I. Nallamuthu, A. Devi, and F. Khanum, "Chlorogenic acid loaded chitosan nanoparticles with sustained release property, retained antioxidant activity and enhanced bioavailability," *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 10, no. 3, pp. 203–211, 2015.
- [59] L. Gopalakrishnan, L. N. Ramana, S. Sethuraman, and U. M. Krishnan, "Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent," *Carbohydr. Polym.*, vol. 111, pp. 215–221, 2014.
- [60] A. R. Patel, P. C. M. Heussen, J. Hazekamp, E. Drost, and K. P. Velikov, "Quercetin loaded biopolymeric colloidal particles prepared by simultaneous precipitation of quercetin with hydrophobic protein in aqueous medium," *Food Chem.*, vol. 133, no. 2, pp. 423–429, 2012.
- [61] Y. Zhang, Y. Niu, Y. Luo, M. Ge, T. Yang, L. Yu, and Q. Wang, "Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymolloaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate-chitosan hydrochloride double layers," *Food Chem.*, vol. 142, pp. 269–275, 2014.
- [62] K. Hu and D. J. McClements, "Fabrication of surfactant-stabilized zein nanoparticles: A pH modulated antisolvent precipitation method," *Food Res. Int.*, vol. 64, pp. 329–335, 2014.
- [63] Y. Luo, B. Zhang, M. Whent, L. L. Yu, and Q. Wang, "Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of ??-tocopherol, and its in vitro controlled release study," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 85, no. 2, pp. 145–152, 2011.
- [64] Y. Luo, T. T. Y. Wang, Z. Teng, P. Chen, J. Sun, and Q. Wang, "Encapsulation of indole-3-carbinol and 3,3-?-diindolylmethane in zein/carboxymethyl chitosan nanoparticles with controlled release property and improved stability," *Food Chem.*, vol. 139, no. 1–4, pp. 224–230, 2013.
- [65] M. Çam, N. C. İçyer, and F. Erdoğan, "Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 55, no. 1, pp. 117–123, Jan. 2014.

-
- [66] S. Ersus and U. Yurdagel, "Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier," *J. Food Eng.*, vol. 80, no. 3, pp. 805–812, Jun. 2007.
- [67] M. L. Lemoine, P. M. Civello, G. a Martínez, and a R. Chaves, "Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*)," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 87, no. 6, pp. 1132–1139, 2007.
- [68] A. M. Bakowska-Barczak and P. P. Kolodziejczyk, "Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation," *Ind. Crops Prod.*, vol. 34, no. 2, pp. 1301–1309, Sep. 2011.
- [69] J. Andrés and D. Rincón, "Design of Biorefineries for High Value Added Products from Fruits Diseño de Biorefinerías para Productos de Alto Valor Agregado a partir de Frutas," 2015.
- [70] C. C. Ferrari, S. P. M. Germer, and J. M. de Aguirre, "Effects of Spray-Drying Conditions on the Physicochemical Properties of Blackberry Powder," *Dry. Technol.*, vol. 30, no. 2, pp. 154–163, Feb. 2012.
- [71] C. C. Ferrari, S. P. Marconi Germer, I. D. Alvim, and J. M. de Aguirre, "Storage Stability of Spray-Dried Blackberry Powder Produced with Maltodextrin or Gum Arabic," *Dry. Technol.*, vol. 31, no. 4, pp. 470–478, Mar. 2013.
- [72] C. C. Ferrari, S. P. M. Germer, I. D. Alvim, F. Z. Vissotto, and J. M. de Aguirre, "Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 47, no. 6, pp. 1237–1245, Jun. 2012.
- [73] C. C. Ferrari, S. P. Marconi Germer, I. D. Alvim, and J. M. de Aguirre, "Storage Stability of Spray-Dried Blackberry Powder Produced with Maltodextrin or Gum Arabic," *Dry. Technol.*, vol. 31, no. 4, pp. 470–478, Mar. 2013.
- [74] B. Zeeb, J. Weiss, and D. J. McClements, "Electrostatic modulation and enzymatic cross-linking of interfacial layers impacts gastrointestinal fate of multilayer emulsions," *Food Chem.*, vol. 180, pp. 257–264, 2015.
- [75] M. Paini, B. Aliakbarian, A. a. Casazza, P. Perego, C. Ruggiero, and L. Pastorino, "Chitosan/dextran multilayer microcapsules for polyphenol co-delivery," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 46, pp. 374–380, 2015.
- [76] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, Jan. 1995.

- [77] L. E. Rincón, M. J. Valencia, V. Hernández, L. G. Matallana, and C. a. Cardona, "Optimization of the Colombian biodiesel supply chain from oil palm crop based on techno-economical and environmental criteria," *Energy Econ.*, vol. 47, pp. 154–167, 2015.
- [78] I. X. Cerón, J. C. Higueta, and C. a. Cardona, "Design and analysis of antioxidant compounds from Andes Berry fruits (*Rubus glaucus* Benth) using an enhanced-fluidity liquid extraction process with CO₂ and ethanol," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 62, pp. 96–101, 2012.
- [79] I. X. Cerón, R. T. L. Ng, M. El-Halwagi, and C. a. Cardona, "Process synthesis for antioxidant polyphenolic compounds production from *Matisia cordata* Bonpl. (zapote) pulp," *J. Food Eng.*, vol. 134, pp. 5–15, 2014.
- [80] O. J. Sánchez and C. a. Cardona, "Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks.," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 13, pp. 5270–95, Sep. 2008.
- [81] J. Quintero, J. Moncada, and C. a. Cardona, "Techno-economic analysis of bioethanol production from lignocellulosic residues in Colombia: a process simulation approach.," *Bioresour. Technol.*, vol. 139, pp. 300–7, Jul. 2013.
- [82] J. a. Dávila, M. Rosenberg, and C. a. Cardona, "Techno-economic and Environmental Assessment of p-Cymene and Pectin Production from Orange Peel," *Waste and Biomass Valorization*, vol. 6, no. 2, pp. 253–261, 2015.
- [83] I. X. Cerón, C. A. Cardona, and L. A. Toro, "Simulación del proceso de concentración de aceite esencial de Cidrón (*Lippia citriodora*) por destilación molecular de película descendente Simulation of the concentration process of *Lippia citriodora* (*Cidrón*) essential oil using falling – film molecular," vol. 120, no. 1, pp. 107–120, 2012.
- [84] J. Moncada, J. Tamayo, and C. a. Cardona, "Evolution from biofuels to integrated biorefineries: Techno-economic and environmental assessment of oil palm in Colombia," *J. Clean. Prod.*, vol. 81, pp. 51–59, 2014.
- [85] "Alibaba." [Online]. Available: <http://spanish.alibaba.com/trade/search?SearchText=caseina+&selectedTab=products>. [Accessed: 29-Sep-2015].
- [86] "ICIS, Indicative Chemical Prices A-Z," 2015. [Online]. Available: <http://www.icis.com/chemicals/channel-info-chemicals-a-z/>. [Accessed: 28-Oct-2015].
- [87] "Phyto Nutraceutical," 2015. [Online]. Available: <http://www.phytonutraceutical.com>. [Accessed: 28-Oct-2015].

-
- [88] A. Paula, D. Fonseca, J. L. Pasquel-reátegui, G. Fernández, and J. Martínez, "Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L .) residues : a comparison with conventional methods," *Frin*, 2014.
- [89] E. R. Daiuto, M. a. Tremocoldi, S. Matias-de-Alencar, R. Lopes-Vieites, and P. Herbst-Minarelli, "Composicao quimica e atividade antioxidante da polpa e residuos de abacate 'Hass,'" *Rev. Bras. Frutic.*, vol. 36, no. 2, pp. 417–424, 2014.
- [90] W. Wang, T. R. Bostic, and L. Gu, "Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars," *Food Chem.*, vol. 122, no. 4, pp. 1193–1198, 2010.
- [91] A. Prescha, M. Grajzer, M. Dedyk, and H. Grajeta, "The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 91, pp. 1291–1301, 2014.
- [92] M. Akhtar and E. Dickinson, "Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum arabic," *Food Hydrocoll.*, vol. 21, pp. 607–616, 2007.
- [93] C. Thongkaew, M. Gibis, J. Hinrichs, and J. Weiss, "Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-pectin coacervates," *Food Hydrocoll.*, vol. 41, pp. 103–112, 2014.
- [94] G. E. a V. a N. K. Oningsveld, G. O. a H. D. E. J. Ong, and a L. G. J. V Orogen, "Effects of Non-covalent Interactions with 5- O -Caffeoylquinic Acid (Chlorogenic Acid) on the Heat Denaturation and," pp. 5088–5095, 2003.
- [95] D. Amendola, D. M. De Faveri, and G. Spigno, "Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts," *J. Food Eng.*, vol. 97, no. 3, pp. 384–392, 2010.
- [96] I. Volf, I. Ignat, M. Neamtu, and V. Popa, "Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols," *Chem. Pap.*, vol. 68, no. 1, 2014.
- [97] A. rabshahi, D.D., Vishalakshi, D.D., Urooj, "Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability," *Food Chem.*, vol. 100, pp. 1100 – 1105, 2007.
- [98] J. Weiss, P. Takhistov, and D. J. McClements, "Functional Materials in Food Nanotechnology," *J. Food Sci.*, vol. 71, no. 9, pp. R107–R116, Nov. 2006.
- [99] J. Oszmiański, P. Nowicka, M. Teleszko, A. Wojdyło, T. Cebulak, and K. Oklejewicz, "Analysis of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Wild Blackberry Fruits," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, pp. 14540–14553, 2015.

- [100] B. Cilek, A. Luca, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu, "Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 235, no. 4, pp. 587–596, Jul. 2012.
- [101] C. G. da Rosa, C. D. Borges, R. C. Zambiazzi, J. K. Rutz, S. R. da Luz, F. D. Krumreich, E. V. Benvenuto, and M. R. Nunes, "Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*)," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 58, no. 2, pp. 527–533, Oct. 2014.
- [102] J. K. Rutz, R. C. Zambiazzi, C. D. Borges, F. D. Krumreich, S. R. da Luz, N. Hartwig, and C. G. da Rosa, "Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes.," *Carbohydr. Polym.*, vol. 98, no. 2, pp. 1256–65, Nov. 2013.
- [103] A. H. Saberi, Y. Fang, and D. J. McClements, "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions by spontaneous emulsification: Effect of propylene glycol and ethanol on formation, stability, and properties," *Food Res. Int.*, vol. 54, pp. 812–820, 2013.
- [104] A. Joos, J. Weiss, and D. J. McClements, "Fabrication of Lipophilic Nanoparticles by Spontaneous Emulsification: Stabilization by Cosurfactants," *Food Biophys.*, vol. 10, pp. 83–93, 2014.
- [105] A. H. Saberi, Y. Fang, and D. J. McClements, "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 391, pp. 95–102, 2013.
- [106] C. E. Mora-Huertas, H. Fessi, and a. Elaissari, "Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods: Critical comparison," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 163, no. 2, pp. 90–122, 2011.
- [107] T. F. Vandamme and N. Anton, "Low-energy nanoemulsification to design veterinary controlled drug delivery devices.," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, pp. 867–73, 2010.
- [108] F. Ostertag, J. Weiss, and D. J. McClements, "Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 388, no. 1, pp. 95–102, 2012.
- [109] A. Matalanis and D. J. McClements, "Hydrogel microspheres for encapsulation of lipophilic components: Optimization of fabrication & performance," *Food Hydrocoll.*, vol. 31, no. 1, pp. 15–25, 2013.

-
- [110] B. P. Lavarack, G. J. Gri, and D. Rodman, "The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products," vol. 23, pp. 367–380, 2002.
- [111] D. Krishnaiah, R. Sarbatly, and R. Nithyanandam, "Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying," *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 90, no. 5, pp. 622–632, May 2012.
- [112] C. Saenz, S. Tapia, J. Chavez, and P. Robert, "Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*)," *Food Chem.*, vol. 114, no. 2, pp. 616–622, May 2009.
- [113] A. M. Bakowska-Barczak and P. P. Kolodziejczyk, "Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation," *Ind. Crops Prod.*, vol. 34, no. 2, pp. 1301–1309, Sep. 2011.
- [114] X.-X. Deng, Z. Chen, Q. Huang, X. Fu, and C.-H. Tang, "Spray-drying microencapsulation of β -carotene by soy protein isolate and/or OSA-modified starch," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 131, no. 12, p. n/a–n/a, Jun. 2014.
- [115] P. I. Silva, P. C. Stringheta, R. F. Teófilo, and I. R. N. de Oliveira, "Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses," *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 4, pp. 538–544, Aug. 2013.
- [116] and R. S. Anilkumar Gaonkar, Niraj Vasisht, Atul Khare, *Microencapsulation in the food industry. A practical Implementation Guide*. San Diego, CA, 2014.
- [117] S. Gouin, "Microencapsulation," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, no. 7–8, pp. 330–347, Jul. 2004.