



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Microencapsulación de compuestos
con poder antioxidante extraídos a
partir de semillas sin fermentar de
Theobroma cacao y *Theobroma
grandiflorum***

Qca. Yenny Mayerly Herrera Ardila

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá D.C., Colombia

2013

Microencapsulación de compuestos con poder antioxidante extraídos a partir de semillas sin fermentar de *Theobroma cacao* y *Theobroma grandiflorum*

Yenny Mayerly Herrera Ardila
Química

Tesis presentada como requisito para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:

Doctora María Soledad Hernández Gómez

Codirector:

Mg. Sc. Rafael H. Gutiérrez Bravo

Grupo de Investigación:

Frutales Promisorios de la Amazonia – Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas
Sinchi

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá D.C., Colombia

2013

Dedicatoria

A Dios, por permitirme creer en mis sueños y mostrarme el camino para alcanzarlos

A mis padres y hermana, extrañándolos siempre

Agradecimientos

Se agradece al Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi por el apoyo y los recursos brindados para la realización de esta tesis.

A la Dra. María Soledad por su valiosa dirección, guía, comprensión y confianza que permitieron la ejecución exitosa de este trabajo.

A mi Codirector, Profesor Rafael Gutiérrez, por su colaboración, dedicación, consejos, aportes y paciencia durante todo la ejecución de la tesis.

Al profesor Orlando Martínez por su valiosa asesoría en el análisis estadístico de los datos.

A la Fundación Juan Pablo Gutiérrez Cáceres por darme la oportunidad de ser una sus beneficiarias.

Y a todas las personas que aportaron de una u otra manera para que este trabajo de tesis culminara satisfactoriamente.

Resumen

Las semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) y copoazú (*Theobroma grandiflorum*) pueden ser consideradas fuentes de compuestos bioactivos catalogándolos como alimentos funcionales con propiedades fitoactivas. Se determinaron los mejores parámetros de la extracción asistida por microondas para los compuestos polifenoles de semillas sin fermentar de cacao y copoazú, mediante la evaluación del efecto individual de las variables relación solvente/muestra, potencia, tiempo y ciclos de extracción y la interacción de las mismas. La microencapsulación se llevó a cabo mediante secado por atomización de los compuestos antioxidantes extraídos, evaluando las variables del proceso: temperatura de entrada y flujo de alimentación. Se determinaron las condiciones que permitieron la menor variación en el tiempo de almacenamiento del contenido de compuestos polifenólicos, cuya aplicación puede estar en la industria agroalimentaria y nutraceutica.

Palabras clave: innovación, antioxidantes, microondas, fitoactivos

Abstract

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) and copoazú (*Theobroma grandiflorum*) beans can be used as phytoactive compounds source due to their high level of polyphenols. This research was carry out in order to optimize the parameters of microwave-assisted extraction (EAM) from cocoa and copuazú beans, by assessing the individual and interaction effects of the variables: solvent/sample ratio, microwave power, time and cycles and the interaction between them. Polyphenolic compounds microencapsulation by spray drying was assessed varying inlet temperature and feed ratio to find the conditions that allowed better time stability of the encapsulated compounds. Obtained products may have applications in agroalimentary and nutraceutical industries, as well as others related.

Keywords: innovation, antioxidants, microwave, phytoactive

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas	XV
Introducción	17
1. Evaluación de las variables de la técnica EAM, para la obtención de compuestos antioxidantes en semillas secas y sin fermentar de copoazú (<i>Theobroma grandiflorum</i>) y cacao (<i>Theobroma cacao</i>)	21
1.1 Resumen/Abstract	21
1.2 Introducción	22
1.3 Materiales y métodos	30
1.3.1 Material vegetal	30
1.3.2 Métodos	31
1.3.3 Diseño Experimental y Análisis estadístico	35
1.4 Resultados y discusión	37
1.4.1 Efecto de la relación solvente/muestra	37
1.4.2 Efecto de la potencia de microondas	38
1.4.3 Efecto del tiempo de extracción	39
1.4.4 Efecto de los ciclos de extracción	40
1.4.5 Evaluación de la interacción de las variables de la EAM para la obtención de compuestos antioxidantes – Diseño ortogonal de Taguchi	42
1.4.6 Comparación de los extractos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú obtenidos por EAM	45
1.4.7 Comparación de la EAM y EAU en la obtención de compuestos antioxidantes	46
1.5 Conclusiones	48
Bibliografía	49
2. Microencapsulación de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú (<i>Theobroma grandiflorum</i>) y cacao (<i>Theobroma cacao</i>) mediante secado por atomización (“<i>spray drying</i>”)	54
2.1 Resumen/Abstract	54
2.2 Introducción	55
2.3 Materiales y métodos	61
2.3.1 Material vegetal	61

2.3.2	Métodos	61
2.3.3	Diseño de Experimentos y Análisis estadístico	66
2.4	Resultados y discusión.....	67
2.4.1	Estudio de la técnica de microencapsulación secado por atomización (<i>Spray drying</i>) de compuestos fitoactivos.....	67
2.4.2	Microencapsulación de extractos antioxidantes de semillas sin fermentar de <i>Theobroma cacao</i> y <i>Theobroma grandiflorum</i> (Copoazú)	72
2.5	Conclusiones	75
	Bibliografía.....	75
3.	Consideraciones finales y recomendaciones.....	79
3.1	Consideraciones finales	79
3.2	Recomendaciones.....	80
A.	Tablas Análisis Estadístico	81
B.	Divulgación de los resultados	83

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Esquema del sistema de extracción asistida por microondas	27
Figura 1-2: Preparación de las muestras para su extracción: quiebre de los frutos, despulpado, secado, descascarillado, molienda y tamizado de las semillas.....	31
Figura 1-3: Horno microondas doméstico modificado empleado para la extracción asistida por microondas.....	32
Figura 1-4: Efecto de la relación solvente/muestra en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: 400 W, 6 min y 1 ciclo.....	38
Figura 1-5: Efecto de la potencia de microondas en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 6 min y 1 ciclo	39
Figura 1-6: Efecto del tiempo en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 400 W y 1 ciclo	40
Figura 1-7: Efecto de los ciclos de extracción por EAM de compuestos antioxidantes. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 400 W y 6 min	41
Figura 1-8: Comparación de las técnicas EAM y EAU en la extracción de compuestos antioxidantes – Gráfica de interacción	48
Figura 2-1: Ilustración esquemática de los diferentes procesos de microencapsulación .	57
Figura 2-2: Spray Dryer Lab Plant™ SD-06	62
Figura 2-3: Microencapsulación por secado por atomización “ <i>Spray Drying</i> ” de compuestos antioxidantes	62
Figura 2-4: Evaluación de la estabilidad en el tiempo de los polifenoles totales microencapsulados	70
Figura 2-5: Microencapsulados de (a) <i>Theobroma cacao</i> y (b) <i>Theobroma grandiflorum</i> (copoazú)	72
Figura 2-6: Imágenes de microscopía electrónica de barrido (a-1) microencapsulados de <i>Theobroma cacao</i> , (a-2) material adherido a las paredes de la cámara - <i>Theobroma cacao</i> paredes, (b-1) microencapsulados de <i>Theobroma grandiflorum</i> (Copoazú), (b-2) material adherido a las paredes de la cámara - <i>Theobroma grandiflorum</i> (Copoazú) paredes	74

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Variables y niveles del estudio preliminar.....	35
Tabla 1-2. Tabla arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$, donde p son las variables.....	36
Tabla 1-3: Valores de estudio para el diseño ortogonal de Taguchi	42
Tabla 1-4: Resultados del diseño de arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$	43
Tabla 1-5. Caracterización de los extractos de compuestos antioxidantes de cacao y copoazú.....	45
Tabla 1-6: Análisis de varianza de la EAU y EAM de compuestos antioxidantes.....	47
Tabla 2-1: Variables para el estudio de la técnica de microencapsulación secado por atomización de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao.....	66
Tabla 2-2: Caracterización extracto de compuestos antioxidantes de copoazú y cacao obtenidos mediante EAM.....	67
Tabla 2-3: Promedios para la Temperatura, caudal e interacción de las características de los microencapsulados para la estandarización (día 0).....	68
Tabla 2-4. Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales (mg EAG/g) – Interacción con las variables	70
Tabla 2-5: Caracterización de los microencapsulados de extractos de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú	73

Lista de Símbolos y abreviaturas

Fórmulas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
$\% \text{ In DPPH}$	Porcentaje de inhibición DPPH	%	$\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{mtra}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$
$\% \text{ In ABTS}$	Porcentaje de inhibición ABTS	%	$\frac{A_{\text{ABTS}} - A_{\text{mtra}}}{A_{\text{ABTS}}} \times 100$
$\% R$	Rendimiento del proceso	%	$\frac{\text{gramos obtenidos}}{\text{gramos de partida}} \times 100$

Subíndices

Subíndice	Término
A_{DPPH}	Absorbancia DPPH
A_{ABTS}	Absorbancia ABTS
a_w	Actividad de agua
C^*	Colorido o croma
h^*	Tono
g	Gramo
L^*	Claridad
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	Militro
nm	Nanometro
P	Potencia
T	Temperatura
W	Watt
μl	Microlitro
μm	Micrometro
μM	Micromolar

Subíndice	Término
°C	Grados Celcius

Abreviaturas

Abreviatura	Término
EAM	Extracción asistida por microondas
EAU	Extracción asistida por ultrasonido
AG	Ácido gálico
EAG	Equivalentes de ácido gálico 2,2-azinobis (3-
ABTS	etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

Introducción

El estudio del uso potencial de especies de la flora Amazónica da un valor agregado a través del desarrollo de productos atractivos al consumidor. Dentro de este aprovechamiento se encuentra la extracción de compuestos bioactivos o fitoactivos, en los cuales se encuentran aquellos con actividad antioxidante, quienes se encargan de proteger al organismo de los radicales libres (Praticò & Delanty, 2000).

En la región del Amazonía hay variedad de frutales silvestres que presentan un alto contenido de compuestos antioxidantes, como es el caso del cacao (*Theobroma cacao*), el cual es reconocido por ser un alimento rico en polifenoles, su semilla contiene aproximadamente del 6% al 8% de su peso en base seca (Zumbé, 1998). Del mismo modo, en la región Amazónica también encontramos otro miembro del género *Theobroma*, el copoazú (*Theobroma grandiflorum wild spreng Ex Schum*), cuya importancia económica radica en el fruto, del cual se aprovecha principalmente la pulpa, que se comercializa fresca o industrializada (Melgarejo, L. M., *et. al.*, 2006). Aunque la semilla del copoazú guarda similitud de composición con la del cacao, es un subproducto para el cual se continúa buscando alternativas de uso, como la elaboración de productos de confitería a partir de las semillas fermentadas, la extracción de la manteca de copoazú y extractos como posible fuente potencial de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. Como especie subutilizada, el copoazú, no ha sido estudiado suficientemente, con el fin de establecer sus aplicaciones en las industrias como confitería artesanal, cosmética y nutracéutica.

Los compuestos antioxidantes son sustancias que protegen al organismo de los radicales libres, especies químicas que en su estructura tienen un electrón desapareado en

capacidad de aparearse, lo que los hace altamente reactivos y debido a esta condición pueden ocasionar daños al organismo a nivel celular. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena que destruye nuestras células. (Praticò & Delanty 2000); (Vinson, *et al.*, 1998).

Para la extracción de los compuestos antioxidantes se han desarrollado diversas técnicas, las cuales varían entre el nivel de tecnología empleado como en su especificidad sobre el compuesto de interés. Algunas de las técnicas más empleadas son la extracción por agitación, extracción asistida por ultrasonido (EAU), extracción con fluido supercrítico (EFSC) y la extracción asistida por microondas (EAM). Esta última técnica es una tecnología que ha venido siendo muy utilizada por sus altos rendimientos, reducidos tiempos de operación y un bajo impacto con el ambiente (Wannberg *et al.*, 2006).

En comparación con los métodos convencionales de calentamiento, las microondas generan calor dentro del material, lo que conduce a velocidades de calentamiento más rápido y en períodos de tiempos más cortos (Wannberg *et al.*, 2006). La EAM es altamente recomendada, ya que requiere menores tiempos de extracción, bajos requerimiento de energía y una alta eficiencia de la extracción. Variables como la relación solvente/muestra, tiempos, potencia y ciclos de extracción pueden afectar el rendimiento del proceso, por lo que se hace necesario el estudio de cada una de las variables y la interacción entre ellas (Luo *et al.*, 2010). Para el estudio de estas variables y su interacción se emplean diseños ortogonales que reducen el número de experimentos y costos, como el modelo desarrollado por el matemático G. Taguchi, el cual es un diseño factorial fraccionado asignados por un arreglo ortogonal que es usado para diseño de experimentos de múltiples variables (Deng, X., *et al.*, 2012).

Los compuestos antioxidantes son altamente sensibles a factores como la temperatura, humedad y la luz. Para protegerlos se puede emplear la microencapsulación, que se define como una técnica por la cual materiales sólidos, líquidos y gaseosos, son cubiertos con una película polimérica porosa conteniendo la sustancia activa. El proceso de microencapsulación más empleado en la industria de alimentos es el secado por atomización (*Spray drying*), el cual consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido en forma de gotas muy finas sobre una corriente de gas caliente. En el momento en que las gotas se colocan en contacto con el gas a una temperatura mayor se produce una rápida evaporación del disolvente, formándose una fina película del material de recubrimiento que se encuentra disuelto en él (Lozano, 2009); (Madene, *et. al.*, 2006); (Yañez *et. al.*, 2002).

La técnica de secado por atomización presenta variables que deben ser estudiadas para mejorar las características del proceso y del producto final. El control de estas variables depende básicamente del equipo empleado y las alternativas de ajuste que presente. Algunas de estas variables son el caudal de líquido de entrada y de aire de atomización, la temperatura de entrada, humedad del aire, caudal de aire seco, entre otros (Zhongxiang Fang & Bhesh Bhandari. 2011).

Este proceso es particularmente adecuado para la encapsulación de antioxidantes naturales que se usen en la industria de alimentos, farmacéuticas y cosméticas. En estos campos de aplicación el uso de los antioxidantes naturales es un desafío, debido al contacto con el aire o el agua que hacen que disminuya su actividad antioxidante, por lo que la técnica de microencapsulación es una alternativa viable para estos mercados.

En el presente trabajo se planteó un aprovechamiento innovador de las semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú para aquellas variedades que no presenten características óptimas para la elaboración de productos de chocolatería, extrayendo los compuestos antioxidantes presentes en ellas por la técnica EAM, y posteriormente dar

una protección a estos compuestos utilizando la técnica de microencapsulación secado por atomización (*spray drying*).

1. Evaluación de las variables de la técnica EAM, para la obtención de compuestos antioxidantes en semillas secas y sin fermentar de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y cacao (*Theobroma cacao*)

1.1 Resumen/Abstract

Resumen: El copoazú y el cacao son dos especies del género *Theobroma* de poco aprovechamiento en la región de la Amazonia. Los estudios reportan un alto contenido de compuestos antioxidantes en las semillas del cacao y un contenido considerable en las de copoazú. Para la obtención de estos compuestos se empleó la extracción asistida por microondas (EAM) por ser una técnica que mejora la productividad de los procesos. Se evaluó el efecto individual y de interacción de las variables de la EAM para determinar las mejores condiciones de extracción de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao en un equipo microondas doméstico modificado. La mayor extracción de compuestos antioxidantes (8.19 mg EAG/g) se encontró mediante la combinación de las variables: relación solvente/ muestra 25 ml agua/ gramo de muestra, potencia 330 W, tiempo de 15 minutos y 2 ciclos de extracción. El análisis de regresión lineal paso a paso mostró que de las variables evaluadas, solo la potencia no tuvo un efecto significativo en la EAM ($p > 0.05$), mientras que la más influyente fue el número de ciclos de extracción.

Palabras claves: Potencia, Amazonas, polifenoles totales, DPPH

Abstract: Copoazu and cacao are two species of the genus *Theobroma* underperforming in the Amazon region. Studies report a high content of antioxidant compounds in cocoa

beans and substantial content in copoazu. For the obtain of these compounds was used microwave assisted extraction (EAM) being a technique which will improve the productivity of processes. The individual effect and interaction of the EAM variables were evaluated to determine the best conditions for extraction of antioxidant compounds of dry seeds and copoazú and unfermented cocoa on a modified domestic microwave. Increased extraction of antioxidant compounds found by the combination of variables: the ratio solvent / sample 25 ml water / g of sample, power 330 W, 15 min and 2 cycles of extraction. Linear regression analysis showed that step of the variables evaluated, only the power had no significant effect on the EAM ($p > 0.05$), while the most influential was the number of extraction cycles.

Keywords: Power, Amazonas, total polyphenol, DPPH

1.2 Introducción

Las biomoléculas como proteínas, lípidos, ADN y carbohidratos están propensas a procesos de oxidación, estos procesos oxidativos son de vital importancia para la célula, pero también ocasionan efectos colaterales como la producción de radicales libres y otras especies de oxígeno reactivas que causan daños al organismo ya que bloquean las enzimas protectoras como la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa, además de causar efectos destructivos letales en la célula por oxidación de los lípidos de membrana, proteínas celulares, DNA y enzimas (Praticò & Delanty, 2000).

Los radicales libres son controlados por los compuestos antioxidantes. Un antioxidante puede definirse como una sustancia que cuando está presente a una baja concentración, comparada con los sustratos oxidables, inhibe o retrasa la oxidación de este sustrato significativamente (Halliwell, 1990). Estos compuestos pueden tener origen endógeno (producidos por el cuerpo) como las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa o antioxidantes provenientes de la dieta como la vitamina E, ácido úrico, las albúminas, entre otros (Antolovich, *et. al.*, 2002).

Los compuestos antioxidantes son sustancias que protegen al organismo de los radicales libres, especies químicas que en su estructura tienen un electrón desapareado en capacidad de aparearse, lo que los hace altamente reactivos y debido a esta condición pueden ocasionar daños al organismo a nivel celular. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así reacción en cadena que destruye nuestras células. El daño producido por una cantidad incontrolable de radicales libres puede aumentar el riesgo al desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades degenerativas. Un antioxidante puede definirse como una sustancia que cuando está presente a una baja concentración, comparada con los sustratos oxidables, inhibe o retrasa la oxidación de este sustrato significativamente (Halliwell, 1990). Los antioxidantes desactivan los radicales libres, minimizando el daño y protegiendo el organismo de enfermedades, por lo cual se ha despertado un gran interés en estos compuestos, presentes preferiblemente de forma natural en la dieta humana (Vinson, *et. al.*, 1998).

En la industria de los alimentos se lleva a cabo el uso de una variedad de antioxidantes sintéticos con el fin de estabilizar y prevenir el desarrollo de “off-flavour” (propiedades organolépticas indeseables). Los más usados son el Butil-hidroxi-anisol (BHA), Butil-hidroxi-tolueno (BHT), Propilgalato (PG) y Terbutilhidroquinona (TBHQ); sin embargo en los últimos años se ha presentado en el mundo un creciente interés por la seguridad y la calidad de lo que se consume, lo cual se ve reflejado en una clara preferencia de los consumidores por productos de origen natural. Algunos antioxidantes naturales bien conocidos son la vitamina C, la vitamina E, el β -caroteno, los flavonoides y el zinc (Avello & Suwalsky, 2006).

En la región Amazónica se encuentran materiales vegetales que pueden ser aprovechados por su alto contenido de polifenoles, entre estos están los *Theobromas*, cuyas especies más conocidas son el cacao y el copoazú. Las semillas de cacao tienen

un alto contenido de polifenoles, donde los flavonoides principalmente constituyen el 5.5% de su peso en base húmeda (Dreosti, 2000).

Por otro lado, el copoazú es una fruta nativa de la región amazónica, otro integrante del género *Theobroma*. Su importancia económica radica en su fruto, del cual se aprovecha principalmente la pulpa, la cual se comercializa fresca o industrializada, la cáscara se emplea como abono orgánico (Escobar & Martínez, 1996) y las semillas fermentadas están siendo utilizadas para la elaboración de productos de confitería.

La semilla del copoazú puede ser utilizada para la fabricación de un producto con características de confitería aunque las características del grano no son muy favorables ya que la grasa presente (60%) muestra diferencias con la grasa del cacao en algunas de sus propiedades como los tiempos y las temperaturas de cristalización de las grasas (Lannes, *et. al.*, 2003).

El copoazú se constituye en uno de los recursos de la diversidad que pueden ser incorporados en cadenas de valor para generar bienestar y mejorar la calidad de vida de los pobladores Amazónicos. Como especie subutilizada, el copoazú, no ha sido estudiado suficientemente, con el fin de establecer sus aplicaciones en las industrias como chocolatería artesanal, cosmética y nutracéutica. El conocimiento de la especie y su generación de valor agregado puede y debe constituir una oportunidad para su inclusión dentro del concepto de economía verde y el biocomercio justo y equitativo para la región Amazónica.

Martini, M., *et al.*, (2008) estudiaron el contenido de polifenoles totales de las semillas de copoazú y del cacao, encontrando que el contenido en las semillas de cacao es casi el doble que el encontrado en las semillas de copoazú. Mientras que, Genovese & Lannes, 2009 compararon el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante entre “chocolates” elaborados a partir de cacao y copoazú. Los resultados de este trabajo mostraron que, aunque el polvo de copoazú puede representar una fuente de flavonoides

mejor que el cacao en polvo, el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante in vitro del cacao es mucho mayor.

Las metodologías y técnicas de extracción de compuestos de interés para la industria alimentaria varían entre el nivel de tecnología empleado como en la especificidad de ellas sobre el compuesto de interés, asociado a las variables empleadas. La elección del método de extracción de compuestos antioxidantes debe contemplar factores como la compatibilidad del analito con el solvente, condiciones del proceso, viabilidad tecnológica, entre otros. Algunas de las técnicas más utilizadas en la extracción de compuestos antioxidantes son la extracción asistida por Ultrasonido (EAU), extracción por Soxhlet, extracción acelerada con disolventes, extracción analítica con fluido supercríticos y una de las más empleadas últimamente por su simplicidad y eficiencia es la Extracción asistida por microondas (EAM) (Datta, A., & Anantheswaram, R., 2001).

La técnica EAM consiste en la irradiación con ondas de naturaleza electromagnética (microondas), las cuales generan un calentamiento diferenciado en la matriz irradiada que contribuye a la extracción selectiva de los compuestos de interés. Un horno de microondas doméstico opera en sistemas de procesamiento de 2.45 GHz y la industria suele utilizar 2,45 GHz o 915 MHz (896 MHz en el Reino Unido) (Datta & Anantheswaram, 2001). Esta tecnología es una herramienta que logra mejorar la productividad de los procesos.

Existen dos mecanismos principales por los cuales las microondas calientan las matrices expuestas: en unos casos lo ocasiona el movimiento en los iones al tratar de alinearse con el cambiante campo eléctrico que acompaña a las ondas electromagnéticas y en otros casos las moléculas dipolares que se encuentran en las matrices biológicas también se ven obligadas a alinearse con el campo, que está cambiando a una alta frecuencia, lo que provoca que el roce entre moléculas y la vibración que se produce hace que haya rápida producción de calor al haber una conversión de energía eléctrica a energía calórica (Datta, A., & Anantheswaram, R., 2001).

En comparación con los métodos convencionales de calentamiento, las microondas generan calor dentro del material, lo que conduce a velocidades de calentamiento más rápido y en períodos de tiempos más cortos (Wannberg, *et. al.*, 2006). La EAM es altamente recomendada, ya que requiere menores tiempos de extracción, bajos requerimiento de energía y una alta eficiencia de la extracción. Por otra parte, factores como la energía de microondas, el tiempo de irradiación, el tipo de solvente y los ciclos de extracción pueden afectar la eficacia del proceso (Luo, *et. al.*, 2010).

La distribución de energía EAM en los sistemas de microondas se rige por las ecuaciones de Maxwell con las condiciones de contorno adecuadas definidas por la configuración de los sistemas y las interfaces entre los materiales tratados y el espacio hueco que queda. Las propiedades dieléctricas de las muestras son los principales parámetros de propiedades de las ecuaciones de Maxwell y, como tal, influyen significativamente en la eficacia de la energía EAM acoplada a los materiales, distribución de campo EAM y la conversión de energía EAM en energía térmica dentro de esas muestras biológicas. Las propiedades dieléctricas de un material se describen por la permitividad relativa compleja (ϵ^* con respecto a la del espacio libre) en la siguiente relación (Routray, W., & Orsat, V. ,2012):

$$\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon''$$

Donde,

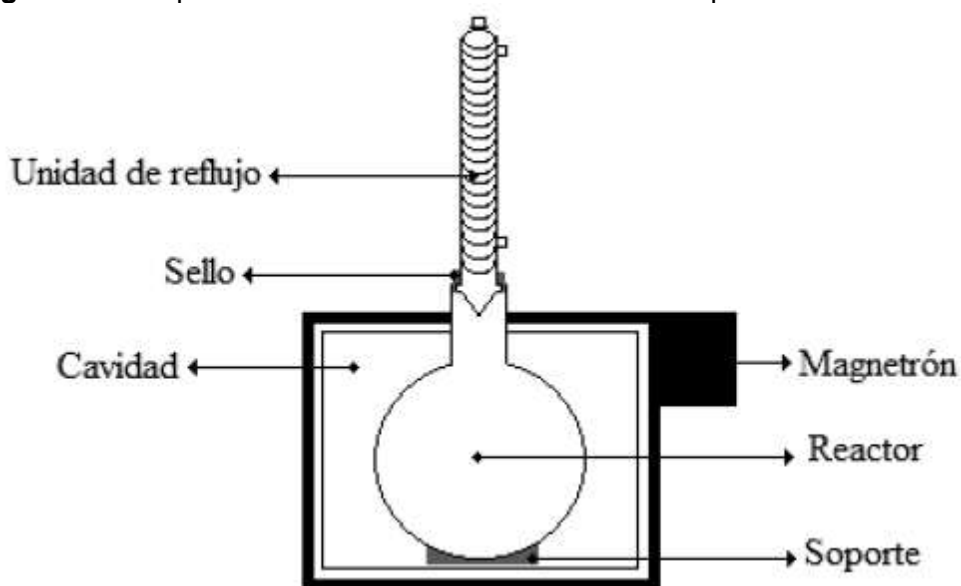
$$j = \sqrt{-1}$$

La parte real ϵ' , es la constante dieléctrica que refleja la capacidad del material para almacenar energía eléctrica cuando está en un campo de EAM; la parte imaginaria ϵ'' , es el factor de pérdida dieléctrica que influye en la conversión de la energía de EAM en energía térmica. La relación de las partes real e imaginaria de la permitividad representa otro parámetro importante, la tangente del ángulo de pérdida ($\tan \delta = \epsilon''/\epsilon'$), que junto con la constante dieléctrica determina la atenuación de la potencia de microondas en una matriz biológica. Cuando se expone a un campo de EAM, la cantidad de energía

convertida en calor en el material biológico es proporcional al valor del factor de pérdida ϵ'' (Routray, W., & Orsat, V., 2012).

Cada sistema de microondas consta normalmente de tres partes básicas: la fuente de microondas (magnetron), la guía de onda y el aplicador (**Figura 1-1**) (Datta & Anantheswaram, 2001);(Routray & Orsat, 2012); (Mosquera, D.M, *et al*,2012).

Figura 1-1: Esquema del sistema de extracción asistida por microondas



Fuente: (Mosquera, D.M, *et al*,2012)

El compartimiento donde el material es expuesto a las microondas se denomina cavidad y se clasifican en dos tipos, monomodo o multimodo. La principal característica de las cavidades monomodo es la creación de un patrón de onda estática, mientras que en el multimodo es evitarlos. Un horno de microondas doméstico es una cavidad multimodo ya que las ondas electromagnéticas forman un patrón de resonancia. Cuando el alimento está presente en el interior del horno, la energía de las ondas electromagnéticas se transfiere a las moléculas de agua, iones, y otros componentes de los alimentos, por lo

que el aumento de temperatura de los alimentos se da de adentro hacia afuera. Las dos cuestiones clave en el calentamiento por microondas de los alimentos son: (a) la magnitud de la energía depositada por las microondas y (b) la uniformidad de la deposición de energía (Datta & Anantheswaram, 2001).

Los factores más importantes que pueden afectar la eficiencia del proceso son la energía de microondas (potencia), el tiempo de irradiación, el tipo de solvente, la relación en peso con la muestra y los ciclos de extracción (Luo *et. al.*, 2010), (Routray & Orsat, 2012):

- El solvente, ya que cuanto mayor sea la constante dieléctrica mayor es la capacidad del disolvente para absorber la energía de microondas, lo que puede conducir a la tasa más rápida de calentamiento del disolvente con respecto al material vegetal.
- El tiempo, ya que en muchos estudios se ha reportado que a mayores tiempos mejores rendimientos de extracción, pero en determinado tiempo este rendimiento incrementa muy poco por lo que se hace necesario optimizar el proceso con respecto a esta variable.
- La potencia, ya que de acuerdo a la intensidad suministrada es la cantidad de energía suministrada a la muestra que es convertida en energía de calor en el material dieléctrico lo que conlleva a aumentar su temperatura. En general, se ha observado que hay un aumento en el rendimiento del compuesto extraído cuando hay un aumento en la potencia de microondas. Sin embargo, la energía de microondas alta puede aumentar la temperatura del producto excesivamente, y disminuir el rendimiento de extracción en el caso de compuestos de interés termolábiles.

La técnica de EAM ha sido ampliamente usada en la extracción de compuestos orgánicos y aceites esenciales de diversos materiales vegetales. La EAM ha sido empleada para la extracción de grasa y aceites. ElKhorri, S. *et. al.*, 2007, realizaron la EAM de grasa de semillas de cacao y polvo de cocoa. El contenido de grasa obtenidos con la técnica asistida por microondas de semillas de cacao ($44,71\% \pm 0,30$) fue similar

en términos de rendimiento a los obtenidos por el método soxhlet ($44,40\% \pm 0,84$). Sin embargo la EAM sobresalió sobre el método convencional ya que solo se requirió 10 minutos de irradiación, comparado con las 4 horas requeridas para la extracción con soxhlet.

Del mismo modo, se encuentra una amplia investigación sobre la obtención de aceites esenciales a partir de una amplia variedad de material vegetal empleando la EAM, donde se destaca la optimización de la técnica mediante el estudio de las variables más importantes del proceso: potencia, tipo de solventes, relación solvente/muestra, tiempos y ciclos (Hemalatha, Mandal, & Mohan, 2007); (Nkhili *et. al.*, 2009); (Liu, *et. al.*, 2012);

Para el caso de la extracción de compuestos con características antioxidantes la técnica de EAM ha venido siendo empleada ampliamente durante los últimos años, ya que se ha encontrado que la degradación de los flavonoides se evitó durante la extracción por microondas (Gao *et al* 2006); (Xiao *et al.* 2008); (Routray & Orsat, 2012);. En la extracción de compuestos flavonoides y ácidos fenólicos de *Cynara scolymus* se evidenció que la técnica EAM aumentó el rendimiento y la calidad de los productos. Así, se concluyó que comparado con otros métodos de extracción, la EAM tiene excelentes ventajas, tales como mayores rendimientos, pureza y eficiencia. En comparación con la extracción térmica clásica, el MAE demostró ser un procedimiento más sencillo y más eficaz para obtener los compuestos activos de plantas medicinales, por lo tanto el método EAM es viable y confiable para extraer principios activos de las plantas medicinales (Alupului, A., Călinescu, I. & Lavri, V., 2012).

La tendencia en las investigaciones de EAM de compuestos antioxidantes, fue hacia la estandarización y optimización del proceso mediante el estudio e impacto de las variables en el rendimiento de extracción y conservación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos. La variedad de solventes empleados para la extracción de estos compuestos son etanol, agua, metanol y mezclas de estos; sin embargo se debe tener en

cuenta la aplicación a futuro que se le quiera dar a este tipo de extractos (Karabegovic, I., *et al*, 2013); (Xiao, Han, & Shi, 2008); (Luo, *et. al.*, 2010); (Nkhili *et. al.*, 2009)

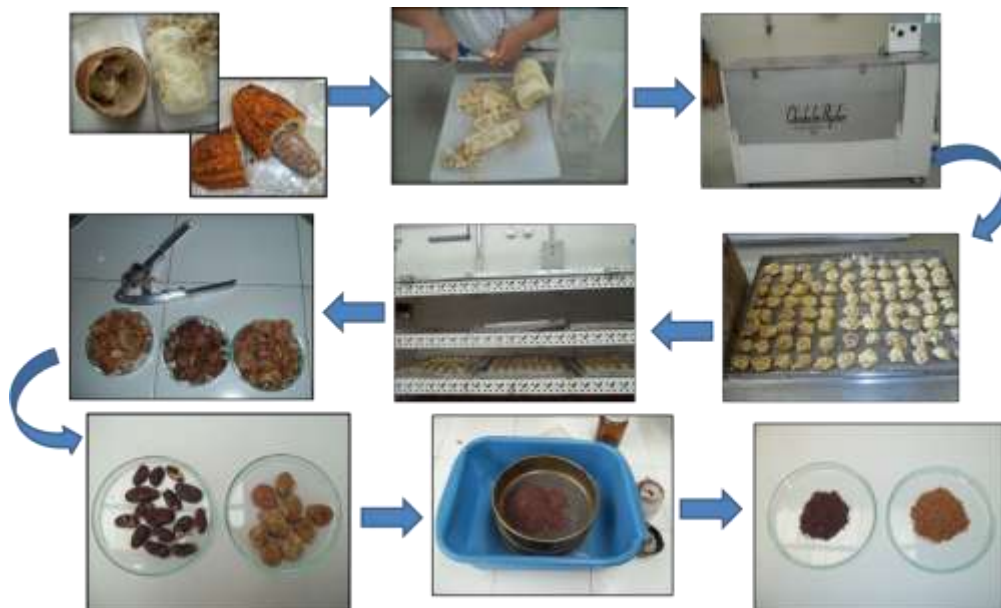
Dado que se ha encontrado que las semillas sin fermentar de cacao son fuentes significativas de polifenoles, y que probablemente, semillas de copoazú, secas y sin fermentar podrían serlo, el presente estudio tuvo como objetivo: Estudiar los parámetros en la técnica de extracción asistida por microondas para obtener extractos con la mayor concentración de compuestos antioxidantes de semillas sin fermentar de cacao y copoazú posible.

1.3 Materiales y métodos

1.3.1 Material vegetal

Los frutos de copoazú y cacao se recolectaron maduros y sanos en la región amazónica de Colombia, departamento de Caquetá, a una latitud de 01°25'06"N y una longitud de 75°52'39"W. Fueron lavados con agua y desinfectados con una solución de hipoclorito 150 ppm, los frutos fueron abiertos y se retiró la pulpa de las semillas manualmente con ayuda de tijeras. Las semillas se secaron a 40°C durante 8 horas, posteriormente se realizó el quiebre y el descascarillado manual para separar el grano de la cascarilla. Las muestras fueron molidas y tamizadas para lograr su homogenización (**Figura 1-2**).

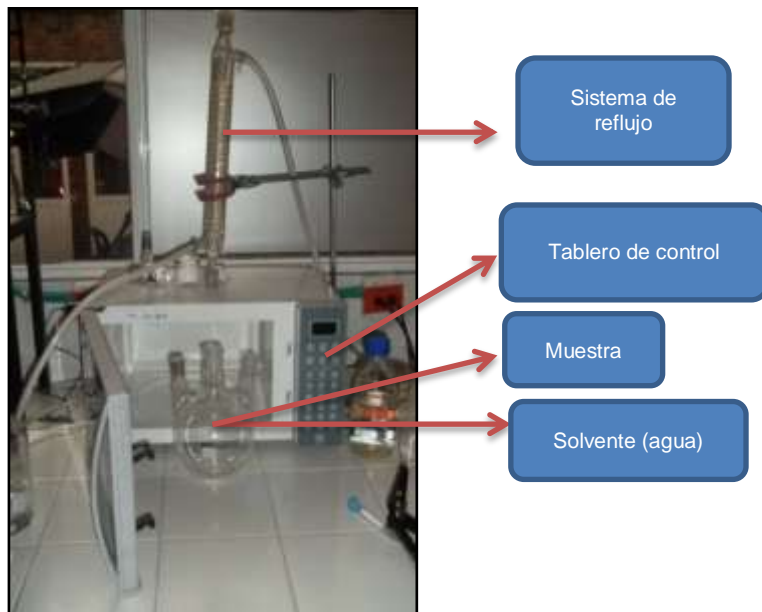
Figura 1-2: Preparación de las muestras para su extracción: quiebre de los frutos, despulpado, secado, descascarillado, molienda y tamizado de las semillas.



1.3.2 Métodos

- **Extracción Asistida por Microondas (EAM):** En este estudio se empleó un horno microondas doméstico marca Whirlpool, el cual fue modificado y diseñado por el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi (**Figura 1-3**). El horno microondas fue perforado en la parte superior para lograr conectar el sistema de reflujo con el reactor de 2000 mL. Para reducir las posibles fugas del equipo se emplearon deflectores, quienes actuaban reflejando las radiaciones de microondas de nuevo al interior del reactor. Se emplearon las semillas de copoazú sin fermentar y secas para la estandarización del proceso y como solvente de extracción se empleó agua, debido a que el producto obtenido es para aplicación alimenticia. Al obtener los mejores parámetros se procedió a realizar la extracción de compuestos antioxidantes en semillas de cacao secas y sin fermentar para comparar con el extracto obtenido de las semillas de copoazú.

Figura 1-3: Horno microondas doméstico modificado empleado para la extracción asistida por microondas



- **Comparación de las técnicas EAM y EAU:** Se comparó la obtención de compuestos antioxidantes por las técnicas de EAM con la de EAU y se evaluó la reproducibilidad de cada uno de los métodos. La técnica de EAU es un método estandarizado para la extracción de polifenoles (Wollgast & Anklam, 2000). Para igualar las condiciones del proceso se operó con las condiciones óptimas encontradas en la EAM. La EAU se llevó a cabo en un baño de ultrasonido marca Elma. La variable respuesta para evaluar el rendimiento de las extracciones fue el porcentaje de inhibición por el método DPPH.

La EAU utiliza ondas de sonido de baja frecuencia para separar el soluto de interés de la matriz vegetal. Las ondas sonoras se propagan en el disolvente y generan la alternancia de la presión en altos y bajos, lo que produce burbujas de cavitación. La energía generada a partir de colapso de las burbujas de cavitación proporciona una mayor penetración del disolvente en el material celular y mejora la transferencia de masa hacia y desde las interfaces (Barrera, M.F., *et. al.*, 2013).

Las variables que se deben analizar para mejorar los rendimientos de esta técnica son temperatura de extracción, solvente, volumen del solvente y el tiempo de extracción. Se ha encontrado que la EAU es más eficiente que los métodos de extracción tradicionales, como el Soxhlet, y más económica y sencilla que los métodos de extracción no tradicionales como la extracción por fluidos supercríticos (Azuola & Vargas, 2007). Para evaluar la reproducibilidad de cada una de las técnicas, se realizaron durante 6 días el mismo tratamiento y en cada día se hicieron las medidas por triplicado, tanto para EAM como para EAU. Se planteó una tabla de análisis de varianza para el arreglo factorial en consideración.

- **Cuantificación de polifenoles totales:** El ensayo se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Wollgast & Anklam (2000), con algunas modificaciones. Se tomaron 50 μ l de la muestra a ensayar y se mezclaron con 1.5 ml del reactivo de Folin Ciocalteu diluido 10 veces, se agitó y se dejó en reposo por 5 minutos; posteriormente se adicionaron 1.5 ml de carbonato de sodio al 7.5% y se agitó nuevamente. La mezcla de reacción se guardó en oscuridad durante 60 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia). A continuación se midió la absorbancia de la solución a 765 nm en el espectrofotómetro. Como blanco se empleó 50 μ l de agua destilada y el resto de reactivos mencionados anteriormente. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mgEAG/g de muestra) utilizando una curva estándar de ácido gálico (0.05-1.5 mg/ml).
- **Determinación de actividad antioxidante:** La actividad de cada uno de los extractos se cuantificó de acuerdo a la habilidad de atrapamiento de los radicales utilizados, usando los métodos DPPH y ABTS.

El radical DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos estables del nitrógeno; este radical está relacionado con las reacciones de peroxidación lipídica. Este ensayo se basa en la medida de la habilidad reductora de los antioxidantes sobre

el radical DPPH. Para el método, se siguió el método descrito por Lai *et. al.*, (2001) con algunas modificaciones. Se preparó una solución DPPH 100 μM en etanol. Se tomaron 150 μl de muestra y se mezclaron con 2850 μl de la solución DPPH, se agitó y se almacenó en la oscuridad por 20 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia). Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 515 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución DPPH en el espectrofotómetro (Beckman® Coulter DU-640). Los resultados son expresados como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{In} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{mtra}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

Donde,

A_{DPPH} : Absorbancia de la solución DPPH 100 μM

A_{mtra} : Absorbancia de la muestra más la solución de DPPH transcurrido los 20 minutos

Para el método de ABTS, se siguió el procedimiento descrito por Won Lee (2003). Una solución 7 mM de ABTS y otra de 2.45 mM de persulfato de potasio fueron mezcladas en igual proporciones y almacenadas en la oscuridad por 14 horas para obtener el radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$. Cada vez que se iba a realizar una cuantificación se tomaba una cantidad de esta muestra stock y se diluía con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 750 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución en el espectrofotómetro (Beckman® Coulter DU-640). Para el análisis se tomaron 20 μl de la muestra, se mezclaron con 980 μl de la solución de $\text{ABTS}^{+\cdot}$, se dejó en reposo y oscuridad por 5 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia); transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 750 nm. Los resultados son expresados como μM de equivalentes Trolox (TE)/g de muestra y como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\%In = \frac{A_{ABTS} - A_{mtra}}{A_{ABTS}} \times 100$$

Donde,

A_{ABTS} : Absorbancia de la solución ABTS diluido

A_{mtra} : Absorbancia de la muestra más la solución de ABTS transcurrido los 5 minutos

1.3.3 Diseño Experimental y Análisis estadístico

- **Experimentos Preliminares:** Inicialmente se realizaron los experimentos para evaluar el valor óptimo de las variables en estudio en un nivel determinado que fueron: relación solvente/muestra (5-70 ml/g), potencia (220-770 W), tiempo (3-18 min) y ciclos de extracción (1-6) (**Tabla 1-1**). Así que el diseño experimental para cada una de estas condiciones correspondió al completamente al azar con 6 tratamientos con 3 repeticiones. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza para saber si habían diferencias significativas, posteriormente se aplicó una prueba de rango múltiple de DMS al 5% para conocer las medias de los niveles que eran significativamente diferentes. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

Tabla 1-1: Variables y niveles del estudio preliminar

Relación solvente/muestra (ml/g)	Potencia (W)	Tiempo (min)	Ciclos
5	220	3	1
10	330	6	2
25	440	9	3
40	550	12	4
55	660	15	5
70	770	18	6

- **Diseño Experimento Arreglo Ortogonal de Taguchi:** Posteriormente, con los valores óptimos encontrados en el estudio individual, se establecieron cuatro niveles para cada uno de las variables. Mediante el diseño de un arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$, se estudió el efecto de la interacción de las 4 variables a 4 niveles cada una, con la ejecución de 16 tratamientos. En la **Tabla 1-2** se presenta el arreglo ortogonal para evaluar 4 variables a 4 niveles cada uno, el cual fue utilizado para la evaluación de la interacción de las variables en la EAM de compuestos antioxidantes, en donde P corresponde a las variables del proceso y los números a los niveles establecidos. La variable respuesta del diseño fue el contenido de polifenoles totales por el método Folin Ciocalteu expresando los resultados como mg EAG/ g de muestra (Luo, *et. al.*, 2010).

Tabla 1-2. Tabla arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$, donde p son las variables

Experimento	P1	P2	P3	P4
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	1	4	4	4
5	2	1	2	4
6	2	2	1	3
7	2	3	4	2
8	2	4	3	1
9	3	1	3	2
10	3	2	4	1
11	3	3	1	4
12	3	4	2	3
13	4	1	4	3
14	4	2	3	4
15	4	3	2	1
16	4	4	1	2

El diseño experimental propuesto por Taguchi implica el uso de matrices ortogonales para organizar los parámetros que afectan al proceso y los niveles en los que se deben variar. La parte fundamental de la metodología ideada por el matemático japonés G.

Taguchi es la optimización de productos y procesos, a fin de asegurar productos robustos, de alta calidad y bajo costo.

La metodología Taguchi consta de tres etapas:

- a. Diseño del sistema: Identificar qué factores afectan la característica de calidad en cuanto a su magnitud y en cuanto a su variabilidad.
- b. Diseño de parámetros: Definir los niveles “óptimos” en que debe fijarse cada parámetro o factor, a fin de optimizar la operación del producto y hacerlo lo más robusto posible.
- c. Diseño de tolerancias: Identificar factores que no afectan substancialmente la característica de calidad a fin de liberar el control de estos factores y ahorrar costos de pruebas.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza para saber si habían diferencias significativas, posteriormente se aplicó una prueba de rango múltiple de DMS al 5% para conocer las medias de los niveles que son significativamente diferentes. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

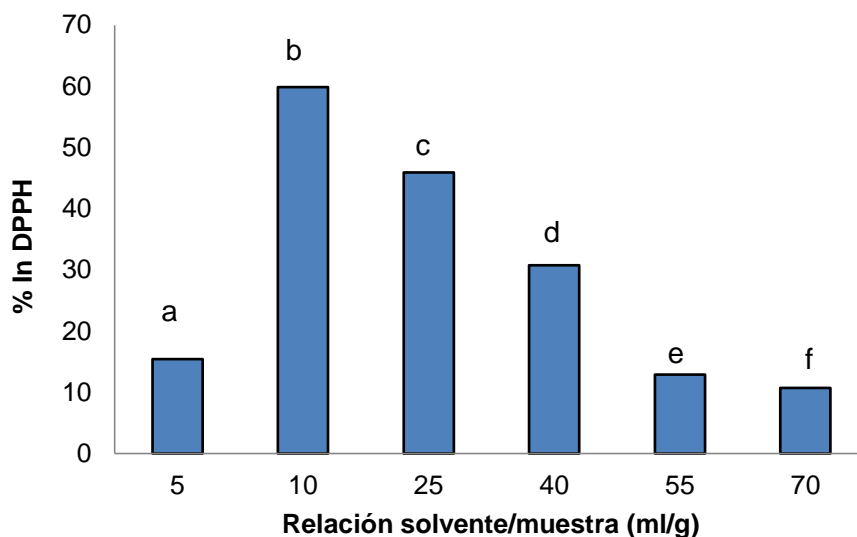
1.4 Resultados y discusión

1.4.1 Efecto de la relación solvente/muestra

En la mayoría de técnicas de extracción un mayor volumen de disolvente aumentará el rendimiento del proceso, pero en la EAM un mayor volumen de disolvente puede disminuirlo, por lo que se hace necesario estandarizar esta variable para encontrar el punto óptimo (Xiao, Han, & Shi, 2008). En la **Figura 1-4** se presenta la variación de la relación de solvente/muestra, donde se evidencian diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 2752.51$; $p < 0,05$). Para el cálculo del porcentaje de inhibición del radical DPPH, se tuvo en cuenta el factor de dilución en cada caso. El mayor porcentaje de inhibición del DPPH obtenido fue de 59.85% a una relación solvente/muestra de 10ml de

agua/g de muestra, considerado este el valor óptimo del proceso. A partir de esta relación el porcentaje de inhibición descendió hasta valores de 10.74% para la relación de 70 ml de solvente/ g de muestra.

Figura 1-4: Efecto de la relación solvente/muestra en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: 400 W, 6 min y 1 ciclo



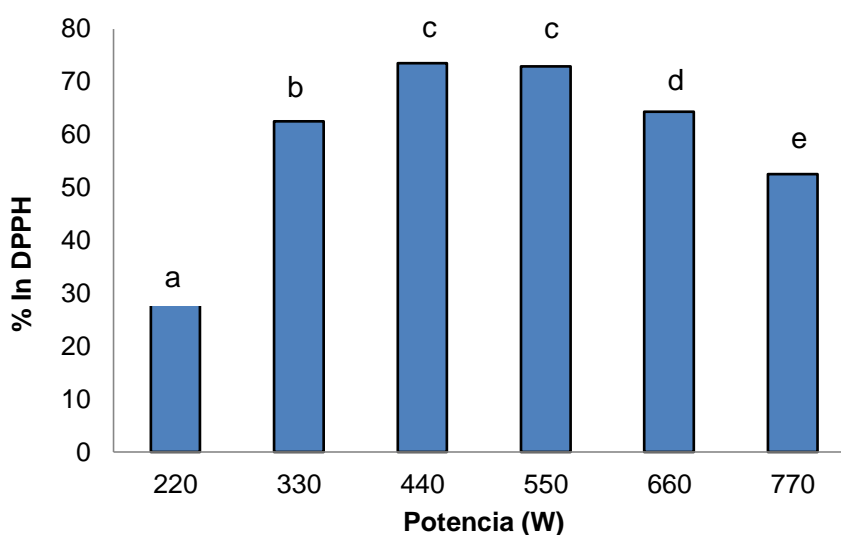
Los valores corresponden al promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

1.4.2 Efecto de la potencia de microondas

La potencia máxima del microondas empleado era de 1100 W y el equipo permitía hacer ajuste en porcentaje a este valor. Se estudió un intervalo de potencias en el equipo entre 20% y 70%, es decir 220 a 770 W, manteniendo constante las demás variables (relación de solvente: muestra 1:25, tiempo 6 min y 1 ciclo de extracción). Los tratamientos evaluados presentaron diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$), exceptuando el intervalo entre 440 y 550 W ($p > 0,05$), en donde se observó que la curva exponencial se maximiza, para luego decrecer, razón por la cual se seleccionó la potencia 440 W como el valor óptimo del proceso (**Figura 1-5**). La intensidad de potencia empleada es la

cantidad de energía suministrada al sistema, esta energía es disipada como calor y esto lleva al aumento de la temperatura (Routray & Orsat, 2012); es así que, al aumentar la potencia en la extracción se presentará una disminución de la actividad antioxidante, ya que altas temperaturas de tratamiento reducen la cantidad de polifenoles disponibles en las semillas, es decir los compuestos antioxidantes poseen características termolábiles como lo reportan (Wollgast & Anklam, 2000)) para semillas de cacao.

Figura 1-5: Efecto de la potencia de microondas en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 6 min y 1 ciclo



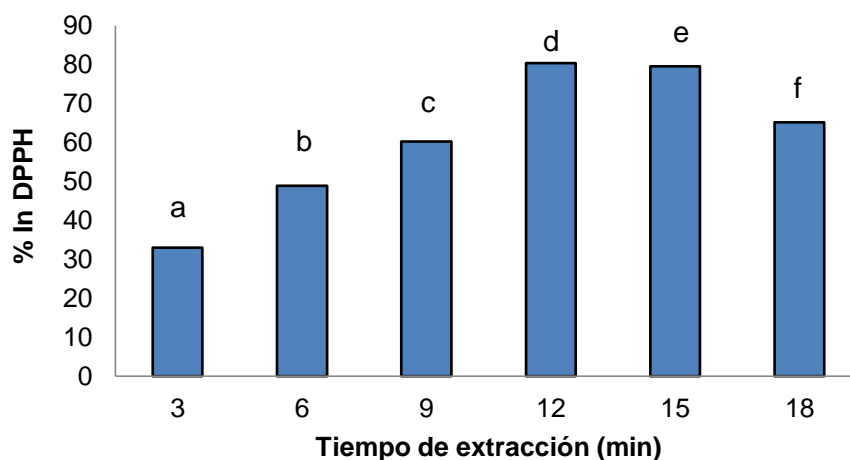
Los valores corresponden al promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

1.4.3 Efecto del tiempo de extracción

Se ha reportado que a mayores tiempos de extracción mejoran los rendimientos de la EAM, pero a determinados tiempos el rendimiento incrementa muy poco por lo que se hace necesario estudiar el proceso con respecto a esta variable, para hacerlo

económicamente viable (Routray & Orsat, 2012). En la **Figura 1-6** se presenta el efecto del tiempo en la extracción de compuestos antioxidante por EAM, encontrando diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 2752.51$; $p<0.05$). El porcentaje de inhibición del DPPH aumentó a medida que los tiempos de extracción fueron más prolongados, lo que quiere decir que hasta el tiempo de 12 minutos se maximiza la actividad antioxidante; a partir de este valor se presentó una disminución del porcentaje de inhibición, en los extractos obtenidos. Posiblemente al prolongar la extracción más de 12 minutos los compuestos antioxidantes comienzan a degradarse debido a su característica termolábil, lo que se observó en la disminución a partir de ese valor.

Figura 1-6: Efecto del tiempo en la extracción de compuestos antioxidantes por EAM. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 400 W y 1 ciclo



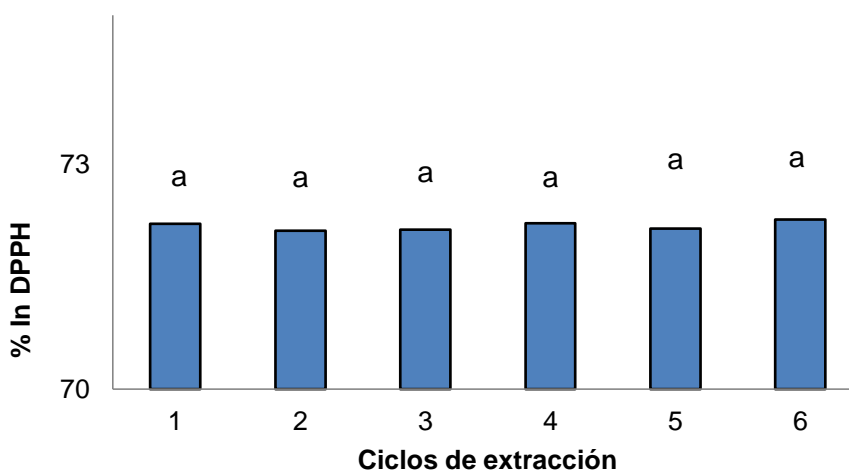
Los valores corresponden al promedio ($n=3$). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

1.4.4 Efecto de los ciclos de extracción

El efecto de los ciclos de extracción sobre el rendimiento de EAM de compuestos antioxidantes se presenta en la **Figura 1-7**. Se encontró que el número de ciclos de extracción no afectó de manera significativa el porcentaje de inhibición (%DPPH) ($F=1.65$; $p>0.05$). Sin embargo, en la evaluación de la interacción con las demás

variables y las mejores condiciones de la EAM se decidió estudiar los niveles de 1 a 4 ciclos por efectos de costos de la operación.

Figura 1-7: Efecto de los ciclos de extracción por EAM de compuestos antioxidantes. Condiciones de extracción: relación solvente muestra 25 ml/g, 400 W y 6 min



Los valores corresponden al promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

De acuerdo a lo anterior, los valores óptimos que se identificaron para cada una de las variables estudiadas en la EAM de compuestos antioxidantes en semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao fueron:

- Relación solvente muestra: 10 ml/g
- Potencia: 440 W
- Tiempo: 12 min
- Ciclos de extracción: Mediante los análisis preliminares no se presentó un valor óptimo, ya que no se presentaron diferencias significativas entre los valores evaluados. Por costos energéticos del proceso se escogió el menor número de ciclos de extracción.

A partir de estos valores se determinaron los cuatro niveles para llevar a cabo el estudio de la interacción de las variables de la técnica EAM mediante el diseño ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$, manteniendo estos como los niveles centrales (**Tabla 1-3**). Para el caso de la variable relación solvente/muestra se extrapolaron los datos a partir del valor óptimo (10ml/g), ya que en este caso los valores evaluados presentaron una alta disminución en comparación al valor óptimo.

1.4.5 Evaluación de la interacción de las variables de la EAM para la obtención de compuestos antioxidantes – Diseño ortogonal de Taguchi

El uso de la EAM para la obtención de compuestos antioxidantes empleando un microondas doméstico modificado requiere la estandarización de la técnica a través del estudio de las variables que influyen directamente en el proceso. En este caso las variables son: relación solvente/muestra, la potencia, el tiempo y los ciclos de extracción.

Con el fin de explicar la interacción de las variables en el proceso de EAM de compuestos antioxidantes, se empleó un diseño ortogonal de Taguchi el cual permitió determinar los valores óptimos de interacción (**Tabla 1-3**). Como variable respuesta se empleó el contenido de polifenoles totales ya que aporta datos más precisos y contundentes sobre las especies químicas presentes en los extractos.

Tabla 1-3: Valores de estudio para el diseño ortogonal de Taguchi

RELACIÓN SOLVENTE MUESTRA (ml/g)	POTENCIA (W)	TIEMPO (min)	CICLOS DE EXTRACCIÓN
7	330	6	1
10	440	9	2
15	550	12	3
25	660	15	4

En la **Tabla 1-4** se presentan los resultados de los análisis del diseño. El análisis estadístico permitió identificar diferencias estadísticamente significativas entre las medias de polifenoles totales de los experimentos. La DMS mostró entre cuales tratamientos existieron diferencias.

Los tratamientos N°9 y N°13 permitieron la mayor extracción de los compuestos polifenólicos, 8.70 mg EAG/g y 8.19 mg EAG/g, respectivamente. El No. 9 corresponde a los parámetros 15 ml/g, 330 W, 12 min y 4 ciclos, mientras que el No. 13 corresponde a 25 ml/g, 330 W, 15 min y 2 ciclos, los cuales coinciden únicamente en la potencia utilizada.

Tabla 1-4: Resultados del diseño de arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$

No.	RELACIÓN SOLVENTE MUESTRA (ml/g)	POTENCIA (W)	TIEMPO (min)	CICLOS DE EXTRACCIÓN	POLIFENOLES mg EAG/g
1	7	330	6	1	1.98 a
2	7	440	9	2	4.03 c
3	7	550	12	3	6.14 f
4	7	660	15	4	7.17 g
5	10	330	9	3	5.67 e
6	10	440	6	4	5.27 e
7	10	550	15	1	2.03 a
8	10	660	12	2	2.95 b
9	15	330	12	4	8.70 h
10	15	440	15	3	6.97 g
11	15	550	6	2	3.65 c
12	15	660	9	1	1.81 a
13	25	330	15	2	8.19 h
14	25	440	12	1	5.82 ef
15	25	550	9	4	5.08 d
16	25	660	6	3	6.98 g

Los valores son expresados como el promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS

Dado que llevar a cabo el doble de ciclos de extracción, es decir 4 en vez de 2, implica un costo de operación mayor aún no cuantificado, se decidió que las condiciones para la obtención de polifenoles a partir de semillas no fermentadas de copoazú mediante EAM fueron: relación solvente/muestra: 25 ml/g, potencia: 330 W, tiempo: 15 min y 2 ciclos de extracción.

Existen antecedentes de extracción de este tipo de compuestos en otras matrices vegetales y algunos resultados alcanzados por Luo *et al*, 2010, en la extracción de polifenoles de *Enteromorpha prolifera* están acordes a los niveles evaluados en este estudio. Es evidente que los niveles de polifenoles extraídos en cada matriz, obedecen a la naturaleza de cada matriz.

Para evaluar el impacto de cada una de las variables en la EAM de compuestos antioxidantes se realizó un análisis de regresión lineal múltiple del diseño de Taguchi. De acuerdo con este análisis, solo la potencia no tuvo un efecto significativo en la EAM ($p>0.05$), mientras que los demás factores contribuyen de manera significativa a la extracción, como se ve en el modelo a continuación.

$$\text{Polifenoles (mgEAG/g muestra)} = -3.03301 \text{ (cte)} + 1.26682 \times (\text{ciclos}) + 0.16170 \times (\text{relación solvente muestra}) + 0.22045 \times (\text{tiempo})$$

El impacto de las variables según su significancia en orden decreciente fue: ciclos ($p=0.0111$), tiempo ($p=0.0256$) y relación solvente/muestra ($p=0.0543$). De esta manera, el ciclo de extracción fue la variable más importante en el rendimiento de la EAM de compuestos antioxidantes, mientras que la potencia no tuvo ningún efecto significativo.

Aunque la evaluación independiente de los ciclos de extracción no mostró diferencias significativas en los niveles evaluados, en el diseño ortogonal de Taguchi al combinar la variable con las demás y al aplicar el análisis de regresión lineal múltiple fue esta la

variable que tuvo la mayor significancia en la EAM de los compuestos antioxidantes, lo que conlleva a corroborar la importancia de los estudios mediante la combinación de todas las variables de proceso.

1.4.6 Comparación de los extractos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú obtenidos por EAM

Con la mejor combinación de las variables del proceso de EAM (relación solvente/muestra: 25 ml/g, potencia: 330 W, tiempo: 15 min y 2 ciclos de extracción), se realizó la extracción de los compuestos antioxidantes de las semillas secas y sin fermentar del cacao. Los extractos de compuestos antioxidantes de cacao y copoazú fueron caracterizados y comparados de acuerdo a su contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidantes por los métodos DPPH y ABTS (**Tabla 1-5**).

Tabla 1-5. Caracterización de los extractos de compuestos antioxidantes de cacao y copoazú

DETERMINACIÓN	CACAO	COPOAZÚ
Polifenoles totales (mg EAG/g mtra)	15.36 a	8.19 b
Actividad antioxidante DPPH (%)	71.2 c	33.4 d
Actividad antioxidante ABTS (%)	81.4 e	41.4 f

Los valores son expresados como el promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

Las semillas de cacao, secas y sin fermentar presentaron un mayor contenido de compuestos polifenólicos y actividad antioxidante comparado con las semillas de copoazú. Martini, M. H., Lenci, C. L., Figueira, A. & Queiroz Tavares, D. (2008) estudiaron el contenido de polifenoles totales de las semillas de copoazú y del cacao,

encontrando también que el contenido en las semillas de cacao es casi el doble que el encontrado en las de copoazú.

En la extracción de compuestos antioxidantes por EAM se han evaluado variables como la potencia, el tiempo, solventes de extracción y temperatura; (Martínez, 2010) extrajo polifenoles de la cáscara de *Punica granatum* L., encontrando que el mayor rendimiento en la extracción se obtuvo con el empleo de agua y etanol 60% en 30 minutos, encontrando que para este tipo de compuesto el tiempo es un factor que influye directamente en su liberación. El etanol ha demostrado ser un solvente eficiente en la extracción de compuestos antioxidantes, sin embargo en este estudio empleamos agua que también es un solvente de la alta solubilidad de los analitos de interés, el propósito alimenticio del producto a obtener y los procesos posteriores a los que se sometería el extracto como lo fue la microencapsulación.

Otros alimentos bien conocidos por su alto contenido de compuestos antioxidantes como la uva presentan valores de 24.41 mg EAG/g muestra, determinados por el método de Folin Ciocalteu (Huda-Faujan, N., et. al., 2009). Comparado con los resultados obtenidos en este trabajo se puede considerar a las semillas de cacao y copoazú como fuentes de compuestos antioxidantes.

1.4.7 Comparación de la EAM y EAU en la obtención de compuestos antioxidantes

Siendo la EAU la técnica más empleada para la extracción de compuestos antioxidantes, se comparó la eficiencia de extracción con EAM. Con el fin de tener parámetros de comparación se emplearon las condiciones de las variables seleccionadas para la EAM, es decir 125 ml agua/5 g de muestra (25ml/g), potencia 330 W (solo para el caso de EAM), tiempo de extracción de 15 minutos y 2 ciclos de extracción.

El análisis de varianza (**Tabla 1-6**) permitió establecer que hubo diferencias significativas entre las dos técnicas de extracción ($p < 0.05$) (EAM: 79.45 % y EAU: 66.40 %). Estos resultados indicaron que la EAM es más eficiente que la EAU en la extracción de compuestos antioxidantes.

Tabla 1-6: Análisis de varianza de la EAU y EAM para la obtención de compuestos antioxidantes

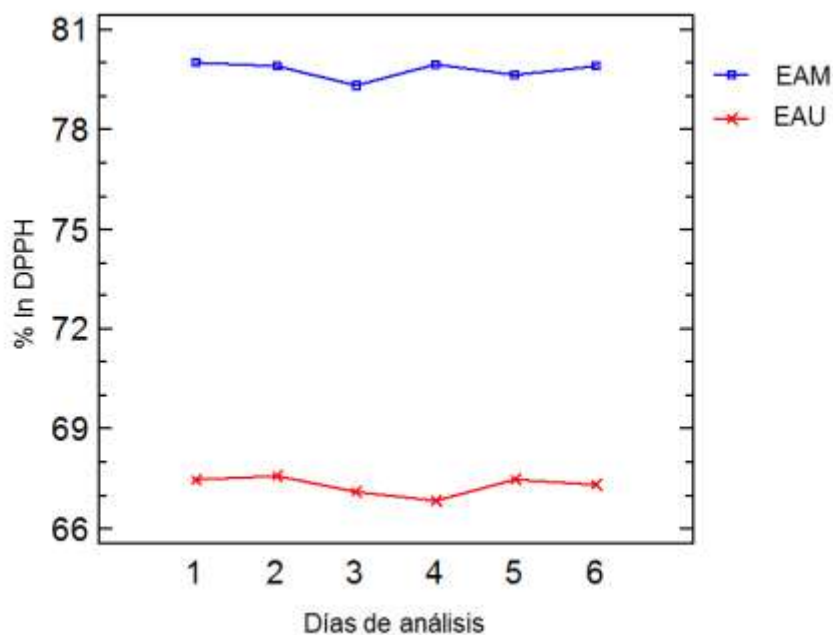
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	P
Días	1.26986	5	0.253972	8.14	0.0001
Técnicas de extracción	1406.38	1	1406.38	45052.06	0.0000
Días X Técnica	0.827014	5	0.165403	5.30	0.0020
RESIDUAL	0.7492	24	0.0312167		
TOTAL	1409.22	35			

Del mismo modo, se encontró que hubo diferencias significativas entre la interacción días de experimentación por método ($p < 0.05$); en la **Figura 1-8** se expresa el resultado mencionado, como también la reproducibilidad de las técnicas, se observó que la variación entre los días en cada técnica es menor comparada con la variabilidad entre las técnicas, lo que implica una alta reproducibilidad de cada una de ellas.

Los resultados encontrados coinciden con los de otros autores, los cuales han reportado que al emplear la EAM se obtienen mayores rendimientos de extracción para diferentes analitos de interés sobre otras técnicas comúnmente utilizadas como la EAU, fluido supercrítico, soxhlet, entre otros (Proestos & Komaitis, 2008), (Gallo, *et al.*, 2010), (Li, *et al.*, 2012), (Elez Garofulić, *et al.*, 2013); Bagherian, H., *et al.*, 2011). Gallo, *et al.*, (2010), realizaron un estudio de extracción de compuestos fenólicos por EAM en *Cinnamomum zeylanicum*, *Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum* y *Crocus sativus*, y compararon el rendimiento de la extracción con la técnica de ultrasonido (EAU). En este estudio se evidenció que la EAM es cuatro veces más eficiente que la EAU, y que el contenido de

fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu para las especies analizadas en orden creciente fue *Crocus sativus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cuminum cyminum* y *Coriandrum sativum*.

Figura 1-8: Comparación de las técnicas EAM y EAU en la extracción de compuestos antioxidantes – Gráfica de interacción



1.5 Conclusiones

Las variables que influyen en la EAM de compuestos antioxidantes de semillas sin fermentar de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y cacao (*Theobroma cacao*) fueron en orden decreciente: ciclos > tiempo > relación, mientras que la potencia no tuvo un efecto significativo. Las condiciones para la extracción fueron relación solvente/muestra 25 ml/g, potencia 330 W, tiempo 15 minutos y 2 ciclos de extracción obteniendo el mayor rendimiento de extracción 8.19 mg EAG/g para las semillas de copoazú secas y sin fermentar.

Empleando las mejores condiciones del proceso de EAM se encontró que las semillas secas y sin fermentar de cacao tienen un contenido de polifenoles totales (15.3652 mg EAG/g) y actividad antioxidantes (DPPH: 71.2% ABTS 81.4%) del doble que las de copoazú (8.1988 mg EAG/g, DPPH: 33.4% y ABTS: 41.4%).

Al comparar las técnicas de extracción EAM y EAU para la obtención de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao, se encontró que la EAM permitió una mayor extracción por lo que fue más efectiva, por lo que se puede considerar como una alternativa viable tecnológicamente para la extracción de compuestos antioxidantes.

Bibliografía

Alupului, A., Călinescu, I. & Lavri, V. (2012). Microwave extraction of active principles from medicinal plants. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, Vol. 74, Iss. 2, 120-152.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, 161-172.

Azuola, R., & Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EAU). *Tecnología en marcha*, 20-4.

Bagherian, H., Ashtiani, H., Fouladitajar, A. & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing* (50), 1237–1243.

Barrera, M.F., Comini, L.R., Martini, R.E., Núñez, S.C., Bottini, S. & Cabrera, J. L. (2013). Comparisons between conventional, ultrasound-assisted and microwave-assisted methods for extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae). *Ultrasonics Sonochemistry* xxx (2013) xxx–xxx.

Datta, A., & Anantheswaram, R. (2001). *Handbook of Microwave Technology for Food Application*.

Deng, X., Gao, K, Huang, X. & Liu, J. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction procedure of capsaicinoids from Chili peppers using orthogonal array experimental design. *African Journal of Biotechnology* 11(67), 13153-13161.

Dreosti, I. E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine *Nutrition* (16), 692-694). United States.

Escobar, C., & Martínez, A. (1996). El cultivo de copoazu (*Theobroma grandiflorum*). En el piedemonte amazónico Colombiana. *CORPOICA*.

EIKhori, A., Paré, J., Bélanger, J & Pérez, E. (2007). The microwave-assisted process (MAPTM1): Extraction and determination of fat from cocoa powder and cocoa nibs. *Journal of Food Engineering* 79 1110–1114.

Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2010). Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Four Different Spices. *Molecules*, 15(9), 6365-6374.

Genovese, M. I., & Lannes, S. C. d. S. (2009). Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and "chocolates" from cocoa and cupuassu. *Food Science and Technology (Campinas)*, 29, 810-814.

Halliwell, B. (1990). How to Characterize a Biological Antioxidant. *Free Radical Research*, 9(1), 1-32.

Hemalatha, Mandal, & Mohan. (2007). Microwave assisted extraction - An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Review*, 1 (1), 7-18.

Karabegović, I., Stojičević, S., Veličković, D., Nikolić, N. & Lazić, M. (2013). Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves Original Research Article. *Separation and Purification Technology*, 120 (13), 429-436.

Lai, L. S., S.T. Chou, and W.W. Chao. 2001. Studies on the antioxidant activities of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). *J. Agric. Food Chem.*, 49: 963-968.

Lannes, S., Medeiros, M., & Gioielli, L. (2003). Physical interactions between cupuassu and cocoa fats. *Grasas y aceites*, 54: 56-59.

Liu, Y., Yang, L., Zu, Y., Zhao, C., Zhang, L., Zhan, Y., Zhan, Z. & Wang, W. (2012). Development of an ionic liquid-based microwave-assisted method for simultaneous extraction and distillation for determination of proanthocyanidins and essential oil in Cortex cinnamomi. *Food Chemistry* Volume 135, Issue 4, (15), 2514–2521.

Luo, H., Wang, B., Yu, C., & Xu, Y. (2010). Optimization of Microwave-assisted Extraction of Polyphenols from *Enteromorpha prolifera* by Orthogonal Test. *Chinese Herbal Medicines*, 4:33-37.

Martínez, A. C., Juan Carlos. Belares, Ruth. (2010). Extracción de polifenoles asistida por microondas a partir de *Punica granatum* L. . *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 2(4).

Martini, M. H., Lenci, C. L., Figueira, A. & Queiroz Tavares, D. (2008) Martínez, A. C., Juan Carlos. Belares, Ruth. (2010). Extracción de polifenoles asistida por microondas a partir de *Punica granatum* L. . *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 2(4).

Melgarejo, L.M., Hernández, M.S., Barrera J. A. y Carrillo, M. 2006. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Universidad Nacional de Colombia. Colciencias. Oferta y potencialidades de un banco de germoplasma del género *Theobroma* en el enriquecimiento de los sistemas productivos de la región amazónica.

Mosquera, D.M., Díaz, R. O., Cardona, J. E., Gutiérrez, R. H. & Hernández M. S. (2012). Obtención de aceites vegetales provenientes de especies amazónicas mediante la técnica de extracción asistida por microondas (EAM). *Vitae* 19 (1), S57-S59.

Nkhili, E. V. Tomao, H. El Hajji, E-S El Boustani, F. Chemat, and O. Dangles. (2009). Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols. *Phytochem*, 20, 408-415.

Norma Técnica Colombiana NTC 1252 Cacao en grano. 2003-05-28. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC.

Praticò, D., & Delanty, N. (2000). Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on alzheimer's disease. *The American Journal of Medicine*, 109(7), 577-585.

Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409-424.

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., & Zubik, L. (1998). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 46(9), 3630-3634.

Wannberg, J., Ersmark, K., & Larhed, M. (2006). Microwave-Accelerated Synthesis of Protease Inhibitors. In M. Larhed & K. Olofsson (Eds.), *Microwave Methods in Organic Synthesis*, 266, 167-198. Springer Berlin Heidelberg.

Won Lee, Young Jun Kim, Hyong Joo Lee, Chang Yong Lee. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7292-7295.

1. Evaluación de las variables de la técnica EAM, para la obtención de compuestos antioxidantes en semillas secas y sin fermentar de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y cacao (*Theobroma cacao*)
-

Xiao, X., Han, L., Shi, B. (2008). Microwave-assisted extraction of flavonoids from *Radix Astragal*. *Separation and Purification Technology*, 2008, 62, 614-618.

Zumbé, A. (1998). Polyphenols in cocoa: are there health benefits? *Nutrition Bulletin*, 23(1),94-102.

2. Microencapsulación de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y cacao (*Theobroma cacao*) mediante secado por atomización (“*spray drying*”)

2.1 Resumen/Abstract

Resumen: El conocimiento de las especies vegetales Amazónicas ayuda a su inclusión dentro del concepto de economía verde y el biocomercio justo y equitativo para la región, es así que dentro de la caracterización de estas especies se ha encontrado que contienen compuestos con características bioactivas. La mayoría de estos compuestos al ser extraídos son altamente sensibles a la temperatura, humedad y la luz. Una forma de protegerlos es empleando la microencapsulación y una de las técnicas más empleadas para tal fin es el secado por atomización “*Spray drying*”. Esta técnica permite solucionar problemas reduciendo volatilidad, higroscopicidad y reactividad, e incrementar la estabilidad bajo condiciones ambientales adversas. En este trabajo se utilizó la técnica de secado por atomización para proteger los polifenoles extraídos por EAM de semillas secas y sin fermentar de *Theobroma cacao* y *Theobroma grandiflorum* (copoazú) dos especies frutales de origen Amazónico. Se estudiaron las variables temperatura de entrada al sistema (150°C y 180°C) y el flujo de alimentación (5, 12 y 15 ml/min). Se evaluó la estabilidad de los compuestos microencapsulados en el tiempo a través del contenido de polifenoles totales y la medición de la actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, observándose una estabilidad y protección de las propiedades antioxidantes. De igual manera se obtuvieron imágenes de los microencapsulados

mediante la técnica de Microscopía electrónica de barrido para evidenciar la formación de las microcápsulas.

Palabras claves: maltodextrina, polifenoles totales, Amazonas

Abstract: Knowledge of Amazonian plant species helps its inclusion within the concept of green economy and bio fair and equitable for the region, so that in the characterization of these species have been found to contain compounds with bioactive properties. Most of these compounds to be removed are highly sensitive to temperature, humidity and light. One way to protect them is using microencapsulation and one of the most widely used techniques for this purpose is spray drying. This technique allows to solve problems by reducing volatility, hygroscopicity and reactivity, and increase stability under adverse environmental conditions. Spray drying technique was used to protect the polyphenols extracted by EAM from dry unfermented seeds of *Theobroma cacao* and *Theobroma grandiflorum* (copoazu) two species of origin Amazonian fruit. Variables studied were system inlet temperature (150 ° C and 180 ° C) and supply flow (5, 12 and 15 ml / min). The stability of microencapsulated compounds through the total polyphenol content and measuring the antioxidant activity and ABTS DPPH methods, observing a protection of stability and antioxidant properties. Images were obtained using the technique of microencapsulated scanning electron microscopy to demonstrate the formation of microcapsules.

Keywords: maltodextrin, total polyphenol, Amazonas, DPPH

2.2 Introducción

La técnica de microencapsulación se ha venido usando ampliamente en las últimas décadas para otorgar protección a diversos compuestos alimenticios como lípidos, carotenoides y antioxidantes, compuestos altamente sensibles a factores como la luz, el oxígeno, temperatura, entre otros. La microencapsulación se puede definir como una técnica por la cual materiales sólidos, líquidos y gaseosos, son cubiertos con una película

polimérica porosa conteniendo una sustancia activa, esta membrana, barrera o película está generalmente hecha de componentes con cadenas para crear una red con propiedades hidrofílicas o hidrofóbicas (Araneda y Valenzuela, 2009). La estructura formada por el agente microencapsulante alrededor de la sustancia microencapsulada (núcleo) es llamada pared, esta protege el núcleo contra el deterioro y liberación bajo condiciones deseadas (Madene, *et. al.*, 2006); (Gharsallaoui, *et. al.*, 2007).

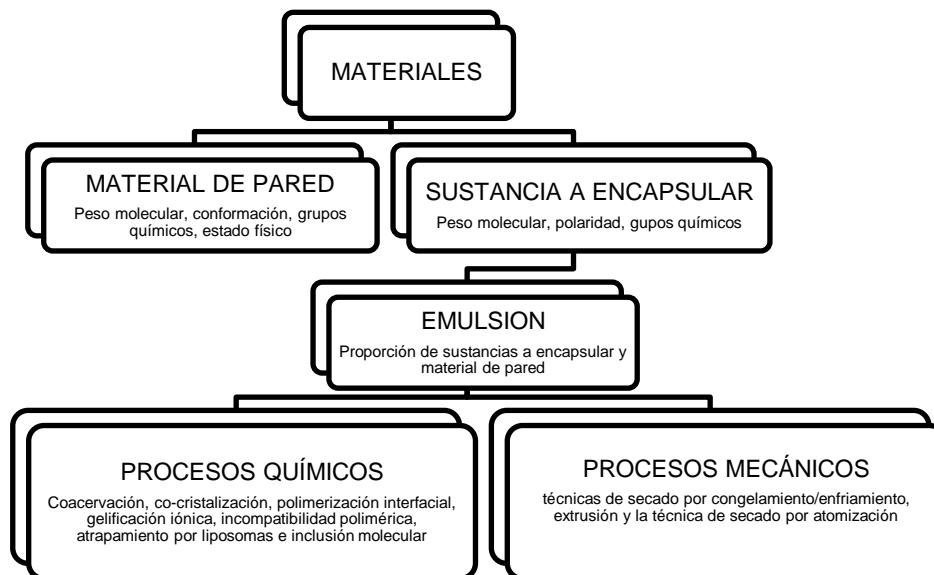
Como se ha visto los compuestos antioxidantes son sustancias de gran interés, que pueden ser extraídos de los alimentos; debido a su alta reactividad e inestabilidad deben ser protegidos y estabilizados para aplicaciones como por ejemplo formulaciones nutraceuticas (Manach, *et. al.*, 2004); (Scalbert *et. al.*, 2005). La microencapsulación permite la protección de este tipo de compuestos bioactivos, considerados como el material activo (núcleo) el cual está incrustado en una matriz de polímero (material de encapsulación) para actuar como una barrera protectora contra factores externos o ambientales como la luz, temperatura, humedad, radiaciones, entre otros (Saénz, Tapia, Chávez, & Robert, 2009).

La aplicación de esta técnica se ha ido incrementando en la industria de alimentos, debido a la protección que logra contra ciertas variables difíciles de controlar, en algunas ocasiones como temperatura, humedad, luz; lo que se traduce en estabilidad y viabilidad de los microencapsulados (Montes, *et. al.*, 2007); (Saénz, *et. al.*, 2009). De esta manera la microencapsulación permite solucionar ciertos problemas en la aplicación de ingredientes y aditivos alimenticios puesto que puede reducir la volatilidad, higroscopicidad y reactividad incrementando la estabilidad de productos bajo condiciones ambientales adversas (Kha, *et. al.*, 2010).

Debido a su naturaleza los procesos de encapsulación se dividen en dos: químicos y mecánicos (**Figura 2-1**). Entre los procesos químicos se presentan las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular; y dentro de los procesos mecánicos están las técnicas de secado por congelamiento/enfriamiento,

extrusión y por último se encuentra la técnica de secado por atomización, siendo esta la más importante y utilizada en la industria alimentaria. (Madene, *et. al.*, 2006); (Yañez *et. al.*, 2002).

Figura 2-1: Ilustración esquemática de los diferentes procesos de microencapsulación



Fuente: (Madene, *et. al.*, 2006)

La técnica de secado por atomización consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido en forma de gotas muy finas sobre una corriente de gas caliente. En el momento en que las gotas se colocan en contacto con el gas a una temperatura mayor se produce una rápida evaporación del disolvente, formándose una fina película del material de recubrimiento que se encuentra disuelto en él (Lozano, 2009).

El equipo utilizado para el secado por atomización consiste en un sistema de alimentación del líquido, un dispositivo de atomización, una cámara de secado y un

sistema colector del producto seco. Para efectuar la microencapsulación, el material de recubrimiento se dispersa en un disolvente apropiado y en esta disolución se dispersa la sustancia, sólida o líquida, que va a servir como material activo. La dispersión, en estado líquido, preparada en estas condiciones, se introduce en la cámara de secado con aire en contracorriente. El aire caliente proporciona el calor de evaporación requerido para separación del disolvente, produciéndose en esta forma la microencapsulación (Lozano, 2009).

El secado por atomización presenta las siguientes ventajas (Mujumdar, 1995):

- Control de los parámetros de calidad del producto así como especificaciones concretas.
- Los alimentos sensibles al calor, los productos biológicos y los productos farmacéuticos se pueden secar a presión atmosférica y a bajas temperaturas. A veces, se emplea la atmósfera inerte.
- El secado por atomización permite la producción de grandes cantidades en la operación continua y con un equipo relativamente simple.
- El producto entra en contacto con las superficies del equipo en condiciones anhidras, simplificando así los problemas de la corrosión y de selección de materiales costoso en la construcción del equipo.
- Produce partículas relativamente uniformes, esféricas y con casi la misma proporción de compuestos que en la alimentación líquida.
- Puesto que la temperatura de funcionamiento del gas puede extenderse de 150 a 600 °C, la eficacia es comparable a la de otros tipos de secadores directos.

Sin embargo hay algunas desventajas como (Mujumdar, 1995):

- Falla si se requiere un producto a granel de alta densidad.
- En general no es flexible. Una unidad diseñada para la atomización fina puede no poder producir un producto grueso, y viceversa
- Para una capacidad dada, se necesita generalmente una evaporación mayor que con otros tipos de secadores.

- Hay una alta inversión inicial comparada a otros tipos de secadores continuos.

El proceso de secado por atomización presenta algunas variables que deben ser estudiadas para mejorar el proceso. Algunas de estas variables son el caudal del líquido de entrada, el caudal de aire de atomización y de aire seco, la temperatura y humedad del aire de entrada al cilindro de atomización, entre otros (Lozano, 2009); (Zhongxiang Fang & Bhesh Bhandari. 2011). El estudio de estos parámetros se hace generalmente por un proceso de "ensayo y error", si bien es posible predecir la influencia de cada una de estas variables de manera individual y teniendo en cuenta las opciones que proporcione el equipo empleado.

Algunas de las variables del proceso son:

- Caudal del líquido de entrada. El caudal de entrada del líquido a atomizar al equipo de atomización se regula por medio de una bomba peristáltica, en el caso de una boquilla de dos fluidos. Este caudal afecta a la atomización.
- Caudal de aire de atomización. Este aire es suministrado por un compresor, y el caudal se regula atendiendo a la lectura de un rotámetro que nos indicará el caudal de aire utilizado para el atomizado. Este caudal de aire lo utiliza una boquilla de dos flujos y afecta a la atomización.
- Temperatura y humedad del aire de entrada al cilindro de atomización).
- Caudal de aire de secado. El caudal de aire de secado indica el aire que entra en el cilindro de pulverización para realizar el secado. El caudal real depende de la pérdida de presión del conjunto del sistema.

Las condiciones utilizadas durante el proceso van a influenciar en las características del producto en polvo obtenido (Lozano, 2009):

- Humedad final del producto
- Rendimiento de producción
- Temperatura de salida
- Tamaño de partícula

El interés en el consumo de frutas frescas es, en gran medida, debido a su alto contenido de compuestos bioactivos que presentan actividad antioxidante. Es así que se ha presentado una creciente demanda por el aprovechamiento de los antioxidantes naturales de los alimentos, sin embargo existe el problema relacionado a la inestabilidad de los compuestos bioactivos durante la etapas de procesamiento lo que conlleva a buscar alternativas para la protección de su bioactividad como la microencapsulación por secado por atomización (Bakowska-Barczak & Kolodziejczyk, 2011).

En el estudio de la aplicación de la técnica de secado por atomización para la protección de compuestos con poder antioxidante, se han evaluado diversos agentes encapsulantes como Maltodextrina 10DE, maltodextrina 20DE (DE: grados dextrosa equivalente), goma arábica y almidón de tapioca. Tonon, Brabet, & Hubinger, 2010 evaluaron dichos agentes microencapsulantes en polvo de jugo de asaí microencapsulado mediante secado por atomización. Realizaron seguimiento de la estabilidad de las antocianinas y la actividad antioxidante durante 120 días de almacenamiento. La maltodextrina 20DE fue el agente encapsulante que mostró la mejor protección a las antocianinas y la actividad antioxidante más alta, para todas las condiciones estudiadas.

De igual manera Bakowska-Barczak & Kolodziejczyk, 2011 evaluaron las maltodextrinas DE18, DE21 y DE11 en la microencapsulación de compuestos bioactivos en las bayas de “*black currant*” (*Ribes nigrum* L.) encontrando que esta última presentó un rendimiento de secado mayor y también ofreció la mejor protección a los compuestos fenólicos durante el almacenamiento. Los microencapsulados polifenólicos obtenidos por secado por atomización se caracterizaron por una alta estabilidad en el almacenamiento a las temperaturas ensayadas. Las microcápsulas de polifenoles de “*black currant*” descritos en este estudio representan un aditivo alimentario prometedor para la incorporación en alimentos funcionales, debido a su contenido de antioxidantes y la presencia de los componentes bioactivos beneficiosos para la salud humana.

Fang & Bhandari, 2011 investigaron el secado por atomización del jugo de “*Bayberry*” (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc) empleando maltodextrina DE 10 como agente encapsulante

almacenando los polvos obtenidos bajo diferentes condiciones de temperatura y actividades de agua (aw). Los resultados sugieren que el polvo de “*Bayberry*” se debe almacenar a menos de 25°C y aw de 0,33 para garantizar una mayor estabilidad de los compuestos polifenólicos.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar los parámetros adecuados de microencapsulación mediante la técnica de secado por atomización de los compuestos con poder antioxidante de las semillas secas y sin fermentar de *Theobroma cacao* y *Theobroma grandiflorum* extraídos por la técnica EAM.

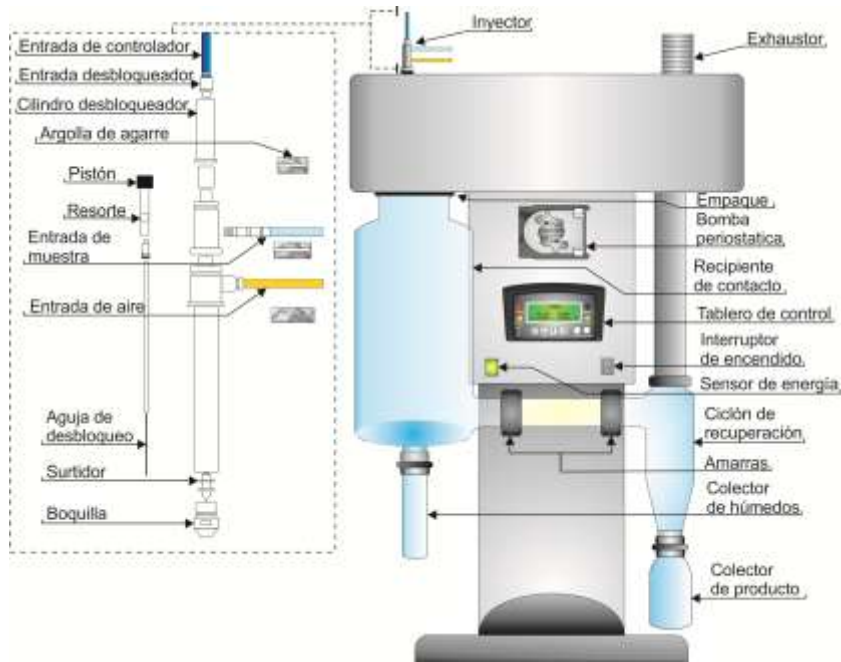
2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Material vegetal

Se emplearon extractos acuosos de compuestos antioxidantes de semillas sin fermentar de cacao (*Theobroma cacao*) y copoazú (*Theobroma grandiflorum*), frutos de origen Amazónico, obtenidos por Extracción Asistida por Microondas (EAM). Estos extractos fueron caracterizados mediante °Brix, pH, polifenoles totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS.

2.3.2 Métodos

- **Estudio de los parámetros para la microencapsulación secado por atomización “*Spray drying*”:** Se empleó un equipo Spray Dryer Lab Plant™ SD-06 escala de laboratorio (**Figura 2-2** y **Figura 2-3**). En el proceso se mantuvieron constantes la boquilla (2 mm de diámetro) y el flujo de aire (4,3 m/s). Como material de pared se empleó Maltodextrina grado alimenticio en una proporción en peso 1:1 con el extracto. Adicionalmente, al obtener la estandarización del proceso, se microencapsuló el extracto de compuestos antioxidantes de cacao para ser comparado con el de copoazú.

Figura 2-2: Spray Dryer Lab Plant™ SD-06**Figura 2-3:** Microencapsulación por secado por atomización “*Spray Drying*” de compuestos antioxidantes

- **Caracterización de los microencapsulados:** Los microencapsulados de cacao y copoazú obtenidos se almacenaron en bolsas plásticas selladas y se caracterizaron físicas y químicamente de la siguiente manera:
 - **Solubilidad en agua:** Se determinó midiendo que cantidad en gramos de microencapsulados era soluble 100 ml de agua destilada (Heidebach, T., Först, P. & Kulozik, U., 2010).
 - **Morfología:** Su análisis se realizó mediante microscopía en un Microscopio Electrónico de Barrido FEI QUANTA 200 el cual constaba de un cañón de electrones con su óptica, cámara de muestras, circuito de vacío, electrónica de detección y registro de imagen (Jun-xiaa, X., Hai-yana, Y. & Jiana, Y. (2011).
 - **Color:** Se evaluó el color inicial (día 0) de los microencapsulados (L, C, h) mediante el equipo MiniScan XE Plus HunterLab (Xue, F., *et. al.*, 2013).
 - **Actividad de agua (aw):** La actividad de agua inicial (día 0) de los microencapsulados se determinó con el equipo Rotronic Hygropalm Model AE-DIO (Silva, P., *et. al.*, 2013).
 - **El rendimiento del proceso:** se calculó a partir de la cantidad agregada al sistema (peso del extracto + Maltodextrina) y el peso obtenido de microencapsulados, aplicando la siguiente ecuación (Jun-xiaa, X., Hai-yana, Y. & Jiana, Y. (2011):

$$\% \text{ Rendimiento del proceso} = \frac{\text{gramos obtenidos}}{\text{gramos de partida}} \times 100$$

Es importante mencionar que los gramos obtenidos fueron solo aquellos que se depositaron en el recipiente del ciclón, es decir que se descartó el material que quedaba adherido a las paredes de la cámara de secado.

- **Cuantificación de polifenoles totales:** El ensayo se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Wollgast & Anklam (2000), con algunas modificaciones. Se tomó 1 gramo de la muestra y se diluyó con 10 ml de agua

destiladas. Se tomaron 50 µl de la muestra a ensayar y se mezclaron con 1.5 ml del reactivo de Folin Ciocalteu diluido 10 veces, se agitó con ayuda de un vortex y se dejó en reposo por 5 minutos; posteriormente se adicionaron 1.5 ml de carbonato de sodio al 7.5% y se agitó nuevamente. La mezcla de reacción se guardó en oscuridad durante 60 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia).. A continuación se midió la absorbancia de la solución a 765 nm en un espectrofotómetro marca Beckman modelo DU 640. Como blanco se empleó 50 µl de agua destilada y el resto de reactivos mencionados anteriormente. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico (mgEAG/g de muestra) utilizando la curva estándar de ácido gálico (0.05-1.5 mg/ml).

- **Determinación de actividad antioxidante:** La actividad de cada uno de los extractos se cuantificó de acuerdo a la habilidad de atrapamiento de los radicales utilizados, usando los métodos DPPH y ABTS.

Para el método **DPPH**, se siguió el método descrito por Lai *et. al.*, 2001, con algunas modificaciones. Se preparó una solución DPPH 100 µM en etanol. Se tomaron 150 µl de muestra y se mezclaron con 2850 µl de la solución DPPH, se agitó y se almacenó en la oscuridad por 20 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia). Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 515 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución DPPH en el espectrofotómetro (Beckman® Coulter DU-640). Los resultados son expresados como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\%In = \frac{A_{DPPH} - A_{mtra}}{A_{DPPH}} \times 100$$

Donde,

A_{DPPH} : Absorbancia de la solución DPPH 100 μ M

A_{mtra} : Absorbancia de la muestra más la solución de DPPH transcurrido los 20 minutos

Para el método de **ABTS**, se siguió el procedimiento descrito por Won Lee (2003), con algunas modificaciones. Una solución 7 mM de ABTS y otra de 2.45 mM de persulfato de potasio fueron mezcladas en igual proporciones y almacenadas en la oscuridad por 14 horas para obtener el radical $ABTS^{*+}$. Cada vez que se iba a realizar una cuantificación se tomaba una cantidad de esta muestra stock y se diluía con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 750 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución en el espectrofotómetro (Beckman® Coulter DU-640). Para el análisis se tomaron 20 μ l de la muestra, se mezclaron con 980 μ l de la solución de $ABTS^{*+}$, se dejó en reposo y oscuridad por 5 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia); transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 750 nm. Los resultados son expresados como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\%In = \frac{A_{ABTS} - A_{mtra}}{A_{ABTS}} \times 100$$

Donde,

A_{ABTS} : Absorbancia de la solución ABTS diluido

A_{mtra} : Absorbancia de la muestra más la solución de ABTS transcurrido los 5 minutos

2.3.3 Diseño de Experimentos y Análisis estadístico

El estudio del efecto de las variables del secado por atomización se realizó mediante un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial de 2X3, donde los niveles del primer factor fueron las temperaturas 150 y 180 °C y los niveles del segundo factor caudal de alimentación fueron 5, 12 y 15 ml/min (**Tabla 2-1**); la variable respuesta del diseño fue el contenido de polifenoles totales de las microcápsulas obtenidas con mediciones quincenales, durante un período de almacenamiento de dos meses. Se empleó esta variable respuesta ya que aporta datos más precisos y contundentes sobre las especies químicas presentes en los extractos. Para el estudio de las variables se empleó el extracto de compuestos antioxidantes de copoazú y cacao obtenido por EAM con las condiciones de proceso: relación solvente/muestra 25 ml/g, potencia 330 W, tiempo 15 minutos y 2 ciclos de extracción. Los extractos fueron caracterizados mediante la medición de los polifenoles totales, actividad antioxidante (DPPH y ABTS), pH y °Brix.

Tabla 2-1: Variables para el estudio de la técnica de microencapsulación secado por atomización de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao

FACTORES		
TEMPERATURA ENTRADA °C		CAUDAL DE ALIMENTACIÓN ml/min
150	180	5
		12
		15

Mediante un análisis Multi-Factor de ANOVA, se estudiaron las diferencias significativas y la interacción de cada una de las variables respuesta con respecto a la temperatura y caudal de alimentación. Para cada factor significativo, se realizó una prueba de rango múltiple para determinar qué medidas fueron significativamente diferentes de las otras. Para estos análisis se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

2.4 Resultados y discusión

2.4.1 Estudio de la técnica de microencapsulación secado por atomización (*Spray drying*) de compuestos fitoactivos

- **Caracterización del extracto de compuestos antioxidantes de semillas de copoazú empleado para el estudio del proceso de microencapsulados (día 0):** En la **Tabla 2-2**, se presentan los valores de la caracterización del extracto de copoazú obtenido por EAM y empleado para la microencapsulación. Entre los extractos de compuestos antioxidantes de cacao y copoazú, se presentaron diferencias significativas en todos los valores ($p < 0.05$), a excepción del valor de pH ($p > 0.05$)

Tabla 2-2: Caracterización extracto de compuestos antioxidantes de copoazú y cacao obtenidos mediante EAM

DETERMINACIÓN	COPOAZÚ	CACAO
Polifenoles totales (mg EAG/g)	8.39 a	15.94 b
Actividad antioxidante DPPH (%)	32.88 c	71.24 d
Actividad antioxidante ABTS (%)	42.93 e	81.43% f
pH	6.6 g	6.7 g
°Brix	0.1 h	0.3 i

Los valores son expresados como el promedio ($n=3$). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS.

El promedio de los valores correspondientes a la caracterización de los microencapsulados obtenidos en el día 0 y la interacción de las mismas se presentan en la **Tabla 2-3**. Mediante un análisis Multi-Factorial ANOVA se determinaron diferencias significativas de las variables y su interacción. Para cada una de las características evaluadas se generó un análisis de varianza independiente (**Anexo A**).

Tabla 2-3: Promedios para la Temperatura, caudal e interacción de las características de los microencapsulados para la estandarización (día 0)

VARIABLES	CARACTERIZACIÓN				
	° BRIX EXTRACTO + MALTODEXTRI NA	aw	COLOR		
Temperatura (°C)			L	C	h
150	49.83 a	0.2957 a	81.44 a	0.57 a	122.62 a
180	50.70 a	0.2603 b	85.40 b	0.54 a	132.24 b
Caudal (ml/min)					
5	50.50 a	0.2195 a	83.21 a	0.67 a	126.89 a
12	50.05 a	0.2190 b	82.27 a	0.53 b	125.29 a
15	50.25 a	0.2055 c	84.78 a	0.46 c	130.11 a
Temperatura (°C) X Caudal (ml/min)					
150 X 5	49.00 a	0.1960 a	82.42 a	0.90 c	109.73 a
150 X 12	50.00 a	0.2610 d	78.17 a	0.43 a	135.07 cd
150 X 15	50.50 a	0.2300 c	83.74 a	0.38 a	123.07 bc
180 X 5	52.00 a	0.2430 b	84.01 a	0.44 a	144.06 d
180 X 12	50.10 a	0.2770 b	86.38 a	0.64 b	115.51 ab
180 X 15	50.00 a	0.2610 b	85.81 a	0.55 b	137.15 d

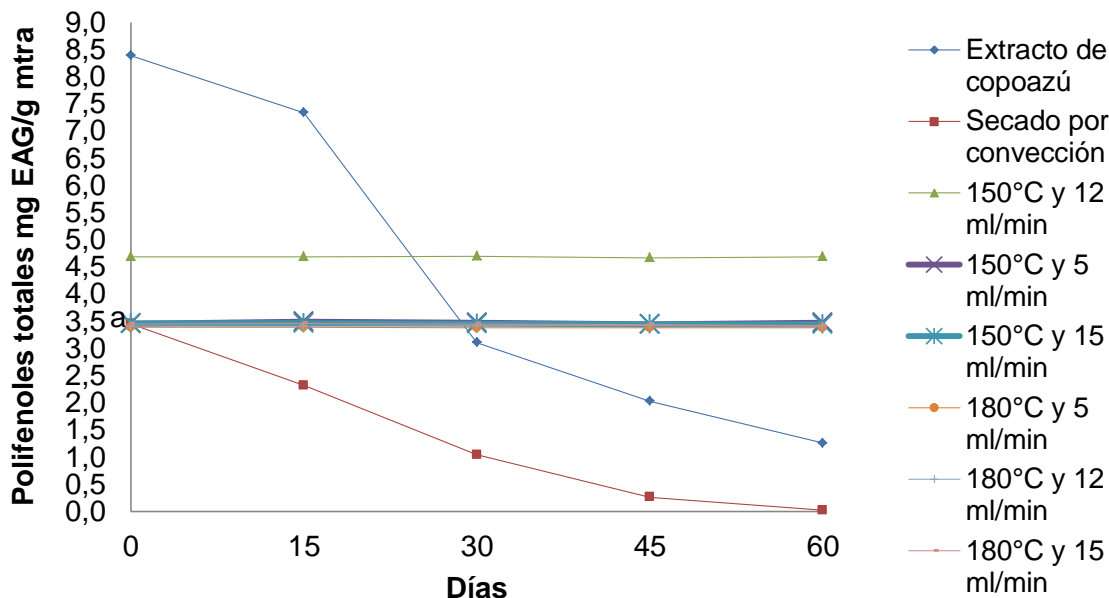
Los valores son expresados como el promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS

- **°Brix:** No se presentaron diferencias significativas en los valores de °Brix de la mezcla extracto:maltodextrina (1:1) al ingresar al proceso de microencapsulación ($p > 0.05$), el promedio del valor fue de 50.27° Brix.
- **Aw:** La actividad de agua (aw) es un parámetro que se encuentra estrechamente ligado a la humedad del producto, por lo que este valor permite determinar su capacidad de conservación y su propagación microbiana. La Aw de los microencapsulados presentaron diferencias significativas entre todos los

tratamientos y con respecto a las variables estudiadas ($p < 0.05$). Sin embargo, de acuerdo con Hungtington, (2004) todos los microencapsulados de compuestos antioxidantes de semillas secas sin fermentar de copoazú pueden ser seguros microbiológicamente al no haber condiciones para el crecimiento de microorganismos patógenos, ya que su a_w fue menor a 0.3.

- **Color instrumental L, C, h:** Con respecto al color instrumental, los valores para todas las muestras se ubicaron en la región cercana al color blanco ($L^* = 100$). Se observó que con respecto a esta coordenada solo se presentaron diferencias significativas en la relación con la temperatura ($p < 0.05$), es decir que la temperatura de microencapsulación tuvo un efecto en el valor de L, se observó que a 180°C el valor de L era mayor que a 150° . Con respecto a C, no se presentaron diferencias significativas con relación a la temperatura ($p > 0.05$), mientras que se observó que el caudal de alimentación y la combinación de las variables si tiene un efecto significativo en este valor ($p < 0.05$). Para el caso de h se observó que el caudal de alimentación no tiene un efecto significativo sobre este valor ($p > 0.05$), mientras que la temperatura y la combinación de las variables si ($p < 0.05$).
- **Evaluación del contenido de polifenoles totales de los microencapsulados en el tiempo:** En la **Figura 2-4** se puede observar la variación del contenido de polifenoles totales de los microencapsulados de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú. Se observó que el contenido inicial (Día 0) de polifenoles totales de los microencapsulados se redujo en aproximadamente un 60% comparado con el extracto original, lo cual puede atribuirse a la dilución con la maltodextrina, en el momento de la formulación, ya que en peso fue de 1:1. Parte de esta disminución también podría atribuirse a la degradación de los compuestos antioxidantes en el momento de la microencapsulación al exponerse a las altas temperaturas, sin embargo el tiempo de exposición es demasiado corto antes que el material encapsulante proteja el material activo, por lo que se esperaba que esta degradación fuera en una proporción muy baja.

Figura 2-4: Evaluación de la estabilidad en el tiempo de los polifenoles totales microencapsulados



Los valores son expresados como el promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$. Extracto de copoazú medio acuoso sin microencapsular

También se puede observar en la **Figura 2-4** una disminución del contenido de polifenoles totales del extracto original en el periodo evaluado (0-60 días), tal que en el día 60 se perdió el (-85%) del contenido inicial. Esto indicó que es necesario implementar una protección a los compuestos antioxidantes para su conservación. Para extracto de copoazú mezclado con maltodextrina 1:1 secado por convección a 80°C por 8 horas se observó una pérdida total del contenido de polifenoles totales al llegar al día 60 (0.02 mgEAG/g), esto indicó que aunque se adicionó el polisacárido maltodextrina no fue efectivo como barrera ya que no logro reducir las pérdidas de los polifenoles totales.

Por el contrario, todas los tratamientos de extractos de polifenoles microencapsulados evaluados mantuvieron constante su contenido en el tiempo, es decir no se presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$). De los tratamientos realizados se puede destacar el de temperatura de entrada 150°C y caudal de alimentación 12 ml/min, ya que inició en el día 0 con la mayor concentración de polifenoles. Esto indicó que al mantener una

temperatura de 150°C y un de 12 ml/min se conservan mejor los compuestos antioxidantes durante el inicio del proceso de microencapsulación. Por lo tanto la mejor combinación de variables para el secado por atomización de compuestos antioxidantes de semillas secas, sin fermentar de copoazú fue una temperatura de entrada 150°C y un flujo de alimentación de 12 ml/min.

Mediante una prueba Multi-Factorial de ANOVA (**Tabla 2-4**), se estudió el efecto de interacción del contenido de polifenoles totales de los microencapsulados con respecto a los días, la temperatura y el flujo de alimentación. Se puede observar que todas las variables tiene un efecto significativo en el contenido de polifenoles totales de los microencapsulados evaluados de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de copoazú y cacao ($p < 0.05$).

Tabla 2-4. Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales (mg EAG/g) – Interacción con las variables

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	p
Temperatura (°C)	0.383168	1	0.383168	4330.81	0.0000
Caudal de alimentación (ml/min)	0.477623	2	0.238811	2699.20	0.0000
Día	0.0410315	4	0.0102579	115.94	0.1573
Temperatura X Caudal	0.420839	2	0.210419	2378.29	0.0000
Temperatura X Día	0.000973731	4	0.000243433	2.75	0.0463
Caudal X Día	0.00576198	8	0.000720248	8.14	0.0000
Temperatura X Caudal X Día	0.00480052	8	0.000600065	6.78	0.0000
RESIDUAL	0.00265425	30	0.000088475		
TOTAL	1.33685	59			

2.4.2 Microencapsulación de extractos antioxidantes de semillas sin fermentar de *Theobroma cacao* y *Theobroma grandiflorum* (Copoazú)

Se realizó la microencapsulación de compuestos antioxidantes de cacao y copoazú, obtenidos por EAM bajo las condiciones de temperatura de entrada 150°C, caudal de alimentación 12 ml/min, boquilla de 2 mm de diámetro y flujo de aire 4,3 m/s. En la **Figura 2-5** se presentan los microencapsulados obtenidos de los extractos de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú, y en la **Tabla 2-5** se presenta la caracterización de los microencapsulados.

Figura 2-5: Microencapsulados de (a) *Theobroma cacao* y (b) *Theobroma grandiflorum* (copoazú)



- **Polifenoles totales y actividad antioxidante:** Se encontraron diferencias significativas en el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante (DPPH y ABTS) entre los microencapsulados de cacao y copoazú ($p < 0.05$). Para el caso de los microencapsulados de compuestos antioxidantes de cacao, el contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante fue el doble que para el caso de los microencapsulados de copoazú. Este resultado concuerda con la caracterización que se realizó inicialmente a los extractos

obtenidos por EAM, donde de igual manera el contenido para los extractos de semillas de cacao era el doble que para el copoazú (**Tabla 2-5**).

Tabla 2-5: Caracterización de los microencapsulados de extractos de compuestos antioxidantes de semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú

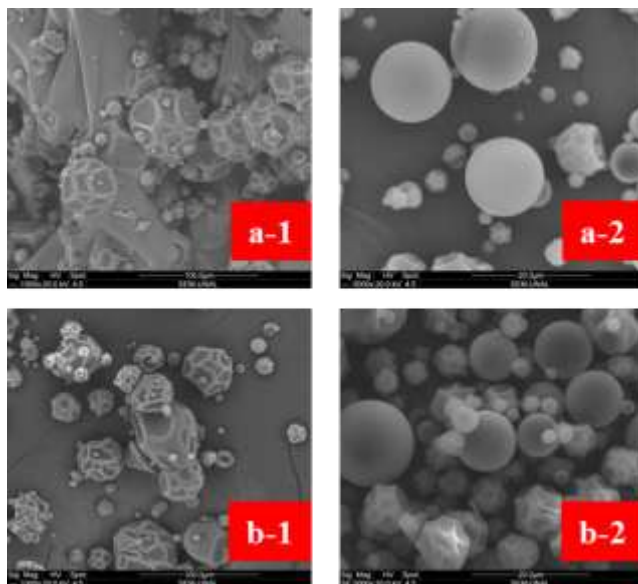
DETERMINACIÓN	CACAO	COPOAZÚ
Polifenoles totales (mgEAG/g mtra)	7.95 a	4.21 b
Actividad antioxidante DPPH (%)	31.24 a	15.32 b
Actividad antioxidante ABTS (%)	42.32 a	21.40 b
Rendimiento del proceso (%)	16.12 a	16.03 a
Solubilidad (g/ 100 ml agua)	15.33 a	15.35 a

Los valores son expresados como el promedio (n=3). Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de $p < 0,05$ DMS

- **Rendimiento del proceso y solubilidad:** Para el caso del Rendimiento de producción y solubilidad de los microencapsulados, no se encontraron diferencias significativas entre las dos muestras de microencapsulados evaluadas ($p > 0,05$). Se puede ver que en la obtención del microencapsulada del cacao el rendimiento fue del 16.12 ± 1.33 %, mientras que para el copoazú fue del 16.03 ± 2.03 %. El rendimiento de proceso es un valor muy importante desde el punto de vista económico, ya que esto determina la viabilidad del proceso desde el punto de vista económico y su posible utilización; por lo tanto se hace necesario estudiar a profundidad todos los parámetros del proceso para mejorar y aumentar este rendimiento sin perder el poder antioxidante de las microcápsulas. Con respecto a la solubilidad de las microcápsulas, los valores encontrados indicaron que este tipo de productos no son recomendados para emplearse como polvos para bebidas instantáneas, pero si en la incorporación en otros alimentos debido a sus características organolépticas como el color.

- **Morfología:** Mediante un análisis de microscopía electrónica de barrido a los microencapsulados y al material adherido a la pared de la cámara de atomización, se observó la formación de las microcápsulas y los tamaños de partículas (**Figura 2-6**). Del análisis de las imágenes se determinó que el material adherido a las paredes de la cámara de secado (**Figura 2-6 a-1 y b-1**) presentaron formas amorfas, de diferentes tamaños y sin ninguna formación de esferas; mientras que las microcápsulas que llegaron al ciclón (**Figura 2-6 a-2 y b-2**) presentaron formas esféricas. Los tamaños de las esferas en promedio fueron: para el caso del *Theobroma cacao* (**Figura 2-6 a-2**) $10.2 \pm 3.0 \mu\text{m}$ y para el *Theobroma grandiflorum* (**Figura 2-6 b-2**) $8.3 \pm 1.2 \mu\text{m}$. La formación de las esferas es un indicativo de que las microcápsulas se han obtenido por secado por atomización y que el material de pared está conteniendo el material activo de interés, en este caso lo compuestos antioxidantes extraídos.

Figura 2-6: Imágenes de microscopía electrónica de barrido (a-1) microencapsulados de *Theobroma cacao*, (a-2) material adherido a las paredes de la cámara - *Theobroma cacao* paredes, (b-1) microencapsulados de *Theobroma grandiflorum* (Copoazú), (b-2) material adherido a las paredes de la cámara - *Theobroma grandiflorum* (Copoazú) paredes



2.5 Conclusiones

Se encontró que para el proceso de microencapsulación por secado por atomización para extractos antioxidantes de semillas secas, sin fermentar de cacao y copoazú fueron 150 °C y 12 ml/h, empleando Maltodextrina como material de pared en una relación 1:1 con el extracto, alcanzándose rendimientos entre el 16 y 17%.

Durante la evaluación de los microencapsulados en el tiempo se observó que la disminución de su actividad antioxidante era mínima, evidenciando que esta técnica si logra proteger la actividad antioxidante de los compuestos durante el período evaluado en este estudio.

Aunque la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales de semillas secas y sin fermentar del cacao de origen amazónico fueron el doble, comparado con el contenido de las semillas de copoazú, la aptitud para la microencapsulación para los dos matrices vegetales los hacen una fuente potencial de compuestos polifenoles antioxidantes para propósitos agroalimentarios y/o nutraceúticos.

Bibliografía

Araneda, C., & Valenzuela, F. (2009). Microencapsulación de extractantes: una metodología alternativa de extracción de metales. *Revista Ciencia Ahora*, 22(11), 9-19.

Bakowska-Barczak, A. M., & Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1301-1309.

Fang, Z., & Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129(3), 1139-1147.

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

Heidebach, T., Först, P. & Kulozik, U. (2010). Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. *Journal of Food Engineering* (98), 309–316.

Jun-xiaa, X., Hai-yana, Y. & Jiana, Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry* 125, 1267–1272.

Kha, T. C., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 385-392.

Lai, L. S., S.T. Chou, and W.W. Chao. 2001. Studies on the antioxidant activities of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). *J. Agric. Food Chem.*, 49: 963-968.

Lozano, M. (2009). Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de opuntia stricta mediante secado por atomización. Universidad Politécnica de Cartagena.

Madene, A. a. J. M. a. S. J. a. D. S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1), 1-21.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.

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

Mujumdar, A. (2006). *Handbook of Industrial Drying* (Marcel Dekker, Inc., New York ed.).

Saéñz, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616-622.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(20), 287- 306

Silvaa, P., Stringhetaa, P., Teófilo, R. & Nolasco de Oliveiraa, I. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 117, 538–544

Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea Mart.*) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43(3), 907-914.

Wollgast, J. and Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

Won Lee, Young Jun Kim, Hyong Joo Lee, Chang Yong Lee. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7292–7295.

Xuea, F., Li, C., Liuc, Y., Zhuc, X., Panc, S., & Wangc, L. (2013). Encapsulation of tomato oleoresin with zein prepared from corn gluten meal. *Journal of Food Engineering* 119: 439–445.

Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jimenez, J., Marquez, M., & Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva*, 21, 313-319.

Zhongxiang Fang, Bhesh Bhandari. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129: 1139–1147

3. Consideraciones finales y recomendaciones

3.1 Consideraciones finales

La Extracción Asistida por Microondas (EAM), permitió la extracción de compuestos antioxidantes a partir de semillas sin fermentar de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y cacao (*Theobroma cacao*). Mediante el estudio de sus variables de proceso y la interacción de las mismas mediante la ejecución del diseño de arreglo ortogonal de Taguchi $L_{16}(4)^4$, se encontró que la mejor combinación de las variables para obtener el mayor rendimiento de compuestos antioxidantes correspondió a una relación solvente/muestra 25 ml/g, potencia 300 W, tiempo 15 minutos y 2 ciclos de extracción.

Debido a que la técnica tradicional para la extracción de compuestos antioxidantes era la EAU, el presente estudio permitió comparar las dos técnicas en las matrices seleccionadas y se encontró que bajo las mismas condiciones de proceso la EAM es más eficiente en la extracción de compuestos antioxidantes ya que permitió una mayor extracción de estos compuestos, requiere menos tiempos de operación y una menor cantidad de solvente. De igual manera se debe considerar el estudio de cada una de las variables del proceso de EAM para cada tipo de matriz vegetal a emplear.

El estudio de las variables del proceso de microencapsulación por secado por atomización, permitió la protección de los compuestos antioxidantes extraídos por EAM de las semillas secas y sin fermentar de cacao y copoazú, encontrándose que desde el día 0 hasta el último día de evaluación (día 60), los microencapsulados evaluados no presentaron diferencias significativas en su contenido de polifenoles totales ($p > 0.05$).

La EAM de compuestos antioxidantes y su posterior protección mediante la técnica de microencapsulación secado por atomización, es una alternativa innovadora para aquellas semillas de materiales de cacao y copoazú que no presenten características aceptables para el mercado de chocolatería.

3.2 Recomendaciones

Se recomienda para estudios posteriores realizar el escalamiento a nivel piloto e industrial del proceso de Extracción Asistida por Microondas. En el proceso de escalamiento se deben estudiar el tipo de cavidad a usar en el equipo (multimodo o monomodo), la posibilidad de adecuar el proceso en continuo y evaluar cada una de las variables influyentes con el fin de obtener mayores rendimientos de extracción.

Emplear la Extracción Asistida por Microondas para obtener compuestos antioxidantes a partir de materiales vegetales que no presente un aprovechamiento comercial y en subprocesos y/o residuos de la industria de alimentos.

Evaluar diferentes tipos de materiales de pared para la microencapsulación por secado por atomización de compuestos antioxidantes, como almidones nativos, almidones modificados, goma arábica, y realizar un estudio de estabilidad de los microencapsulados obtenidos por períodos de tiempo más extensos y condiciones controladas de temperatura y humedad.

A. Tablas Análisis Estadístico

Análisis de varianza de aw – Microencapsulados día 0

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	p
Temperatura (°C)	0.00374533	1	0.00374533	0.0000
Caudal de alimentación (ml/min)	0.021638	2	0.010819	0.0000
Temperatura X Caudal	0.0102807	2	0.00514033	0.0000
RESIDUAL	0.0	6	0.0	
TOTAL	0.035664	11		

Análisis de varianza de °Brix – Microencapsulados día 0

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	p
Temperatura (°C)	2.25333	1	2.25333	1.28	0.3019
Caudal de alimentación (ml/min)	0.406667	2	0.203333	0.12	0.8932
Temperatura X Caudal	7.00667	2	3.50333	1.98	0.2182
RESIDUAL	10.6	6	1.76667		
TOTAL	20.2667	11			

Análisis de varianza de color (L) – Microencapsulados día 0

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	p
Temperatura (°C)	47.0448	1	47.0448	8.32	0.0279
Caudal de alimentación (ml/min)	12.7834	2	6.39168	1.13	0.3833
Temperatura X Caudal	27.2704	2	13.6352	2.41	0.1705
RESIDUAL	33.9439	6	5.65732		
TOTAL	121.042	11			

Análisis de varianza de color (C) – Microencapsulados día 0

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	p
Temperatura (°C)	0.00240833	1	0.00240833	1.75	0.2339
Caudal de alimentación (ml/min)	0.08915	2	0.044575	32.42	0.0006
Temperatura X Caudal	0.286817	2	0.143408	104.30	0.0000
RESIDUAL	0.00825	6	0.001375		
TOTAL	0.386625	11			

Análisis de varianza de color (h) – Microencapsulados día 0

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadro medio	F_c	p
Temperatura (°C)	277.441	1	277.441	9.74	0.0206
Caudal de alimentación (ml/min)	48.1929	2	24.0964	0.85	0.4746
Temperatura X Caudal	1481.95	2	740.974	26.02	0.0011
RESIDUAL	170.876	6	28.4793		
TOTAL	1978.46	11			

B. Divulgación de los resultados

1. Doceava Edición de la Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICTA-12) y 5to Encuentro Latinoamericano y del Caribe sobre Cacao y Chocolate. La Habana, Cuba. Mayo 13 al 17 de 2013. Presentación Oral y Trabajo en extenso.

PRESENTACIÓN ORAL Y TRABAJO EN EXTENSO

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES A PARTIR DE SEMILLAS SIN FERMENTAR DE CACAO (*Theobroma cacao*), COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum) Y MARACO (*Theobroma bicolor* H.B.K) AMAZÓNICOS

Yenny Mayerly Herrera Ardila^{1 y 3}, María Soledad Hernández Gómez^{2 y 3}, Rafael H. Gutiérrez Bravo⁴

¹Programa Maestría Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C, Colombia, ² Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C, Colombia, ³ Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi, Bogotá D.C, Colombia, ⁴ Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
ymherreraa@unal.edu.co; shernandez@sinchi.org.co; rafgutii@hotmail.com

Resumen

Las semillas de cacao (*Theobroma cacao*) se podrían considerar como alimentos funcionales ya que poseen un alto contenido de compuestos fenólicos, con características antioxidantes, que proporcionan aparentes beneficios para la salud. En la Amazonia se encuentran otras especies silvestres del género *Theobroma* como *el Theobroma gradiflorum* y *Theobroma bicolor*, que podrían tener contenidos de antioxidantes en igual o mayor proporción a los de cacao. Para evaluar el poder antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas es necesario realizar un procedimiento de extracción. La extracción asistida por microondas EAM es una técnica que se ha convertido en una herramienta que mejora la productividad de los procesos. En el presente trabajo se

recolectaron frutos de cacao, copoazú y maraco de fincas de Amazonia y se utilizaron las semillas secas y sin fermentar. La extracción de los compuestos antioxidantes se realizó en un microondas convencional modificado con las siguientes variables de proceso: Relación muestra:solvente 1:15, potencia 300W, tiempo de extracción 12 minutos y 4 ciclos. La cuantificación de los antioxidantes en los extractos se realizó mediante el método de barrido (Scavenging) del Radical 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), los resultados se expresan como porcentaje de inhibición y miligramo de Trolox® por 100 gramos de muestra. Adicionalmente, para evaluar la efectividad de la EAM en compuestos antioxidantes, se llevó a cabo la comparación con la EAU, encontrando que la EAM es más eficiente que la EAU. El extracto que presentó mayor concentración de antioxidantes fue el de cacao, seguido por el de copoazú y por último el maraco.

Palabras claves: biodiversidad, compuestos bioactivos, actividad antioxidante

2. V Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos Dra. Mercedes Baragaño de Mosqueda. Seguridad, Calidad e Inocuidad Alimentaria. Caracas, Venezuela. Mayo 27 al 31 del 2013. Presentación Oral y Trabajo en extenso.

PRESENTACIÓN ORAL Y TRABAJO EN EXTENSO

MICROENCAPSULACIÓN MEDIANTE SECADO POR ATOMIZACIÓN "SPRAY DRYING" DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE FRUTOS DE ORIGEN AMAZÓNICO

MICROENCAPSULATION BY SPRAY DRYING OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM AMAZON FRUITS

Herrera, Y.^{1 y 2}; Hernández, M. S.²; Gutiérrez, R.³

1) Programa Maestría Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C, Colombia, 2) Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C, Colombia. 3) Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

ymherreraa@unal.edu.co; mshernandez@unal.edu.co; rafgutii@hotmail.com

Resumen

El conocimiento de las especies Amazónicas y su valor agregado constituyen una oportunidad para su inclusión dentro del concepto de economía verde y el biocomercio justo y equitativo para la región. Diversos frutos Amazónicos se han caracterizado por su valioso aporte nutricional y composición de compuestos bioactivos. Para mayoría de estos compuestos son altamente sensibles a factores como la temperatura, humedad y la luz y para protegerlos se emplea la microencapsulación, por ejemplo el secado por atomización "Spray drying", que permite solucionar problemas en la aplicación de ingredientes y aditivos alimenticios, controlando la eliminación de saborizantes, reducir volatilidad, higroscopicidad y reactividad, e incrementar la estabilidad bajo condiciones ambientales adversas. En este trabajo se realizó la microencapsulación por atomización de compuestos bioactivos de semillas sin fermentar de *Theobroma cacao*, *Theobroma grandiflorum* (Copoazú) y *Theobroma bicolor* (Maraco) de origen Amazónicos. El material de pared empleado fue maltodextrina grado alimenticio con un contenido de dextrosa de 20 y las variables estudiadas fueron: la temperatura de entrada al sistema (150°C y 180°C), y el flujo de alimentación (5, 12 y 15 ml/min). Se evaluó la estabilidad de los compuestos bioactivos microencapsulados a través del contenido de polifenoles totales y la medición de la actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, observándose una estabilidad y protección de las propiedades antioxidantes. De igual manera se obtuvieron imágenes de los microencapsulados mediante la técnica de Microscopía electrónica de barrido para evidenciar la formulación de las microcápsulas.

Palabras claves: antioxidantes, copoazú, cacao, cocona

3. ISHS POSTHARVEST Quality Management of Horticultural Products of Interest In The Tropics. Puerto España, Trinidad. Julio 1 al 5 de 2013. Presentación Oral y Trabajo en extenso.

PRESENTACIÓN ORAL Y TRABAJO EN EXTENSO

MICROWAVE EXTRACTION OF ANTIOXIDANT S COMPOUNDS IN DRY SEEDS OF COPOAZÚ

Y.M. Herrera
Master Science and Food Technology
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)
Universidad Nacional de Colombia
Bogotá, Colombia

R.H. Gutiérrez B
Escuela de Nutrición y Dietética
Universidad Central de Venezuela
Caracas, Venezuela
rafgutii@hotmail.com

M.S. Hernández
Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Colombia
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)
Universidad Nacional de Colombia
Bogotá, Colombia
shernandez@sinchi.org.co

Keywords: *Theobroma grandiflorum*, power, polyphenol, DPPH, Folin-Ciocalteu

Abstract

Several studies show that some foods as fruits, vegetables and grains vary in antioxidant compounds amounts. Copoazú is a wild cacao from the *Sterculiaceae* family, very close related to cacao (*Theobroma cacao*). The Copoazú is neglected specie; which has not been enough characterized in order to establish their industrial uses. Microwave-assisted extraction (MAE) has become a recently tool that improves the extraction process which is spread used in bioactive separation due to operative requirements: less extraction times, low power requirements and high extraction efficiency. Factors such as microwave energy, the irradiation time and the type of solvent can affect the efficiency of the process. This study aimed to optimize the parameters of the microwave assisted extraction using a modified standard microwave, to get the antioxidant compounds from Copoazú dry seeds. Antioxidant compounds were extracted in dry unfermented Copoazú seed by orthogonal statistical test $L_{16}(4)^4$ to optimize microwave-assisted extraction (MAE) technique. Parameters that were evaluated: ratio plant material: solvent- extraction (water), time, power and number extraction cycles. Antioxidant activity was quantified by the

method Radical scavenging 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) expressing the results as TEAC. The high yield was obtained with a ratio plant material: solvent extraction 25 ml/g, power 330 W, time 15 minutes and 2 extraction cycles. According to Stepwise Linear Regression assessed the impact of the variables studied, the cycles of extraction had the highest impact on bio active compound extraction while power had the lowest.

4. Seminario Internacional: Cacao y Chocolate, Nuevos retos en Calidad. Bucaramanga, Colombia. Septiembre 26 Y 27 de 2013.

PÓSTER

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS Y ULTRASONIDO PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE SEMILLAS SIN FERMENTAR DE COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum*)

Yenny Mayerly Herrera Ardila¹; María Soledad Hernández Gómez²; Rafael Humberto Gutiérrez³

1) Maestría Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 2) Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi, 3) Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

ymherreraa@unal.edu.co Instituto Sinchi Avenida Vásquez Cobos entre 15 y 16 Sede Principal Leticia. Calle 20 # 5 – 44 Sede enlace Bogotá D.C

RESUMEN

Las metodologías y técnicas de extracción de compuestos bioactivos varían entre el nivel de tecnología empleado como en la especificidad en el compuesto de interés. La tecnología de microondas se ha convertido en una herramienta que mejora la productividad de los procesos ya que requiere tiempos cortos de extracción, bajos requerimiento de energía y una alta eficiencia. El objetivo de este trabajo fue comparar la eficiencia de la extracción asistida por microondas (EAM) con la de ultrasonido (EAU) en la obtención de compuestos antioxidantes a partir de semillas sin fermentar de Copoazú. En ambas técnicas se trabajó con una relación muestra:solvente (agua) de 1:25 y con un tiempo de extracción de 12 minutos. Los ensayos se realizaron por triplicado para cada caso. La cuantificación de compuestos antioxidantes se realizó por duplicado mediante el método del radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Se encontró que cada una de las técnicas es altamente reproducible ya que los datos no presentaron diferencias significativas. Los resultados encontrados para las técnicas EAM y EAU presentaron diferencias significativas entre ellos. La actividad antioxidante, expresada como porcentaje de inhibición fue de 79.45 % \pm 0.59 para el caso de la EAM y 66.40 % \pm 1.22 para la EAU. En la extracción de compuestos antioxidantes la técnica de EAM es más eficiente que la EAU.