



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITE ESENCIAL  
DE NARANJA EMPLEANDO MEZCLAS DE  
POLISACÁRIDO-PROTEÍNA COMO AGENTES  
ENCAPSULANTES”**

**TESIS**

**Para obtener el título de:**

**INGENIERO QUÍMICO**

**Presenta:**

**MIGUEL ANGEL BASTIDA OCAMPO**

**Dirigido por:**

**DR. CÉSAR PÉREZ ALONSO**



**Toluca, México, 2019**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>1. ANTECEDENTES.....</b>	<b>9</b>
1.1. <b>ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES .....</b>	<b>9</b>
1.1.1 <i>Uso de los aceites esenciales a lo largo de la historia .....</i>	<i>10</i>
1.1.2 <i>Composición de los aceites esenciales .....</i>	<i>11</i>
1.1.3 <i>Aceite esencial de naranja.....</i>	<i>12</i>
1.2. <b>EMULSIONES .....</b>	<b>14</b>
1.2.1 <i>Emulsionantes.....</i>	<i>16</i>
1.2.2 <i>Propiedades de las emulsiones .....</i>	<i>17</i>
1.3. <b>MICROENCAPSULACIÓN .....</b>	<b>18</b>
1.3.1 <i>Secado por Aspersión .....</i>	<i>20</i>
1.3.2 <i>Materiales de pared.....</i>	<i>24</i>
1.4. <b>BIOPOLÍMEROS .....</b>	<b>31</b>
1.4.1 <i>Tipos de biopolímeros.....</i>	<i>32</i>
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>38</b>
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>40</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>42</b>
4.1 <b>OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>42</b>
4.2 <b>OBJETIVOS PARTICULARES.....</b>	<b>42</b>
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
5.1 <b>MATERIALES .....</b>	<b>44</b>
5.2 <b>MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
5.2.1 <i>Formulación de emulsiones del tipo aceite en agua O/W .....</i>	<i>44</i>
5.2.2 <i>Tamaño de gota volumétrico promedio y potencial z de las emulsiones aceite en agua O/W.....</i>	<i>45</i>

5.2.3	Actividad y estabilidad emulsionante .....	45
5.2.4	Capacidad de formación de espuma y estabilidad de la espuma (Índice de cremado) 46	
5.2.5	Determinación de la cinética de coalescencia de emulsiones aceite en agua O/W 46	
5.2.6	Obtención de microcápsulas mediante la técnica de secado por aspersión .....	47
5.2.7	Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersión.....	47
5.2.8	Propiedades físicas de las microcápsulas .....	48
5.2.9	Tamaño promedio de partícula de las microcápsulas.....	49
5.2.10	Evaluación de la eficiencia de encapsulación.....	49
5.2.11	Oxidación lipídica por valor de peróxido del aceite .....	51
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
6.1	CINÉTICA DE COALESCENCIA .....	54
6.2	ACTIVIDAD EMULSIONANTE, ESTABILIDAD EMULSIONANTE, CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA Y ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (INDICE DE CREMADO) .....	55
6.3	POTENCIAL Z.....	56
6.4	PROPIEDADES DE CALIDAD DE LAS MICROCÁPSULAS.....	57
6.5	DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LAS MICROCÁPSULAS.....	59
6.6	EFICIENCIA DE ENCAPSULAMIENTO .....	60
6.7	OXIDACIÓN LIPÍDICA POR VALOR DE PERÓXIDO.....	61
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>66</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b> ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Cinética de coalescencia para emulsiones WPC-GA y PCH-GA con AEN.....	55
<b>Tabla 2.</b> Propiedades de cremado de las emulsiones .....	56
<b>Tabla 3.</b> Potencial zeta .....	57
<b>Tabla 4.</b> Propiedades de calidad de las microcápsulas obtenidas por secado por aspersión.....	58
<b>Tabla 5.</b> Polvos de proteína de suero de leche-goma arábica y proteína de chícharo-goma arábica.....	60
<b>Tabla 6.</b> Aceite superficial y eficiencia de encapsulamiento. ....	61
<b>Tabla 7.</b> Resultados de la emulsión PCH-GA con AEN.....	79
<b>Tabla 8.</b> Resultados de la emulsión WPC-GA con AEN.....	80
<b>Tabla 9.</b> Resultados de los perfiles de oxidación a 25 °C .....	81
<b>Tabla 10.</b> Resultados de los perfiles de oxidación a 35 °C .....	81
<b>Tabla 11.</b> Resultados de los perfiles de oxidación a 40 °C .....	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Equipo de destilación de Clevenger. ....	50
<b>Figura 2.</b> Valores de peróxido del AEN sin encapsular y del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 25°C. ....	63
<b>Figura 3.</b> Valores de peróxido del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 35°C. ....	64
<b>Figura 4.</b> Valores de peróxido del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 35°C. ....	64
<b>Figura 5.</b> Tamaño de gota de la emulsión PCH-GA con AEN a lo largo de 4 semanas. ....	79
<b>Figura 6.</b> Tamaño de gota de la emulsión WPC-GA con AEN a lo largo de 4 semanas. ....	80

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue establecer una metodología para desarrollar sistemas microencapsulantes del aceite esencial de naranja (AEN) empleando como agentes encapsulantes mezclas binarias de proteína-polisacárido como proteína de suero de leche y goma arábiga (WPC-GA) y proteína de chícharo con goma arábiga (PCH-GA), evaluando su funcionalidad como posibles agentes encapsulantes.

La primera parte del trabajo consistió en la obtención de dos tipos de emulsiones del tipo aceite en agua utilizando proteína de suero de leche (WPC) y proteína de chícharo (PCH) en combinación con goma arábiga (GA) como agente emulsionante, y aceite esencial de naranja como material encapsulante con una fracción volumétrica dispersa ( $\phi_{o/w}$ ) de 0.08, con una relación de material de pared respecto al material encapsulado (Wa:Co) de 2:1 teniendo un contenido de sólidos totales de 23.9%.

Se obtuvieron microcápsulas a partir de las emulsiones deshidratadas mediante la técnica de secado por aspersión. Estas microcápsulas fueron objeto de análisis de propiedades de calidad, se determinó el contenido de humedad (obteniendo 3.3% para las microcápsulas con WPC y 2.3% para las microcápsulas con PCH), ángulo de reposo (con un valor de 23.2° para los polvos con WPC y 21.5° para los polvos con PCH), densidad empacada (registrando 0.229 g/mL para la formulación con WPC y 0.34 g/mL para la formulación con PCH), densidad aparente (obteniendo un resultado de 0.206 g/mL para las microcápsulas con WPC y 0.253 g/mL para las microcápsulas con PCH), radio de Hausner (con un valor de 1.1 para WPC y 1.34 para PCH) y compresibilidad de Carr (obteniendo un valor de 10% para WPC y 25% para PCH); encontrando mejores resultados para el sistema con proteína animal.

Se evaluaron las propiedades encapsulantes de las microcápsulas por medio de la eficiencia de encapsulamiento y su estabilidad oxidativa. Los resultados de la formación de peróxidos destacaron el hecho de que ambos polímeros son aptos para la protección de los aceites lábiles ante factores ambientales, retardando la oxidación del aceite y prolongando la vida útil de los microencapsulados a través del tiempo (ocho semanas). Sin embargo, la formulación compuesta con WPC tiene una mayor capacidad para retener la mezcla de aceites en el núcleo esto en base a una eficiencia de encapsulamiento mayor (88%) respecto a la eficiencia de encapsulamiento de la formulación compuesta con PCH (85.1%).

## INTRODUCCIÓN

La naranja dulce pertenece a la familia de las Rutáceas, una familia muy amplia que contiene unas 1700 especies de plantas que crecen en países de clima cálido y templado, siendo el continente africano donde más especies se pueden encontrar. De la anterior familia, las plantas más conocidas son los cítricos, especies que están incluidas en el género *Citrus*, al cual pertenecen la naranja común (*Citrus sinensis*), la naranja china (*Citrus japonica*), la naranja amarga (*Citrus aurantium*), la mandarina (*Citrus reticulata*), el limón (*Citrus limon*), el pomelo (*Citrus paradisi*), la lima (*Citrus aurantifolia*) o la toronja (*Citrus medica*).

Los cítricos se caracterizan fundamentalmente por sus frutos grandes que contienen cantidades abundantes de ácido cítrico, componente con fórmula  $C_3H_4OH(COOH)_3$ , el cual les proporciona el característico sabor ácido.

De la naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, sino que de la cáscara de la naranja se pueden obtener aceites que se utilizan en industrias como saborizantes, agentes de limpieza, cosméticos, perfumes, aromatizantes y fármacos.

Los aceites esenciales se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor.

Debido a que éstos aceites presentan alta volatilidad, son hidrofóbicos, lábiles y susceptibles a degradarse ante la presencia de factores ambientales (luz, temperatura, humedad y oxígeno), un método para su preservación es la encapsulación de éstos mediante el secado por aspersión la cual presenta una alternativa innovadora y de bajo costo añadiendo además un valor nutricional debido a las mezclas de biopolímeros que aportan valores agregados a nuestro producto, no solo para aumentar el tiempo de vida y crear una protección del aceite sino para facilitar el manejo y empleo de éste, sin embargo es de suma importancia analizar las diferentes propuestas de mezclas binarias de biopolímeros las cuales fueron de Proteína de Chícharo (PCH) con Goma Arábiga (GA) y de Proteína de Suero de Leche (WPC) con Goma Arábiga (GA) esto para evaluar una mezcla con proteínas tanto vegetales como animales, analizando los resultados y determinando según los resultados la mezcla más adecuada para nuestro objetivo.

# **ANTECEDENTES**

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

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

Existe un grupo de ácidos grasos que se denominan ácidos grasos esenciales (AGE), los cuales no pueden ser producidos por el hombre y deben ser incorporados a través de la dieta, entre ellos se encuentran ácido araquidónico, los ácidos grasos Omega-3 (ácido  $\alpha$ -linolénico) y los ácidos grasos Omega-6 (ácido linoleico), los cuáles son necesarios para la estructura y flexibilidad de las membranas celulares (McClements *et al.*, 2007).

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

Además, el  $\omega$ -3 y el  $\omega$ -6 están presentes en varios procesos biológicos, tales como la agregación de las plaquetas en sangre y la contracción de los vasos sanguíneos, además que tienen muchas otras funciones biológicas importantes, como participar de los procesos inflamatorios y del desarrollo del tejido nervioso. Son necesarios para el crecimiento, para el desarrollo y para mantener una buena salud; entre sus funciones se encuentran el ser reguladores metabólicos en los sistemas cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor, el ser imprescindibles para preservar la funcionalidad de las membranas celulares y la participación en los procesos de

transcripción genética. El interés mundial en estas sustancias de origen natural está en franco crecimiento (Zabka, *et al.*, 2009).

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

### **1.1.1 Uso de los aceites esenciales a lo largo de la historia**

Aunque las especias se han usado por su perfume, sabor y propiedades preservativas desde la antigüedad solo el aceite de la trementina fue mencionada por griegos y romanos historiadores (Guenther, 1948). La destilación como método de producir aceite esencial se utilizó por primera vez en el este (Egipto, India y Persia) (Guenther, 1948) hace más de 2000 años y no fue hasta el siglo IX cuando fue mejorado por los Árabes (Bauer *et al.*, 2001). El primer escrito auténtico de la destilación de aceite esencial se atribuye a Villanova (hacia 1235-1311), médico catalán (Guenther, 1948). En el siglo XIII, los aceites esenciales eran fabricados por las farmacias y sus efectos farmacológicos fueron descritos en farmacopeas (Bauer *et al.*, 2001) pero su uso no parece haber sido generalizado en Europa hasta el siglo XVI, donde se intercambiaban en la ciudad de Londres (Crosthwaite, 1998).

El primer experimento para la medición de las propiedades bactericidas de los vapores de aceites esenciales fue llevada a cabo por De La Croix en 1881 (Boyle, 1955). Sin embargo, en el curso de los siglos XIX y XX el uso de aceites esenciales en medicina gradualmente se volvió secundario a su uso para sabor y aroma (Guenther, 1948).

El mayor uso de aceite esencial está en la comida (como saborizantes), perfumes (fragancias y lociones) y productos farmacéuticos (por sus propiedades) (Bauer & Garbe, 1985., Van Welie, 1997., Van de Braak, 1999). El uso conocido de aceite esencial en aromaterapia constituye poco más del 2% del mercado total (Van de Braak, 1999).

Los componentes individuales de los aceites esenciales también se usan como saborizantes de alimentos, ya sea extraído de materia vegetal o fabricados sintéticamente (Oosterhaven *et al.*, 1995).

Las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales y sus componentes son explotados en una diversa cantidad de productos comerciales tales como productos dentales (Manabe *et al.*, 1987), antisépticos (Bauer & Garbe, 1985., Cox *et al.*, 2000) y suplementos alimenticios para cerdas lactantes y lechones destetados (Van Krimpen & Binnendijk, 2001., Ilsley *et al.*, 2002). Algunos conservadores que contienen los aceites esenciales ya están disponibles comercialmente.

'DMC Base Natural' es un conservador de alimentos producido por DOMCA S.A., Alhendi'n, Granada, España y comprende 50% de aceites esenciales de romero, salvia y cítricos y 50% de glicerol (Mendoza-Yepes *et al.*, 1997). 'Protecta One' y 'Protecta Two' son mezclas de extractos de hierbas producidos por Bavaria Corp. Apopka, FL, Estados Unidos y están clasificados como aditivos alimenticios seguros en los Estados Unidos (GRAS). Aunque los contenidos precisos no son dados a conocer por el fabricante, los extractos probablemente contienen uno o más aceites esenciales y están dispersos en soluciones de citrato de sodio y cloruro de sodio, respectivamente (Cutter, 2000). Los efectos fisiológicos adicionales de aceites esenciales se usan en productos comerciales diversos, como los supresores de brotes de papa (Hartmans *et al.*, 1995) y repelentes de insectos (Carson & Riley, 1993).

### 1.1.2 Composición de los aceites esenciales

La destilación al vapor es el método más usado para producir aceite esencial de base comercial. La extracción por medio del dióxido de carbono líquido a baja temperatura y alta presión produce un perfil organoléptico natural mayor pero es mucho más caro (Moyler, 1998). La diferencia de un perfil organoléptico mayor indica una diferencia en la composición de los aceites obtenidos por extracción con solvente en lugar de destilación y esto también puede influir en las propiedades antimicrobianas. Esto parece estar confirmado por el hecho que los aceites esenciales de hierbas extraídas con hexano tienen una mayor actividad antimicrobiana que los correspondientes aceites obtenidos por destilación a vapor (Packiyasothy & Kyle, 2002).

Los aceites esenciales son volátiles y, por lo tanto, necesitan ser almacenados en contenedores herméticos en la oscuridad para evitar cambios en la composición.

Los principales componentes de los aceites esenciales económicamente interesantes se resumen por (Bauer *et al.*, 2001). Composición detallada del análisis se realiza por cromatografía de gases y espectrometría de masas del aceite esencial (Delaquis *et al.*, 2002). Los aceites esenciales pueden comprender más de sesenta componentes individuales (Senatore, 2000). Los mayores componentes pueden constituir hasta el 85% del aceite esencial, mientras que otros componentes solo están presentes como un rastro (Bauer *et al.*, 2001). Los componentes fenólicos son los responsables de las propiedades antibacterianas (Cosentino *et al.*, 1999).

En general, los aceites esenciales producidos a partir de hierbas durante o inmediatamente después de la floración poseen la actividad antimicrobiana más fuerte (Marino *et al.*, 1999). Enantiómeros de componentes de aceites esenciales han demostrado exhibir actividad antimicrobiana en diferentes grados (Lis-Balchin *et al.*, 1999). La composición del aceite esencial de diferentes partes de la misma planta también puede diferir ampliamente. Por ejemplo, aceite esencial obtenido de las semillas de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) tiene una composición bastante diferente al aceite esencial de cilantro, que se obtiene de las hojas inmaduras de la misma planta (Delaquis *et al.*, 2002).

### **1.1.3 Aceite esencial de naranja**

La agro-industrialización de la naranja se concentra principalmente en la producción de jugos. Durante este proceso, entre el 23 y 40% en peso de la fruta se obtiene como desecho principal, generando un problema ambiental en la disposición de los mismos. Una parte de estos desechos de cascara son utilizados como alimento animal, sin embargo las cascara de naranja tienen compuestos como los aceites esenciales y las pectinas que pueden ser aprovechados para generar un mayor valor agregado al proceso (Cerón-Salazar & Cardona-Alzate, 2011).

El aceite esencial de naranja (AEN) es un antidepresivo, sedante, los aroma terapeutas creen que este aroma ayuda a mejorar la comunicación y es muy efectivo en contra de la celulitis, porque

ayuda a activar la circulación. Se utiliza en la industria de fármacos y como cosméticos porque limpia y revive la piel opaca, ayudando la eliminación de excesos de fluidos y toxinas, también es usado por sus propiedades germicidas, antioxidantes y anti cancerígenas en la producción de fármacos.

Sé determinó que los aceites esenciales de limón, naranja y bergamota tienen efectos bactericidas contra *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* (Fisher & Phillips, 2006). Los efectos antifúngicos de los aceites esenciales cítricos se han comprobado contra *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* y *Saccaromyces cerevisiae* (Belletti *et al.*, 2004).

El aceite esencial de naranja se encuentra principalmente en sacos de forma ovalada en el flavedo o en la porción anaranjada de la cascara y actúa como una barrera toxica natural para muchos microorganismos e insectos. La recuperación del aceite se efectúa generalmente por métodos mecánicos "presión en frío de la cascara", sin embargo también se realiza el proceso de extracción del aceite por medio de hidrodestilación (HD), destilación con vapor (VD), hidrodestilación asistida por microondas (MWHd), extracción con solvente (SE) y extracción con fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub>) (SFE). La calidad del aceite depende de factores que influyen sobre la composición como las condiciones geobotánicas del medio (clima, altitud, tipo de suelo, cantidad de lluvias, etcétera.), edad de la planta y estado fenológico, método de cultivo (uso de fertilizantes, abono, pesticidas, otros químicos, etcétera.), época de recolección, modo de manejo y almacenamiento del material vegetal (fresco, seco, fermentado, etcétera.) y método de obtención del aceite (destilación, maceración, prensado, extracción con solventes, extracción con fluidos supercríticos, etcétera.)

El aceite esencial de naranja, que se encuentra en la corteza o cáscara, contiene componentes bioactivos antimicrobianos que incluyen cumarinas, flavonoides (flavona, flavanona a los flavonoides), carotenoides, terpenos y linalol (Gupta *et al.*, 2014). El aceite esencial de naranja se compone de limoneno (90%), que es básicamente un sesquiterpeno, y también contiene sabinen, mirceno, acetato de linalilo, linalool, citronelal, citronelol, neral y geranial. La composición de los aceites esenciales varía dependiendo del cultivo de naranja (Hamdan *et al.*, 2013).

## 1.2. EMULSIONES

Las emulsiones simples son sistemas dispersos formulados con dos líquidos inmiscibles, en donde uno está disperso (fase dispersa) en forma de gotas microscópicas en el otro (fase continua), un sistema que consiste en gotas de aceite dispersadas en una fase acuosa se llama emulsión de aceite en agua (O / W), mientras que un sistema que consiste en gotas de agua dispersadas en una fase de aceite se llama emulsión agua en aceite (W / O). También se han desarrollado emulsiones múltiples, como emulsiones de aceite en agua en aceite (O / W / O) o agua en aceite en agua (W / O / W) (Bakry *et al.*, 2016)., la viscosidad de la fase continua tiende a ser baja; para romper las gotas se requieren fuerzas de inercia (las cuales son producidas por las rápidas e intensas fluctuaciones de presión debidas al flujo turbulento (Walstra & Dickinson, 1987), obtenidas por agitación; formándose una película interfacial entretejida, gruesa, viscoelástica, con un alto potencial de repulsión estérica, que retarde los fenómenos de inestabilidad (floculación y coalescencia).

En la formulación de sistemas de emulsiones, se distinguen dos tipos de ingredientes: el agente *emulsificante* y el *estabilizador* que generalmente es un biopolímero, proteínas o polisacáridos. Ahora bien, existen dos tipos de emulsificantes, los surfactantes o tensoactivos de bajo peso molecular (monoglicéridos, lecitina, etc.) y emulsificantes macromoleculares (proteínas, gomas, almidones, maltodextrinas, gelatinas, etc.) (Walstra & Dickinson, 1987). La formación de una emulsión involucra la dispersión, la humectación, el hinchamiento y la disolución de los biopolímeros. La efectividad y la velocidad de disolución dependen de muchos factores, como el pH, fuerza iónica, temperatura y composición de la fase acuosa, así como de esfuerzos cortantes.

Existen diferentes sectores de la industria donde se han utilizado emulsiones para la elaboración de productos, tal es el caso de la industria alimenticia en la que se han utilizado emulsiones de soluciones de goma arábiga y aceite de soya produciendo microcápsulas con un contenido de aceite del 20 al 28% utilizando el método de secado por aspersión (Walstra & Dickinson, 1987).

Una vez que una emulsión de gotas pequeñas ha sido preparada, lo importante para lograr una estabilidad a largo plazo es que el biopolímero adsorbido produzca una barrera macromolecular robusta en la interfase.

La estabilidad en una emulsión describe la capacidad de la misma para resistir cambios en sus propiedades respecto al tiempo, así como la eficacia de los agentes emulsificantes y estabilizadores, además de tener una adecuada homogeneización del sistema es posible garantizar la uniformidad en el tamaño y distribución de las partículas de la fase dispersa.

Una emulsión puede llegar a desestabilizarse debido a procesos físicos resultado de la alteración en la distribución estructural de las moléculas como son el cremado y la sedimentación, ambos fenómenos son formas de separación gravitacional. El cremado describe el movimiento ascendente de las gotas debido a que poseen una menor densidad que la fase circundante, mientras que la sedimentación describe el movimiento descendente de las gotas debido a que tienen mayor densidad que la fase circundante., y a los procesos químicos que resultan de una alteración en su estructura química, como los son la oxidación e hidrólisis.

Las inestabilidades que se pueden asociar comúnmente a la agregación de gotas dentro de una emulsión son (Kabalnov, 1998., Dalglish, 2006):

- a) La floculación, que es una agregación tridimensional reversible de las gotas dispersas y de su eventual separación en un campo gravitacional, por ejemplo, el cremado o la sedimentación.
- b) La coalescencia, que es una fusión irreversible de las gotas dispersas para crear unas gotas más grandes con la eliminación de la interfase líquido/líquido, conducente a una reducción del área interfacial, y por ende de la energía libre superficial del sistema. Por lo tanto, eventualmente la emulsión se separa en fases individuales discretas. Este cambio irreversible requiere un aporte extra de energía para restablecer la distribución de tamaño de partícula original.

Algunos factores que afectan la estabilidad de una emulsión son (Kabalnov, 1998., Dalglish, 2006):

- a) Una barrera energética que es electrostática en origen y que influye en la tasa de floculación y la distancia que en términos finales, separa a las gotas en los agregados tridimensionales.
- b) Una barrera estérica alrededor de las gotas de la fase dispersa, cuya estructura y propiedades influenciarán su resistencia a la ruptura y consecuentemente a la tasa de coalescencia.
- c) Procesos químicos, bioquímicos y biológicos como la oxidación lipídica, hidrólisis enzimática y crecimiento microbiológico afectan de manera adversa la vida útil y la calidad de la emulsión.

En la industria de los alimentos, los diámetros de las gotas que se encuentran dispersas en la fase continua se encuentran en el intervalo de 0.10 y 100  $\mu\text{m}$ . Aunque se trate de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en sistemas cinéticamente estables por un periodo de tiempo (días, semanas, meses, años) gracias a la presencia de agentes estabilizantes que pueden ser clasificados en agentes emulsionantes y agentes que modifican la textura (Fang & Bhandari, 2010).

Los emulsionantes son moléculas con actividad superficial que se adsorben en la superficie de las gotas durante la homogeneización, formando una membrana protectora que previene que dichas gotas se acerquen y formen agregados. La mayoría de los emulsionantes son moléculas anfifílicas que tienen una región polar y otra no polar (fosfolípidos, proteínas y polisacáridos).

Los agentes que son capaces de modificar la textura, mejoran la estabilidad de la emulsión, ya que retardan el movimiento de las gotas, pueden ser divididos en agentes espesantes y agentes gelificantes. Los agentes espesantes son ingredientes que pueden ser usados para incrementar la viscosidad de la fase continua de la emulsión y los agentes gelificantes son ingredientes que se usan para formar geles.

### **1.2.1 Emulsionantes**

Los emulsionantes son sustancias con actividad superficial capaces de adsorberse en la interfase aceite-agua durante la homogeneización, deben formar una membrana interfacial resistente a la ruptura y proporcionar una fuerza repulsiva entre las gotas, reducen la tensión superficial proporcionando protección a la emulsión para evitar la agregación de gotas (floculación y coalescencia). Los emulsionantes más usados son tensoactivos y biopolímeros con actividad superficial. Estos emulsionantes varían ampliamente en su capacidad para formar y estabilizar emulsiones, dependiendo de la estructura molecular y características fisicoquímicas.

La selección del emulsificante debe considerar el tamaño de las gotas que serán formadas, la cantidad de surfactante requerido y la velocidad a la cual adsorbe las gotas producidas, ya que determina el mínimo tamaño de gota; mientras más rápida sea la velocidad de adsorción, menor será el tamaño (McClements, 1999). Además de considerar el costo, calidad, tiempo de vida, compatibilidad con otros ingredientes, propiedades fisicoquímicas del producto final, facilidad de manejo y distribución.

La industria alimentaria busca comparar las propiedades funcionales de los emulsificantes analizando los parámetros del proceso y formulación del producto, por ejemplo (McClements, 1999):

- a) El mínimo tamaño de gota debido a la cantidad de emulsificante empleado para formular una emulsión.
- b) La mínima cantidad de emulsificante requerido para producir el tamaño de gota deseado usando condiciones específicas de homogeneización.
- c) La estabilidad a largo plazo de la emulsión empleando un emulsificante específico.

La goma arábica y la goma de mezquite son reconocidas como excelentes agentes emulsificantes. Ambas gomas poseen la habilidad de formar películas y se ha establecido que son genuinos emulsificantes que forman capas estabilizantes macromoleculares alrededor de gotas de aceite (Rodríguez-Huezo *et al.*, 2004).

### **1.2.2 Propiedades de las emulsiones**

Es posible definir la composición de la emulsión a través de diferentes caminos, por ejemplo, concentración específica de átomos (H, C, O, N, Na, Mg, Cl), concentración de moléculas específicas (agua, sacarosa, amilosa), concentración de ingredientes con propiedades funcionales (aceite, emulsificantes, conservadores), concentración de una determinada clase de moléculas (proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales) (McClements, 1999).

En la formulación de una emulsión, es importante considerar (Dalglish, 2006):

- a) El tipo, cantidad y calidad del emulsionante.
- b) La relación entre ingredientes (agente emulsionante y agente emulsionado).
- c) El orden en que se añaden los ingredientes de la emulsión.

Las propiedades de la emulsión que son más evidentes y por ende más importantes son: facilidad de dilución (generalmente con agua, aunque en ocasiones con algún disolvente selectivo), viscosidad, color, estabilidad. Para un tipo dado de emulsificación, estas propiedades dependen de lo siguiente (McClements, 1999):

- a) Las propiedades de la fase continúa.
- b) El tamaño promedio de gota de la emulsión.
- c) La relación entre la fase continua y la fase dispersa.
- d) Tensión superficial.

### **1.3. MICROENCAPSULACIÓN**

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

incrementar la vida de anaquel del producto y promoviendo la liberación controlada del encapsulado (Bertolini *et al.*, 2001., Shahidi & Han, 1993).

La microencapsulación en Tecnología de Alimentos ha llegado a ser una propuesta atractiva para transformar aditivos alimenticios líquidos (componentes volátiles, aceites esenciales y oleorresinas) en polvos estables que puedan fluir libremente, que sean fáciles de manejar e incorporar a una mezcla de alimento seco, preservando sus características naturales y optimizando su uso (McNamee *et al.*, 1998).

Las principales razones para el uso de la microencapsulación son; brindar protección al producto del ambiente que lo rodea (temperatura, humedad, radiación ultravioleta y de productos peligrosos o tóxicos), disminuye la evaporación y el control de la velocidad de emisión del material del núcleo bajo condiciones deseadas, recubre las propiedades no deseadas del componente activo (ocultar olor o sabor y propiedades químicas tales como pH o actividad catalítica). Existen varios métodos de encapsulación, los cuales se pueden dividir en tres grupos (Shahidi & Han, 1993).

- a) *Procesos físicos*: Secado por aspersión, extrusión, cristalización.
- b) *Procesos químicos*: Polimerización interfacial, inclusión molecular.
- c) *Procesos fisicoquímicos*: Coacervación simple o compleja (separación de la fase acuosa), evaporación de solvente en la emulsión (separación de la fase orgánica), solidificación de la emulsión.

La selección del método de encapsulación está en función del tamaño de partícula requerida y las propiedades fisicoquímicas del agente encapsulante y la sustancia a encapsular, las aplicaciones para el material, de los mecanismos de liberación y costos (Ré, 1998).

En la microcápsula, al contenido interior se denomina núcleo, fase interna, relleno o agente activo, a la capa exterior, se le llama material portador, coraza, capa, red, matriz o agente encapsulante, la cual puede variar en su espesor o en el número de capas y generalmente no reacciona con el material a encapsular (Dziezak, 1988).

Las barreras poliméricas se forman por una parte permeable con alta porosidad o una menos permeable con baja porosidad, lo cual determina el comportamiento de liberación de los materiales

del núcleo y la morfología de las microcápsulas (geometría esférica, irregular y pueden tener la fase interna distribuida en una matriz de material de pared) (Park *et al.*, 2001., Shahidi & Han, 1993).

Los mecanismos de liberación de las cápsulas se pueden llevar a cabo por una disolución normal en agua o solvente orgánico, por esfuerzos de cizalla, temperatura, cambios en la presión osmótica, reacciones químicas y enzimáticas.

Las dos etapas principales en la microencapsulación es el emulsionamiento del material a encapsular utilizando materiales de barrera como los biopolímeros (Shaikh *et al.*, 2004) y la otra etapa es el secado, formándose una capa protectora lo suficientemente densa y al mismo tiempo fina para evitar mecanismos difusivos al y del interior de las microcápsulas, siendo el secado por aspersión el método que domina en gran parte el mercado de microencapsulación de saborizantes (Ré, 1998).

### **1.3.1 Secado por Aspersión**

El secado por aspersión como método para formar microcápsulas, es ampliamente usado en la industria de los alimentos debido a que es un método económico, versátil y efectivo en la protección de materiales termolábiles (Adamiec & Kalemba, 2006).

El principio de operación del secado por aspersión es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión o disolución en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión quede atrapado dentro de una película de material encapsulante, el polvo seco que se obtiene cae al fondo cónico de la cámara y luego es extraído mediante una corriente de aire hasta un colector de polvos (Gharsalloui *et al.*, 2007).

Con el fin de obtener un secado rápido, la atomización de la alimentación debe proporcionar pequeñas partículas de elevada relación superficie/peso. Con esta finalidad, se pueden utilizar boquillas de aspersión o discos que giren rápidamente.

Las boquillas de aspersión son generalmente de dos tipos: las boquillas a presión, en las cuales el líquido se bombea a una presión elevada, con un movimiento circular rápido a través de un pequeño orificio y las boquillas de doble fluido en las cuales se emplea un gas como aire o vapor a presiones relativamente bajas para separar al líquido en pequeñas gotas (Ré, 1998., Langrish & Chiou, 2008).

Para el secado por aspersión, generalmente se aplica un flujo de aire en contracorriente. La rápida evaporación del agua de las emulsiones o disoluciones durante la solidificación de la película superficial mantiene la temperatura central por debajo de 100°C, a pesar de las altas temperaturas (mayores a 150°C) empleadas en el proceso. La exposición al calor de las partículas es de segundos, ya que, existen materiales como sabores o aceites que contienen componentes con diferentes puntos de ebullición y es posible perder determinados compuestos durante el proceso.

La etapa inicial en la encapsulación de aceites y/o sabores, es la adecuada selección del agente encapsulante (básicamente para la formación de la película polimérica), dependiendo del material a encapsular y de las características deseadas del encapsulado final. El agente encapsulante ideal debe tener propiedades emulsificantes, formar una buena película polimérica, poseer baja viscosidad en altos niveles de sólidos, tener baja higroscopicidad, que libere el ingrediente activo cuando el encapsulado se reconstituya en un producto alimenticio terminado, tener bajo costo, suave en el sabor y ofrecer una buena protección a los encapsulados.

Después de seleccionar el agente encapsulante adecuado, este debe ser rehidratado con agua, esto es particularmente importante para activar la superficie polimérica y exhibir las propiedades emulsificantes durante la formación de la emulsión (Jafari *et al.*, 2008).

### **1.3.1.1 Condiciones del secado por aspersión**

Si la emulsión inicial es estable, con óptimas condiciones de viscosidad y tamaño de gota, la eficiencia de encapsulación puede ser maximizada por la elección correcta de los parámetros de secado, como la temperatura de entrada y salida de aire del secador, el tipo y las condiciones de

atomización, del flujo de entrada de aire al secador, de la humedad y del tamaño de las partículas (Jafari *et al.*, 2008).

#### *Tamaño de partícula.*

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

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

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

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

Jafari *et al.* (2008) investigaron la función del tamaño de partícula en la eficiencia de encapsulación de aceites. Mostraron que las partículas con tamaño medio (27-37  $\mu\text{m}$ ) son las que presentaron mayor eficiencia de encapsulamiento (82-85%). Aunque el papel del tamaño de partícula no está claro, a menudo es deseable producir partículas más grandes para facilitar la rehidratación.

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

#### *Flujo de aire y humedad en el secador por aspersión.*

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

#### *Temperatura de aire a la entrada del secador.*

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

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

Liu *et al.* (2000) demostraron que la retención de *d*-limoneno fue independiente de la temperatura de entrada del aire, mientras que la retención de etil butirato aumentó ligeramente cuando la temperatura se incrementó de 40°C a 100°C. Además explicó que a una temperatura de entrada de aire alrededor de 115°C, la partícula sufre cambios morfológicos de inflación cíclica y la retención de etil butirato y propionato de etilo disminuyeron abruptamente debido a la ruptura de estas emulsiones.

#### *Temperatura de aire a la salida del secador.*

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

Por ejemplo, Reineccius *et al.* (2004) encontraron que la retención de los compuestos volátiles como el diacetilo mejora con el aumento de la temperatura de salida de aire, probablemente debido

a que existe una mayor rapidez en el secado, y por lo tanto una mejor retención de sabores y aceites esenciales.

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

Beristain *et al.* (2001) encapsularon aceite de cardamomo empleando goma de mezquite. La eficiencia de microencapsulación fue de 83.6% con la relación de agente encapsulante con respecto al material encapsulado 4:1.

Soottitantawat *et al.* (2005) microencapsularon tres saborizantes *d*-limoneno, etil butirato y etil propionato, empleando mezclas de goma arábica y almidón modificado con maltodextrina. La conclusión a la que llegaron fue que a tamaños promedio de gota de las emulsiones de 1.5 a 3.5  $\mu\text{m}$  se obtuvieron los mayores porcentajes de retención de los saborizantes (90% *d*-limoneno, 60% etil butirato, 58% etil propionato).

### 1.3.2 Materiales de pared

La eficiencia de encapsulación depende en gran parte del agente encapsulante, estos materiales de barrera son seleccionados dependiendo de la naturaleza química de los componentes del sabor, del proceso de encapsulación y del uso de a las microcápsulas. Las cápsulas de saborizantes son adicionadas a los alimentos, de ahí que como requisito fundamental es que el material de pared sea comestible, no tóxico y libre de olores fuertes.

El agente encapsulante tendrá influencia en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades de flujo y mecánicas, en un proceso de secado más rápido y económico al formular emulsiones con altos contenidos de sólidos y en la vida útil del material deshidratado (Ré, 1998., Pedroza-Islas *et al.*, 1999).

Existe una amplia variedad de materiales para cobertura que pueden ser usados para encapsular ingredientes alimentarios con la formación de microcápsulas por secado por aspersión:

- a) *Carbohidratos*: Almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados.
- b) *Gomas*: Arábica, mezquite, alginato de sodio
- c) *Lípidos*: Ceras, parafinas, grasas, monoglicéridos, diglicéridos, aceites, cera de abejas.
- d) *Proteínas*: Gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína
- e) *Celulosa*: Carboximetil celulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, nitrocelulosa, acetilcelulosa.

Un material de pared ideal debe tener buenas propiedades reológicas a altas concentraciones y fácil manipulación durante el proceso de encapsulación, capacidad de estabilizar, dispersar o emulsificar el material activo, no debe reaccionar con el material a ser encapsulado; sin embargo, debe retener el material activo dentro de su estructura durante el proceso y almacenamiento.

La funcionalidad de un material de pared radica en proveer máxima protección al material activo contra las condiciones ambientales (calor, luz, humedad), debe permitir la liberación completa del solvente, material activo o de otros materiales que son usados durante el proceso de encapsulación o durante el secado y finalmente ser agentes económicos de grado alimenticio (Shahidi & Han, 1993).

El criterio fundamental para la selección de un buen material de pared es su capacidad para retener al material del núcleo dentro de su estructura durante el proceso y almacenamiento (Beristain *et al.*, 2001). La estructura de la película adsorbida alrededor del material encapsulado determinará en gran medida la protección que se brindará durante el proceso de secado y durante su posterior almacenamiento.

### 1.3.2.1 Propiedades de los biopolímeros como agentes encapsulantes

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

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

La solubilidad de biopolímeros para la formación de una emulsión, está determinada por una combinación de interacciones de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, estéricas e hidrofóbicas; que promueven la agregación, existiendo una baja solubilidad y las electrostáticas; que pueden ser atractivas o repulsivas incrementando o disminuyendo la solubilidad (McClements, 1999).

En la microencapsulación mediante secado por aspersion, seleccionar el agente encapsulante es una etapa importante ya que puede influir en las propiedades de la emulsión antes de la etapa de secado, en la retención de aceites volátiles durante el proceso y de las microcápsulas después del secado (Gharsalloui *et al.*, 2007).

Los biopolímeros proporcionan una importante fuente de energía y nutrientes esenciales en la dieta humana. Además tienen la posibilidad de modificar la apariencia, textura, estabilidad y sabor de emulsiones alimenticias debido a sus características funcionales (capacidad para estabilizar espumas y emulsiones, formar geles, y aumentar la viscosidad en soluciones) (McClements, 1999).

Los biopolímeros formadores de pared más utilizados son carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, derivados de celulosa); gomas (arábica, mezquite, xantana);

lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (proteína de soya, caseinatos, suero de leche) (Jafari *et al.*, 2008., Madene *et al.*, 2006)

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

Drusch *et al.* (2006) han demostrado que los materiales de pared basados en almidón modificado conducen a una buena retención de volátiles y por lo tanto, a que existan cantidades pequeñas de aceite sin encapsular en la superficie de las partículas.

Entre los materiales de pared, la goma Arábica (exudado del árbol Acacia Senegal) ha sido el ingrediente más popular y común para el secado por aspersión de aceites y sabores, ya que cuenta con propiedades emulsificantes que permiten una excelente retención de compuestos volátiles. Pero en los últimos años, su alto costo y la disponibilidad limitada, han dificultado el uso de la goma Arábica a pesar de sus capacidades excepcionales de emulsificación, por lo que se han buscado otros materiales de pared que puedan sustituir a este biomaterial (Fang *et al.*, 2005).

La goma de mezquite es un exudado gomoso en forma de lágrima producida por el árbol de mezquite (*Prosopis leavigata*); químicamente es un polisacárido, cuyas propiedades químicas, macromoleculares y funcionales son similares a las de la goma arábica. La goma de mezquite posee la habilidad de encapsular aromas, sabores, pesticidas, fármacos (propiedades encapsulantes); la capacidad para enlazar moléculas de agua y grasa (propiedades emulsionantes) (Vernon-Carter *et al.*, 1996).

El estudio de las propiedades encapsulantes del exudado de la goma de mezquite, se han intensificado en los últimos años, debido a su habilidad para formar películas viscoelásticas en la interfase agua-aceite, actúa también como agente estabilizante al poseer grupos hidrofóbicos e hidrofílicos. Tiene la propiedad de inmovilizar las moléculas de agua a través de sitios específicos hidrófilos e ionizables presentes en su estructura. Aquellos que contienen proteína son buenos

estabilizadores, ya que tienen suficientes grupos hidrofóbicos para actuar como puntos de anclaje o de unión. Así mismo, contienen muchos grupos hidrofílicos para reducir la tensión de superficie en una interfase líquido-líquido o líquido-gas. Vernon-Carter *et al.* (1998) ha realizado investigaciones con la goma de mezquite y ha atribuido que el mecanismo de emulsificación está estrechamente relacionado con el contenido de proteína que posee la goma.

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

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

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

El suero de leche es una sustancia acuosa remanente después de la coagulación de la caseína en la leche, a través de la adición de ácido (como en la manufactura de caseína) o a través de la acción de una enzima (como en la manufactura de queso).

Claramente, la composición del suero de leche varía considerablemente, dependiendo del origen de la leche y los procesos de manufactura involucrados. Las propiedades funcionales importantes incluyen: solubilidad, espumado, gelación, emulsificación, elasticidad, viscosidad y características organolépticas. Las proteínas de suero de leche se emplean como efectivos emulsificantes,

facilitando la fina dispersión del material a encapsular ya sea simplemente por la actividad superficial o por el fortalecimiento de la capacidad de emulsificación, poseen la característica de una alta hidrofobicidad, la cual permite la interacción apolar con el material a encapsular (McClements, 2004).

### 1.3.2.2 Características de la emulsión

*Contenido de sólidos totales en la emulsión.*

Es el factor más importante que determina la eficiencia de encapsulamiento de aceites. Cuando se tiene un alto contenido de sólidos en la emulsión se aumenta la retención de aceite, principalmente porque se reduce el tiempo necesario para formar la membrana semipermeable en la superficie de la partícula en el proceso de secado por aspersion. También el alto contenido de sólidos aumenta la viscosidad, impidiendo el movimiento de las gotas dentro de la emulsión.

Sin embargo, al aumentar el contenido de sólidos en la emulsión adicionando un agente encapsulante superior a su solubilidad, dificulta el encapsulamiento y conduce a una pobre retención de aceite durante el proceso de secado. El efecto del contenido de sólidos en la eficiencia de encapsulamiento depende también del material encapsulado (Sootitawat *et al.*, 2005).

Liu *et al.* (2000) demostró que la retención de *d*-limoneno (> 95%) fue independiente de la concentración inicial de sólidos, mientras que la retención de etil butirato y etil propionato se vio afectada significativamente por la concentración de sólidos totales y mostraron que particularmente con el 25% de sólidos totales en la emulsión, la retención fue incrementando considerablemente con el aumento de la concentración, posiblemente debido a la rápida formación de la membrana superficial.

Por lo tanto, la concentración inicial de sólidos totales en la emulsión tiene una influencia pronunciada sobre el rendimiento de encapsulación de aceites y compuestos volátiles (Jafari *et al.*, 2008).

### *Viscosidad de la emulsión.*

Un aumento en la viscosidad de la emulsión inicial, debe ayudar a la retención de compuestos volátiles debido a la reducción del movimiento de las gotas y la rápida formación de la membrana. El aumento de la concentración de sólidos en la emulsión inicial es favorable hasta un punto donde la viscosidad sea óptima.

El aumento de la viscosidad en la emulsión hasta un punto óptimo suprime las circulaciones internas y oscilaciones de las gotas, por lo que ayuda a la estabilidad de la emulsión. Sin embargo, el aumento de la viscosidad más allá del límite óptimo causa una disminución de la retención de aceite, debido a la dificultad en la formación de encapsulados, ya que pueden producirse partículas irregulares (oval, cilíndrica y fibrosa) (Ré, 1998).

### *Estabilidad de la emulsión.*

La eficiencia de encapsulación de aceites y sabores está influenciada por la estabilidad de la emulsión inicial, a mayor estabilidad existirá una mayor eficiencia (Jafari *et al.*, 2008).

Hogan *et al.* (2001) mostró que la eficiencia de microencapsulación de aceite de soya, utilizando proteína de suero de leche y mezclas de carbohidratos, se correlacionó negativamente con el tamaño de gota de la emulsión.

### *Tamaño de gota de la emulsión.*

Algunas investigaciones han demostrado que al disminuir el tamaño de gota de la emulsión, se incrementa la eficiencia de microencapsulación de aceites y sabores mediante el proceso de secado por aspersión.

Una de las ventajas de producir una emulsión con tamaños de gotas pequeños, es que se logra una mayor estabilidad, que es crítico durante el proceso de secado por aspersión.

El tamaño de gota de la emulsión puede también afectar las características del encapsulado final, incluido el aceite superficial y el contenido de aceite encapsulado (Soottitantawat *et al.*, 2005).

Minemoto *et al.* (2002) reveló que el microencapsulado de ácido linoleico empleando el tamaño de gota más pequeño en la emulsión, se oxidó más lentamente que las microcápsulas elaboradas a partir de los tamaños más grandes, debido a que las primeras partículas presentaron cantidades menores de aceite no encapsulado en la superficie.

Resultados similares mostraron Soottitantawat *et al.* (2005) ya que para diferentes materiales de pared (goma Arábica, maltodextrina), el creciente diámetro de la gota de aceite en la emulsión, resultaba en una disminución en la retención de *d*-limoneno.

El aceite no encapsulado podría explicarse por la ineficiente encapsulación de las gotas grandes y de la ruptura de la emulsión durante el proceso de secado. El contenido de aceite superficial en los encapsulados es muy importante para el adecuado almacenamiento de las microcápsulas, ya que dicho aceite está expuesto a la oxidación y fácilmente puede presentar fenómenos deteriorativos.

Por lo tanto, las emulsiones con el menor tamaño de gota pueden contribuir a mantener el material activo en el interior de las partículas y los encapsulados podrían almacenarse por un periodo más largo (Reineccius, 2004).

#### **1.4. BIOPOLÍMEROS**

Son sustancias poliméricas naturales. Son especies químicas de alto peso molecular, gran tamaño y forma predominantemente alargada que forman parte de las paredes celulares de células animales y vegetales así como de exoesqueletos (esqueleto exterior) de invertebrados y endoesqueletos (esqueleto interior) de vertebrados.

Los polímeros “bio” consisten en un tipo de materiales que pueden sustituir a los tradicionales materiales plásticos en varias aplicaciones, con enormes ventajas de carácter ambiental: Bajo impacto ambiental, el bajo consumo energético involucrado en su

producción. Actualmente la producción de este tipo de materiales es incentivada por las ventajas que comporta a nivel ambiental y por el aumento del precio del petróleo y de consecuencia de todos los derivados petroquímicos utilizados para la producción de materiales plásticos tradicionales.

Desde los años '90, con la creciente preocupación por el medio ambiente y el desarrollo sostenible, se utilizan cada vez más los biomonómeros para producir polímeros “tradicionales”, en vez de usar los derivados del petróleo (Anon, 2019).

### **1.4.1 Tipos de biopolímeros**

#### **1.4.1.1 Biopolímeros naturales**

De entre los polímeros naturales más comunes son los polímeros sintetizados por los seres vivos. A continuación se describen algunos de los biopolímeros más comunes.

##### *Ácidos nucleicos*

Los ácidos nucleicos pueden ser considerados, tal vez, los biopolímeros más importantes ya que son los portadores de la información genética heredada entre generaciones. El ADN es un biopolímero presente en los núcleos de las células, formando parte de los cromosomas, y portando la información genética del ser vivo.

##### *Proteínas*

Las proteínas, formadas por uniones peptídicas entre aminoácidos tienen una función capital en los seres vivos, ya que participan en distintas funciones biológicas. Entre estas se incluyen funciones estructurales (p. ejemp. colágeno), funciones catalíticas (p. ejemp. enzimas) o inmunológicas (anticuerpos o inmunoglobulinas).

Entre muchos ejemplos de proteínas destaca la proteína de suero de leche concentrada la cual fue empleada como uno de los componentes de la mezcla utilizada como material de pared de las microcápsulas estudiadas en éste trabajo. La proteína de suero o proteína de suero de leche se obtiene del líquido (suero) que se produce durante la coagulación de la leche en el proceso de elaboración del queso.

No obstante, su mayor virtud es su fácil digestión: el organismo la absorbe mucho más rápido que cualquier otra proteína. Una vez separado el suero de la leche, este se somete a un procesamiento a través del cual se obtiene la proteína de suero en polvo.

De acuerdo con el nivel de procesamiento, se obtienen 3 tipos de proteína de suero:

- Concentrado de proteína (WPC): es la más común y más económica, contiene entre un 30 y 85 % de proteína.
- Proteína aislada (WPI): más pura, pero más procesada; contiene entre un 85 y 90 % de proteína.
- Proteína hidrolizada (WPH): tras un proceso de hidrólisis, se consigue una proteína aún más fácil de digerir y metabolizar; su precio es bastante elevado.

### *Polisacáridos*

Los polisacáridos son polímeros resultantes de la condensación acetálica de monosacáridos simples. Los polisacáridos suelen tener funciones estructurales (celulosa, quitina, pectinas, alginatos etc) pero también funciones de reserva energética en el reino vegetal (amilosa, amilopectina, inulina) y en el reino animal (glucógeno).

La goma arábiga la cual fue el segundo componente de nuestra mezcla de biopolímeros utilizados como material de pared, es considerada como un polisacárido de origen natural, que se produce como una secreción resinosa que se conoce como gummosis; ésta aparece sobre lesiones y grietas en la corteza de árboles como el de la Acacia senegal y Acacia seyal.

La goma arábiga aparece en los árboles con el único objetivo de proteger a éstos contra la aparición de enfermedades y propagación de plagas. De esta manera, si la corteza de un árbol se corta, se producirá goma para cerrar los agujeros.

Esta resina es generalmente de color ámbar y se recolecta normalmente a mano una vez seca.

La goma arábiga se compone de distintos polisacáridos y ácidos, por ejemplo: D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa, D-glucorónico o el 4-O-metil-D-ácido glucorónico.

La goma arábica es fácilmente soluble en agua a temperatura ambiente, pero es insoluble en alcohol.

Se ha utilizado desde hace muchos años, generalmente en varias industrias para diferentes aplicaciones, como:

- Pegamento en sellos y sobres postales, sobretodo en la industria del papel y adhesivos.
- Dentro de la industria alimenticia la goma arábica es conocida como E414, la cual tiene varias aplicaciones, por ejemplo, en la producción de caramelos masticables, es utilizada como fijador de aromas, estabilizante de espumas y emulsiones y como modificador de la consistencia de varios alimentos.
- En la industria farmacéutica, la goma arábica se utiliza para fabricar ciertos medicamentos.
- En la industria vitivinícola, la goma arábica se utiliza en pequeñas cantidades como coloide protector de vinos jóvenes con el objetivo de mejorar su estabilidad, aumentar el equilibrio y las características organolépticas del vino, reductor de amargura y astringencia, y como clarificador de éstos.
- En la industria de pinturas y recubrimientos, la goma arábica es ideal para fabricar tintes.
- La goma arábica es utilizada como emulsificante dentro de la industria de las bebidas, pues con ella, se obtienen las películas protectoras de las bebidas refrescantes (QuimiNet, 2011).

### *Politerpenos*

De entre los politerpenos los dos más conocidos son el poliisopreno (caucho natural o químicamente isómero cis-1,4-poliisopreno) y la gutapercha (caucho de propiedades mecánicas inferiores, el isómero trans-1,4-poliisopreno).

### *Polihidroxicanoatos*

Los polihidroxicanoatos son poliésteres lineales biosintetizados por bacterias mediante la fermentación de azúcares o lípidos. Existen muchos tipos de polihidroxicanoatos pero los más conocidos son el polihidroxitirato (PHB) y el poli-3-hidroxicanoato (PHV), así como sus copolímeros.

### **1.4.1.2 Biopolímeros sintéticos**

Una diferencia importante entre la definición de biopolímeros y otros polímeros existentes, se puede encontrar en sus estructuras. Todos los polímeros están hechos de unidades repetitivas llamadas monómeros. Los biopolímeros por lo general tienen una estructura bien definida, aunque esto no es una característica definitoria.

La composición química exacta y la secuencia en la que estas unidades están dispuestas se denominan estructuras primarias, en el caso de las proteínas. Muchos biopolímeros se pliegan espontáneamente en formas compactas características, que determinan sus funciones biológicas y dependen de dicha estructura primaria. La biología estructural es la que se encarga de estudiar las propiedades estructurales de estos biopolímeros.

Por el contrario la mayoría de los polímeros sintéticos tienen estructuras mucho más simples y organizadas al azar. Este hecho conduce a una distribución de masa molecular que no se observa en biopolímeros. De hecho, como su síntesis está controlada por un proceso dirigido, en la mayoría de sistemas "in vivo", todos los biopolímeros de un tipo (provenientes de una proteína específica) son todos iguales. Todos ellos contienen las secuencias similares y el número de monómeros y por lo tanto todos tienen la misma masa. Este fenómeno se llama monodispersidad en contraste con la polidispersidad encontrada en polímeros sintéticos. Como resultado, los biopolímeros tienen un índice de polidispersidad de 1. De entre los biopolímeros sintéticos empleados destacan:

- Poliuretanos (PU)
- Siliconas (Si)
- Polimetilmetacrilato (PMMA)
- Policaprolactona (PCL)
- Poliácido glicólico
- Polivinilalcohol o alcohol polivinílico (PVA)

### **1.4.1.3 Biopolímeros derivados**

- El ácido poliláctico (PLA)
- Polietileno derivado del etanol de la caña de azúcar.
- Celuloides

En los biopolímeros derivados se agrupan los biopolímeros sintetizados artificialmente pero a partir de sustancias naturales. Estos materiales son también denominados bioplásticos.

Cabría mencionar que existe una nueva rama de estudio en la que se consideran algunos materiales derivados de materiales inorgánicos geológicos como "geopolímeros" (Azuaje, 2017).

# JUSTIFICACIÓN

## 2. JUSTIFICACIÓN

El creciente interés de la industria alimentaria por el empleo de productos naturales, ajenos a cualquier sustancia nociva para la salud, es cada vez mayor, los consumidores prefieren los llamados “productos verdes” los cuales se producen cuidando el medio ambiente y brindando un efecto benéfico a la salud de los consumidores, la constante implementación y mejora de los procesos y líneas de investigación benefician no solo al ser humano si no a la preservación de los ecosistemas, es por eso la importancia del uso de materiales como los biopolímeros en los procesos industriales ya que las características que aportan a los procesos benefician ampliamente éstos aspectos.

El aceite esencial de naranja es un aceite esencial que por sus propiedades diversas como antiinflamatorio, antidepresivo, antiespasmódico, antiséptico, afrodisíaco, carminativo, diurético, tónico, sedante y colagogo tiene una infinidad de aplicaciones, aunque las más importantes en el ámbito industrial son como fragancia en diversos productos de cuidado personal, aromatizantes etc., así como saborizante en el ramo alimenticio de bebidas, confitería, panadería etc.

Sin embargo, en la industria se dificulta el manejo y uso de dicho aceite, ya que presenta alta volatilidad, es hidrofóbico, lábil y susceptible a degradarse ante la presencia de factores ambientales (luz, temperatura, humedad y oxígeno). La tecnología de microencapsulación es un proceso que retarda la degradación prematura de aceites esenciales de alto valor mediante el uso de agentes encapsulantes como los biopolímeros, los cuales funcionan como capa protectora ante los fenómenos deteriorativos; por lo tanto, es de suma importancia evaluar los beneficios que éstos aportan para evitar el deterioro de nuestro aceite, esto en base a la relación que guarda el agente encapsulante con el material encapsulado, ya que la estabilidad de las microcápsulas dependerá del tipo, y cantidad empleada de biopolímero. Dentro de este trabajo se emplearon dos mezclas binarias de biopolímeros siendo proteína de chícharo-goma arábiga una de ellas y proteína de suero de leche-goma arábiga la otra, desarrollando un análisis para establecer cuál es la mejor combinación de polímeros para ser empleados en la producción de microcápsulas para el aceite esencial de naranja.

# **HIPÓTESIS**

### **3. HIPÓTESIS**

Mediante la mezcla proteína de suero de leche-goma arábica se obtendrán altas eficiencias de encapsulamiento y bajas tasas de oxidación del aceite encapsulado respecto a la mezcla proteína de chícharo-goma arábica.

# **OBJETIVOS**

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la influencia de las propiedades emulsificantes y encapsulantes de mezclas binarias proteína de chicharo-goma arábica y proteína de suero de leche-goma arábica en la eficiencia de encapsulación y oxidación del aceite de naranja microencapsulado.

### **4.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Formular emulsiones de tipo aceite en agua O/W.
- Determinar cinéticas de coalescencia e índice de cremado de las emulsiones.
- Determinar potencial z y distribución de tamaño de gota de las emulsiones.
- Obtener microcápsulas mediante secado por aspersión.
- Determinar distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas.
- Determinar eficiencias de encapsulamiento y cinéticas de oxidación del aceite encapsulado.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIALES

El aceite esencial de naranja se obtuvo de la boutique droguería “La moderna” (Toluca, Estado de México.) Como agentes encapsulantes se utilizaron Proteína de suero de leche (WPC) (Hilmar<sup>TM</sup> 8000) conteniendo 80% de proteína en base seca que fue adquirida en la compañía Hilmar Ingredients, (Hilmer, CA, EUA). Goma arábiga (GA) (*Acacia senegal*) que fue adquirida en Industria Ragar, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México), y Proteína de chícharo (PCH) que se adquirió de la compañía Roquette Freres (Lestrem, Francia). Se utilizó éter de petróleo y 2-propanol grado analítico como solventes, que fueron adquiridos en la compañía SIGMA ALDRICH S.A. de C.V. (Toluca, México). En todos los experimentos se utilizó agua desionizada, la cual fue proporcionada por el Departamento de Ingeniería.

### 5.2 MÉTODOS

#### 5.2.1 Formulación de emulsiones del tipo aceite en agua O/W

Se formularon emulsiones aceite-en-agua (O/W) empleando como agentes emulsificantes goma Arábica en mezclas binarias con proteína de suero de leche, GA<sub>33%</sub>-WPC<sub>66%</sub> y proteína de chícharo GA<sub>33%</sub>-PCH<sub>66%</sub> (p/p), usando una relación de agente encapsulante con respecto al material encapsulado 2:1; y la cantidad de sólidos totales en la emulsión al 24% mediante dispersión de la fase oleosa en la fase acuosa.

El procedimiento consistió en la disolución en agua de la mezcla de biopolímeros y su hidratación durante 24 h, seguido de la dispersión de la fase oleosa gota a gota en la fase acuosa y emulsionada mediante un homogeneizador Ultra-turrax T50 basic (IKA-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA) a una velocidad de 6400 rpm durante 10 min, con un baño con hielo para mantener la temperatura por debajo de 30 °C.

### 5.2.2 Tamaño de gota volumétrico promedio y potencial z de las emulsiones aceite en agua O/W

El diámetro de gota volumétrico promedio ( $d_{43}$ ) de las emulsiones sencillas O/W fue medido con un Analizador de Tamaño de Partícula y Gota Malvern serie 2000 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, Reino Unido), utilizando agua como dispersante (IR 1.333). Para la determinación del potencial zeta se prepararon dispersiones acuosas al 1% (w/w) de proteína de suero de leche y proteína de chícharo con mezclas de 50% p/p de aceite esencial de naranja usando agua deionizada y se ajustó a un valor de pH 7.0 y a una temperatura de 25°C. Para la medición del potencial z se usó un equipo de micro-electroforesis y dispersión de luz dinámica modelo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) con una celda capilar plegada (DTS 1060) (Kaewmanee *et al.*, 2014). Este equipo mide la dirección y la velocidad de partículas cargadas aplicando un campo eléctrico y calcula el potencial z usando el modelo de Smoluchowski (Kaushik *et al.*, 2015).

### 5.2.3 Actividad y estabilidad emulsionante

Las emulsiones anteriormente descritas GA<sub>33%</sub>-PCH<sub>66%</sub> y GA<sub>33%</sub>-WPC<sub>66%</sub> fueron empleadas para el estudio de las propiedades emulsionantes basadas en el método propuesto por Jindal *et al.* (2013). Las emulsiones fueron centrifugadas con una Centrífuga de alta velocidad Hermle Z323K (Hermle, Labortechnik, Alemania) por 10 min a 524 x g. La actividad emulsionante (EA) se calculó de la siguiente manera:

$$\% EA = \frac{\text{Volumen de la emulsión}}{\text{Volumen total}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

La estabilidad emulsionante se evaluó con un método similar al método de EA. Después las emulsiones se homogeneizaron, se calentaron en un baño de agua a 80 ° C durante 30 min, y luego se enfrió a temperatura ambiente (20 ± 2 C) y se centrifugaron durante 10 min a 524 x g. Se midió la capa emulsionada y se calculó la ES usando la siguiente ecuación:

$$\% ES = \frac{\text{Volumen final de la emulsión}}{\text{Volumen inicial de la emulsión}} \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

#### 5.2.4 Capacidad de formación de espuma y estabilidad de la espuma (Índice de cremado)

Se determinó la capacidad de formación de espuma (FC) y la estabilidad de la espuma (FS) de acuerdo a Rezaei *et al.* (2016). Las dispersiones fueron homogeneizadas con un homogeneizador Ultra-Turrax T50 (IKA®-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA) A 6400 rpm durante 5 min. FC se calculó inmediatamente después de la homogeneización (~ 30 s) y la FS se calculó como el volumen de espuma después de 30 min usando las siguientes expresiones:

$$\% FC = \frac{\text{Volumen inicial de espuma}}{\text{Volumen total de la suspensión}} \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

$$\% FS = \frac{\text{Volumen final de la espuma}}{\text{Volumen total de la suspensión}} \times 100 \quad (\text{Ec.4})$$

#### 5.2.5 Determinación de la cinética de coalescencia de emulsiones aceite en agua O/W

Se determinaron cinéticas de coalescencia de acuerdo al siguiente procedimiento:

La velocidad de coalescencia sigue, en gran parte, una cinética de primer orden y puede ser representada como (Sherman, 1969):

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-K_c t} \quad (\text{Ec. 5})$$

Arreglando:

$$\frac{N_0}{N_t} = e^{K_c t} \quad (\text{Ec. 6})$$

donde:

$N_t$  → Número de gotas al tiempo  $t$ .

$N_o$  → Número de gotas recién formada la emulsión (tiempo cero).

$K_c$  → Constante de velocidad, la cual es relacionada a la probabilidad de ruptura de la capa interfacial entre las gotas en un tiempo  $t$ .

Cuando el volumen de las gotas de aceite se mantiene constante en la emulsión, la relación entre el número de gotas de la emulsión,  $N$ , y el diámetro volumétrico promedio de gota,  $d_{3,0}$ , viene dado por:

$$\frac{4}{3}\pi\left(\frac{d_{3,0}}{2}\right)^3 N = \text{constante} \quad (\text{Ec. 7})$$

Por lo tanto, el número relativo de las gotas de la emulsión, se puede obtener mediante la siguiente ecuación (Ye *et al.*, 2004).

$$\frac{N_t}{N_o} = \left[ \frac{(d_{3,0})_{t=0}}{(d_{3,0})_{t=t}} \right]^3 \quad (\text{Ec. 8})$$

Se obtendrá un gráfico de  $\ln(N_t/N_o)$  en función del tiempo para cada emulsión dando una línea recta de la cual es posible obtener la pendiente y calcular el valor de la constante  $k_c$ . (Ruiz-Ramos *et al.*, 2006).

### 5.2.6 Obtención de microcápsulas mediante la técnica de secado por aspersión

Las emulsiones O/W fueron alimentadas con un flujo de 40 mL/min por medio de un dosificador a un secador por aspersión Nichols/Niro a nivel planta piloto (Turbo Spray PLA, Nueva York, EUA) a una temperatura de entrada del aire de  $150 \pm 5$  °C y una temperatura de salida del aire de  $85 \pm 5$  °C, inyectando aire comprimido a 4 bar (Pérez Alonso *et al.*, 2008).

### 5.2.7 Obtención de microcápsulas a través de secado por aspersión

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

## 5.2.8 Propiedades físicas de las microcápsulas

### 5.2.8.1 Contenido de humedad

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

### 5.2.8.2 Ángulo de reposo

Las microcápsulas se pesaron (~10 g) y se colocaron en un embudo sujeto a un soporte a una altura de 20 cm con una superficie plana de papel. Se dejó que el polvo fluyera libremente a la superficie del papel. La altura del cono (H), formada después del flujo completo y el radio del cono (R) se midieron y usaron para calcular el ángulo de reposo con la ecuación 9 (Jindal *et al.*, 2013):

$$\text{Ángulo de reposo } (\tan \theta) = \frac{H}{R} \quad (\text{Ec.9})$$

### 5.2.8.3 Densidad empacada y aparente

Las densidades empacada y aparente se midieron según Kalegowda *et al.* (2017) con algunas modificaciones. La densidad aparente se midió transfiriendo ~8 g de microcápsulas a un cilindro de medición graduado y el volumen ocupado por las microcápsulas dio el volumen volumétrico. La densidad empacada se midió golpeando mecánicamente el cilindro de medición que contuvo las microcápsulas hasta que se observó un volumen constante. La densidad aparente o empacada

se calculó como el cociente de la masa de las microcápsulas y el volumen total o compactado respectivamente.

#### 5.2.8.4 Índice de compresibilidad

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

$$\text{Compresibilidad (Índice de Carr)} = \frac{\text{Densidad empacada} - \text{Densidad aparente}}{\text{Densidad empacada}} \times 100 \quad (\text{Ec. 10})$$

#### 5.2.8.5 Radio de Hausner

La relación de Hausner se determinó por la relación de la densidad empacada y la densidad aparente basada en la Ec. 11 (Bhusari *et al.*, 2014):

$$\text{Radio de Hausner} = \frac{\text{Densidad empacada}}{\text{Densidad aparente}} \quad (\text{Ec. 11})$$

### 5.2.9 Tamaño promedio de partícula de las microcápsulas

El tamaño promedio de partícula de las microcápsulas ( $d_{43}$ ) fue determinado con un Analizador de Tamaño de Partícula y Gota Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, Reino Unido), dispersando los encapsulados en 2-propanol.

### 5.2.10 Evaluación de la eficiencia de encapsulación

*Determinación de aceite volátil total retenido (aceites esenciales).*

El contenido de aceite volátil total retenido (AVTR) en las microcápsulas se determinó usando la destilación de Clevenger de acuerdo al método de (Bringas-Lantigua *et al.*, 2011) con ligeras modificaciones. 7.5 g de microcápsulas de aceite esencial de naranja (AEN) se disolvieron en 100 mL de agua destilada a 20°C dentro de un matraz de bola de 250 mL. Estas microcápsulas eran teóricamente 66% material de pared y 33% aceite esencial, por lo tanto, a partir de 7.5 g de

microcápsulas se esperaba obtener en el brazo de medición: 2.5 g, o expresado en volumen 2.88 mL de AEN (considerando la densidad del AEN de  $0.867 \text{ g mL}^{-1}$ ).

En el matraz de bola se adicionaron 6 perlas de ebullición. En la Figura 1 se muestra el montaje del equipo de Clevenger.



**Figura 1.** Equipo de destilación de Clevenger.

En la parte superior del refrigerante se montó un termómetro, con el bulbo cerca de la pieza de unión de boquillas (entre refrigerante y Clevenger), para verificar una temperatura baja y favorecer la condensación del aceite (no superior a  $30^{\circ}\text{C}$ ); para lograrlo se hizo recircular agua con hielos utilizando una bomba de recirculación de agua.

La bomba de recirculación tiene una salida de agua donde se conecta una manguera de látex que va hacia la entrada de agua del refrigerante. Asimismo, el refrigerante tiene una salida de agua donde se conecta una manguera de látex que lleva al agua nuevamente a la cubeta. Es importante mantener fría el agua de recirculación con hielo durante la destilación.

La destilación se llevó a cabo a ebullición durante 1.5 h, (la temperatura de parrilla osciló entre  $280$  y  $340^{\circ}\text{C}$ ) y el volumen de aceite volátil total retenido ( $V_{AVTR}$ ) se leyó directamente en la escala del brazo de recolección.

El porcentaje de AVTR se calculó dividiendo el volumen de aceite volátil total retenido obtenido tras la destilación ( $V_{AVRT}$ ) entre el volumen de aceite teórico inicial ( $V_{ATI}$ ) en la microcápsula,

multiplicado por 100 (Ecuación 12). Para cuestiones de cálculos, la densidad del aceite esencial de limón se determinó gravimétricamente resultando en  $\rho=0.867 \text{ g mL}^{-1}$  a  $20^{\circ}\text{C}$ .

$$\%AVTR = \left( \frac{V_{AVTR}}{V_{ATI}} \right) (100) \quad (\text{Ec.12})$$

#### *Determinación de eficiencia de encapsulación (aceites esenciales)*

La eficiencia de encapsulación (EE) se determinó utilizando el método de (Bringas-Lantigua *et al.*, 2011) con ligeras modificaciones. El contenido de aceite superficial de las microcápsulas se extrajo lavando 7.5 g de microcápsulas con 20 mL de hexano, la mezcla se agitó lentamente por 20 min y se filtró con papel filtro Whatman No. 1, así, las microcápsulas se colectaron en el papel filtro y se lavaron tres veces con 10 mL de hexano, posteriormente, el solvente absorbido por las microcápsulas se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta alcanzar el peso constante.

Las microcápsulas libres de aceite superficial se pesaron y se disolvieron en 100 mL de agua destilada, con el objetivo de determinar el volumen de aceite interno ( $V_{AI}$ ) a través de la destilación de Clevenger, cuyo procedimiento se detalló en el método anterior (Determinación de aceite volátil total retenido). El volumen de aceite superficial ( $V_{AS}$ ) se calculó restando el volumen de aceite volátil total retenido ( $V_{AVTR}$ ) en las microcápsulas menos el volumen de aceite interno ( $V_{AI}$ ) en las microcápsulas. El porcentaje de EE se calculó usando la Ecuación 13 (Carneiro *et al.*, 2013).

$$\%EE = \left( \frac{V_{AVTR} - V_{AS}}{V_{AVTR}} \right) (100) \quad (\text{Ec. 13})$$

### **5.2.11 Oxidación lipídica por valor de peróxido del aceite**

#### **5.2.11.1 Acondicionamiento del aceite y de las microcápsulas**

Se colocó aceite esencial de naranja sin encapsular (2.0 mL) y microcápsulas de cada sistema (5 g) dentro de mini-desecadores de vidrio de aproximadamente 20 mL y se almacenaron en una estufa (sin luz) a  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$  y  $45^{\circ}\text{C}$  para acelerar el proceso de oxidación, con una actividad de agua controlada en el intervalo de 0.2 a 0.4. La oxidación de las muestras se determinó al tiempo cero y cada semana durante ocho semanas de almacenamiento.

### 5.2.11.2 Valor peróxido

Para conocer el valor peróxido del aceite encapsulado se tuvo que realizar la extracción del aceite donde 0.5 g de microcápsulas se dispersaron en 5 mL de agua para formar una emulsión, así, 0.3 mL de la emulsión reconstituida se mezclaron con 1.5 mL de solución isoctano/isopropanol 3:2 (v/v) en tu tubo de ensayo, y se agitó tres veces por 10 s con un vortex 3 Orbital Shakers (IKA, Alemania). Posteriormente, la muestra se separó usando una centrífuga 5810R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania) a  $3150\times g$  por 10 min (Niu *et al.*, 2016). Por otro lado, el aceite sin encapsular no tuvo que ser extraído por lo que se utilizó de manera directa.

El valor peróxido del AEN sin encapsular y del AEN encapsulado se determinó de acuerdo al método de (Shantha & Decker, 1994) con ligeras modificaciones. 0.2 mL de la fase orgánica extraída de las microcápsulas o del aceite sin encapsular se adicionaron a 2.8 mL de solución metanol/1-butanol 2:1 (v/v) y se hicieron reaccionar con 15  $\mu\text{L}$  de tiocianato de amonio 3.94 M y 15  $\mu\text{L}$  de solución de iones fierro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) 0.072 M. La solución de iones fierro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) se obtuvo del sobrante de la mezcla de 25 mL de  $\text{BaCl}_2$  0.132 M con 25 mL de  $\text{FeSO}_4$  0.144 M, ambas soluciones preparadas en HCl 0.4 M. Las muestras se dejaron reposar en la oscuridad durante 20 min. Finalmente, la absorbancia de las muestras se leyó a 510 nm usando un espectrofotómetro UV/Vis modelo Genesys 10 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) y las concentraciones de hidroperóxidos en el aceite se calcularon usando una curva estándar de hidroperóxidos de cumeno (Niu *et al.*, 2016).

# **DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 CINÉTICA DE COALESCENCIA

La mezcla de biopolímeros influyó en el proceso de ruptura de la interfase para formar gotas a través de su efecto sobre la tensión interfacial, los biopolímeros tendieron a difundirse y adsorberse en la interfase más rápidamente, de modo que se produjeron gotas pequeñas. Aquí se puede señalar que GA, a pesar de su gran peso molecular, se caracteriza por tener una estructura esférica ramificada, de modo que se difunde a la interfaz aceite-agua de manera relativamente rápida, y debido a su configuración compacta, empaqueta densamente (junto con WPC y PCH) la interfase (Vernon-Carter *et al.*, 2000).

Ambos sistemas de proteína-polisacárido se ajustaron adecuadamente a un modelo de coalescencia lento de primer orden ( $R^2 \geq 0.98$ , Tabla 1) (Sherman, 1969), mostrando  $k_c$  de magnitud  $10^{-7} \text{ s}^{-1}$  en ambos casos, indicativo de una alta estabilidad (Kitchener & Musselwhite, 1969., Ruíz-Ramos *et al.*, 2006). Esta alta estabilidad mostrada puede atribuirse a las buenas propiedades de la superficie activa (Jiménez-Alvarado *et al.*, 2009., Román-Guerrero *et al.*, 2009) de GA, PCH y WPC que poseen grupos hidrofóbicos que son lo suficientemente numerosos y suficientemente accesibles en un corto período de tiempo para permitir que se adhieran y se extiendan en la interfase, protegiendo así las gotas recién formadas de la coalescencia a través de la estabilización estérica y los mecanismos de estabilización electrostática (Dickinson, 2003). Además, en el caso de la adsorción asociativa, cuando se forma una capa adsorbida que contiene una mezcla de dos componentes activos de superficie diferentes (WPC-GA o PCH-GA), si esta situación es estable (como lo demuestra  $k_c$ ), La adsorción del segundo componente debe ser mejorada por la presencia del primer componente, o no influenciada por él. Los polielectrolitos como GA y MG pueden asociarse con proteínas a través de la acción electrostática, los enlaces de hidrógeno o las fuerzas de Van der Waals para mejorar las propiedades de estabilización estérica de las gotas (Mishra *et al.*, 2001). Las propiedades físico-químicas de los complejos de proteína-polisacárido aumentan la entropía de la mezcla de biopolímeros y su co-solubilidad que contribuye a emulsiones más estables (Tolstoguzov, 2003).

**Tabla 1.** Cinética de coalescencia para emulsiones WPC-GA y PCH-GA con AEN.

	$K_c (s^{-1}) \times 10^{-7}$ ( $\mu m^2$ )	$R^2$
<b>WPC-GA</b>	9.92	0.988
<b>PCH-GA</b>	7.73	0.981

## 6.2 ACTIVIDAD EMULSIONANTE, ESTABILIDAD EMULSIONANTE, CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA Y ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (INDICE DE CREMADO)

El proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes: “creaming” o sedimentación, floculación, coalescencia, engrosamiento de gotas (Aranberri *et al.*, 2006). La capacidad de un hidrocoloide para formar emulsiones estables es importante para muchas aplicaciones en productos alimenticios ya que se requiere capacidad emulsionante y estabilizadora para obtener las características deseadas en los productos finales. La actividad emulsionante (EA) muestra la capacidad de un agente emulsionante para formar emulsiones de agua en aceite, mientras que la estabilidad emulsionante (ES) mide la descomposición de la emulsión en el tiempo. Al analizar los datos de ambos sistemas de biopolímeros se nota una ligera ventaja del sistema PCH-GA con respecto a la EA con un 75%, cabe resaltar que ambos sistemas cuentan con la misma cantidad de fracción volumétrica por lo que la explicación podría darse debido a que en la mezcla PCH-GA, el aceite cuenta con mayor cantidad de cadenas dentro de la estructura superficial activa para absorber las moléculas del aceite lo cual reduce su tensión superficial (Jindal *et al.*, 2013). Sin embargo, al estudiar la ES notamos que el sistema con mayor estabilidad es el de WPC-GA lo cual nos habla que la vida útil de nuestra emulsión será mayor usando el sistema con proteína animal.

La capacidad de formación de espuma (FC) y la estabilidad de la espuma (FS) de los biopolímeros dependen de diferentes factores, como el contenido de proteínas y carbohidratos, el peso molecular, la estructura y la presencia de compuestos adicionales en el hidrocoloide (Mahfoudhi *et al.*, 2014). Las buenas propiedades de formación de espuma están relacionadas con una estructura flexible que puede reducir la tensión superficial.

La mezcla de PCH-GA presento una capacidad de formación de espuma casi nula, esto respaldado por el buen porcentaje de EA que obtuvo lo cual se puede resumir en una buena estructura de grupos funcionales formados por la mezcla de ambos biopolímeros el cual se traduce en una casi nula formación de espuma y una alta actividad emulsionante, por otra parte la mezcla WPC-GA presenta un 48% de FC sin embargo también muestra una buena FS lo cual nos indica que éste sistema en particular nos brinda una alta estabilidad a nuestra emulsión, por lo tanto si queremos obtener una alta vida útil del producto el sistema WPC-GA seria la mezcla de biopolímeros más eficaz dentro de éste estudio.

**Tabla 2.** Propiedades de cremado de las emulsiones

	<b>Actividad Emulsionante</b> %	<b>Estabilidad Emulsionante</b> %	<b>Capacidad de formación de espuma</b> %	<b>Estabilidad de la espuma</b> %
<b>WPC-GA</b>	64.71	86.67	48.28	58.62
<b>PCH-GA</b>	75	71.43	3.45	3.45

### 6.3 POTENCIAL Z

El potencial z (carga de superficie) es un índice que indica la magnitud de las interacciones entre las partículas coloidales y se utiliza para evaluar la estabilidad de éstos (Bakry *et al.*, 2016). Los valores de ambos sistemas coloidales estudiados WPC-GA y PCH-GA arrojaron valores bastante similares -21.733 mV y -20.933 mV respectivamente, éstos resultados demuestran una mejor interacción entre la proteína de suero de leche y la goma arábiga con respecto a la proteína de chícharo, sin embargo al ser tan similares los valores se esperarían tener una estabilidad similar en ambos sistemas, a pesar de esto., para considerarse como emulsiones estables se esperarían tener un valor total absoluto de  $\pm 30$  mV por lo que no se descarta la tendencia de la emulsión a la coagulación o floculación. (Cortés-Camargo *et al.*, 2017). El signo de carga negativo indica una repulsión entre los grupos funcionales de la superficie y las gotas formadas dentro de la emulsión.

**Tabla 3.** Potencial zeta

	<b>Potencial zeta</b> (mV)
<b>WPC-GA</b>	-21.733 ± 1.173
<b>PCH-GA</b>	-20.933 ± 1.368

#### 6.4 PROPIEDADES DE CALIDAD DE LAS MICROCÁPSULAS

Comenzando por la humedad como se puede observar en la tabla 4 ambos sistemas muestran contenidos de humedad muy bajos esto debido al proceso de secado por aspersión, bajos contenidos de humedad aseguran la vida útil de los polvos (Onsaard *et al.*, 2018). El contenido de humedad del sistema WPC-GA es ligeramente mayor un 1 % p/p pero al no ser una diferencia significativa ambos sistemas podrían considerarse semejantes en cuanto a vida útil, ya que un mayor contenido de humedad conduce al crecimiento de hongos además de apelmazamiento por lo cual se afecta la estabilidad fisicoquímica de estos polvos (Goyal *et al.*, 2015).

La medida del ángulo estático de reposo es un método simple de caracterización del comportamiento de polvos o gránulos durante el flujo. Como regla general, los polvos con un ángulo de reposo de menos de 40 grados, generalmente presentan propiedades de flujo libre, mientras que los polvos que exhiben un ángulo de reposo de 50 grados o más, indican problemas de flujo o cohesividades (Montes *et al.*, 2007). Se puede asumir que cuanto más pequeño es el ángulo, más libre fluye el polvo. Debido a que la formación del cono involucra fuerzas de fricción, fuerzas de cohesión entre partículas y efectos de impacto que pueden conducir a la segregación, las mediciones dependen del método experimental. En el caso de los polvos cohesivos, a veces se forman conos irregulares y la medición del ángulo en sí se vuelve difícil. Además, los polvos pueden tener niveles de empaque diferentes y no uniformes, así como niveles de humedad. Por lo tanto, los diversos factores físicos que dan forma al cono también pueden variar con estos parámetros. Esto explica por qué el polvo húmedo exhibe un mayor ángulo de reposo (principalmente debido a la cohesión) (Peleg, 1977). Los polvos formados por los sistemas WPC-GA y PCH-GA formaron ángulos de reposo de 23.19 y 21.46 respectivamente por lo que se podría decir no tienen problema alguno al flujo libre.

La densidad aparente es la densidad de un material cuando se empaqueta o se apila a granel (Bhusari *et al.*, 2014; Chew *et al.*, 2018). La densidad empacada de los polvos es una variable que afecta el transporte, el envasado y la comercialización de los polvos (Goyal *et al.*, 2015; Chew *et al.*, 2018). Debido a que no hubo diferencias significativas entre las densidades empacadas y aparentes del sistema WPC-GA, podemos decir que los polvos presentan un acomodo de partículas muy similar en un mismo volumen mientras que en el sistema PCH-GA la diferencia es notoria por lo que se podría decir hay una mayor compresibilidad de las partículas.

Segun Kalegowda *et al.* (2017) y Hoyos-Leyva *et al.* (2018) un índice de compresibilidad de Carr en el intervalo de 10 al 18% nos indica las características deseables de empaque de un polvo (menos cohesividad, buena compresibilidad y capacidad de flujo). La compresibilidad del sistema WPC-GA se encuentra dentro de éste intervalo lo que muestra excelentes características para nuestro polvo sin embargo la compresibilidad del sistema PCH-GA es mayor a este intervalo lo que nos indica una mayor cohesividad y compresibilidad de las partículas lo cual en gran medida puede resultar en un conglomerad.

Además del índice de Carr anteriormente descrito, la relación de Hausner también representa una medida indirecta que se usa para predecir las propiedades de flujo de los polvos. Un radio de Hausner <1.25 indica que un polvo fluye libremente, mientras que un radio de Hausner >1.25 indica una fluidez pobre del polvo (Parthasarathi & Anandharamakrishnan, 2016). Se considera que un polvo con un índice de Hausner entre 1.35 y 1.61 indica además de un flujo pobre, viscosidad con cierta propiedad cohesiva (Ortiz-Basurto *et al.*, 2017). Ambos sistemas muestran resultados por debajo de 1.35 por lo que podría asumirse que no existe problema alguno de éstos a fluir libremente.

**Tabla 4** Propiedades de calidad de las microcápsulas obtenidas por secado por aspersión.

	<b>WPC-GA</b>	<b>PCH-GA</b>
<b>Contenido de humedad (% p/p)</b>	3.33 ± 0.01	2.33 ± 0.01
<b>Angulo de reposo (°)</b>	23.19 ± 0.81	21.46 ± 0.77

<b>Densidad aparente (g/mL)</b>	0.206 ± 0.077	0.253 ± 0.023
<b>Densidad empacada (g/mL)</b>	0.229 ± 0.048	0.340 ± 0.011
<b>Comprensibilidad de Carr (%)</b>	10 ± 0.406	25 ± 0.134
<b>Radio de Hausner</b>	1.113 ± 0.406	1.345 ± 0.152

## 6.5 DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LAS MICROCÁPSULAS

El control del tamaño de partícula durante el proceso de secado por aspersión es importante debido a su gran efecto sobre la apariencia, fluidez y dispersabilidad de las partículas (Botrel *et al.*, 2014). La presencia de partículas grandes (por encima de 100  $\mu\text{m}$ ) se puede explicar por un proceso de aglomeración (Cortés-Camargo *et al.*, 2017). Además se ha demostrado que entre menor sea el tamaño de partícula de las microcápsulas mayor eficiencia de encapsulación se obtiene.

Como se observa en la tabla 5 el tamaño de partícula  $d(4,3)$  de ambos sistemas es de menos de 25  $\mu\text{m}$  lo que nos habla de un tamaño de partícula muy pequeño, no presentan problemas de aglomeración, lo cual nos indica que no se afectan los rubros de apariencia, tamaño de partícula real fluidez y dispersabilidad de las partículas comparado con sistemas como los mencionados por Cortés-Camargo *et al.* (2017) en sistemas de goma de mezquite en combinación con nopal para encapsular aceite esencial de limón, donde se registraron valores de diámetro medio de partículas en el intervalo de ~ 11-45  $\mu\text{m}$ .

El sistema PCH-GA tiene un tamaño de partícula de más del doble que el de WPC-GA, así mismo cuenta con un área superficial específica menor que las microcápsulas de WPC-GA por lo que sería importante destacar una mejor interacción entre la proteína animal y el polisacárido de origen natural lo cual conlleva a un menor tamaño de partícula y por lo tanto brinda mejores propiedades de encapsulamiento al aceite esencial de naranja, siendo éste un factor importante para la elección del sistema de biopolímeros ideal para el proceso de microencapsulamiento. Por otra parte la homogeneidad en el tamaño de partícula obtenido por las microcápsulas está relacionado con el valor Span mostrado en la siguiente tabla, entre menor sea el valor Span mayor será la homogeneidad en el tamaño de partícula, por el contrario un valor mayor de Span indica una mayor varianza en el tamaño de partícula de las microcápsulas, teniendo esto en cuenta el

sistema WPC-GA muestra un valor de 1.7 lo cual nos habla de una alta homogeneidad dentro de las microcapsulas obtenidas mientras que el valor del sistema PCH-GA es de 9.9, por lo consiguiendo el tamaño de partícula de las microcapsulas obtenidas con éste sistema tuvo una alta varianza con rangos mayores a los del sistema WPC-GA (Cortés-Camargo *et al.*, 2017).

**Tabla 5.** Polvos de proteína de suero de leche-goma arábica y proteína de chícharo-goma arábica.

	<b>D [4,3]</b> ( $\mu\text{m}$ )	<b>Área superficial específica</b> ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Span</b>
<b>WPC-GA</b>	10.4	2114	1.695
<b>PCH-GA</b>	22.5	1941	9.91

## 6.6 EFICIENCIA DE ENCAPSULAMIENTO

La eficiencia de la microencapsulación es un parámetro importante cuando un producto será secado por aspersión. Para una mayor eficiencia de encapsulación, la masa del aceite superficial (o aceite libre) debe ser lo más baja posible y la masa del aceite total (o aceite encapsulado) debe ser lo más alta posible (Kaushik *et al.*, 2015). Un parámetro considerado normalmente como crítico es el aceite superficial, que representa la fracción de aceite no encapsulado en contacto con agentes pro-oxidantes presentes en el medio ambiente. Se reconoce que un alto porcentaje de aceite superficial provoca la oxidación de lípidos (Menin *et al.*, 2018). El aceite superficial puede inducir rancidez incluso cuando el oxígeno no se difunde en el interior para causar la oxidación del núcleo (Wang *et al.*, 2018). Además, la presencia de aceite en la superficie de la microcápsula tiene un impacto negativo en su estabilidad oxidativa y reduce su vida útil. La disminución del aceite de la superficie es importante para la microencapsulación, ya que este aceite se oxida significativamente más rápido que el aceite encapsulado (Yildiz *et al.*, 2018).

En la tabla 6. se muestran los resultados obtenidos para ambos sistemas de biopolímeros, a pesar de tener porcentajes de aceite superficial relativamente bajos en ambos casos hay una ligera mejora en cuanto al sistema WPC-GA el cual cuenta con un 12% de aceite superficial lo cual se traduce en un aumento en cuanto a la vida útil del producto así como se esperaría tener una eficiencia de

encapsulamiento mayor, lo cual se comprueba al revisar los resultados de aceite volátil total así como el de eficiencia de encapsulamiento siendo el sistema WPC-GA el que muestra los mejores resultados, esto era de esperarse ya que como se menciona en el análisis de tamaño de partícula el sistema WPC-GA cuenta con un tamaño de partícula mucho menor al sistema PCH-GA por lo cual se esperaría tener una mayor eficiencia de encapsulamiento con respecto a la proteína vegetal.

**Tabla 6.** Aceite superficial y eficiencia de encapsulamiento.

	<b>Aceite superficial</b> %	<b>Aceite volátil total retenido</b> %	<b>Eficiencia de encapsulamiento</b> %
<b>WPC-GA</b>	11.98 ± 0.066	85.54 ± 0.049	88 ± 0.003
<b>PCH-GA</b>	14.87 ± 0.195	80.92 ± 0.099	85.10 ± 0.001

### 6.7 OXIDACIÓN LIPÍDICA POR VALOR DE PERÓXIDO

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

Las figuras 2, 3, y 4 muestran la estabilidad oxidativa del AEN y de microcápsulas de AEN cubiertas con mezclas de WPC-GA y PCH-GA. La estabilidad oxidativa se determinó mediante el valor de peróxido durante ocho semanas de almacenamiento a 25, 35 y 40°C. El AEN es muy sensible a la oxidación y solo pudo ser analizado a 25°C ya que en otras condiciones éste se degradaba rápidamente en menos de una semana, sus hidroperóxidos iniciales (HP) a 25°C eran de 26.4 meq de HP / kg de AEN, los valores de peróxidos aumentaron rápidamente durante la primera semana (89.7 meq.de HP / kg de AEN) y continuó oxidándose hasta alcanzar un valor de oxidación muy alto en la octava semana (134.4 meq de HP / kg de AEN).

Las microcápsulas de AEN cubiertas con WPC-GA a 25°C mostraron en el tiempo cero, un valor de peróxido de 0.67 meq de HP / kg de AEN hasta llegar a un valor de 4.27 meq de HP / kg de AEN en la octava semana. Cuando el AEN fue encapsulado usando PCH-GA a 25°C, el valor de

peróxido en el tiempo cero fue de 0.79 meq de HP / kg de AEN y alcanzo un valor de 7.73 meq de HP / kg de AEN en la octava semana.

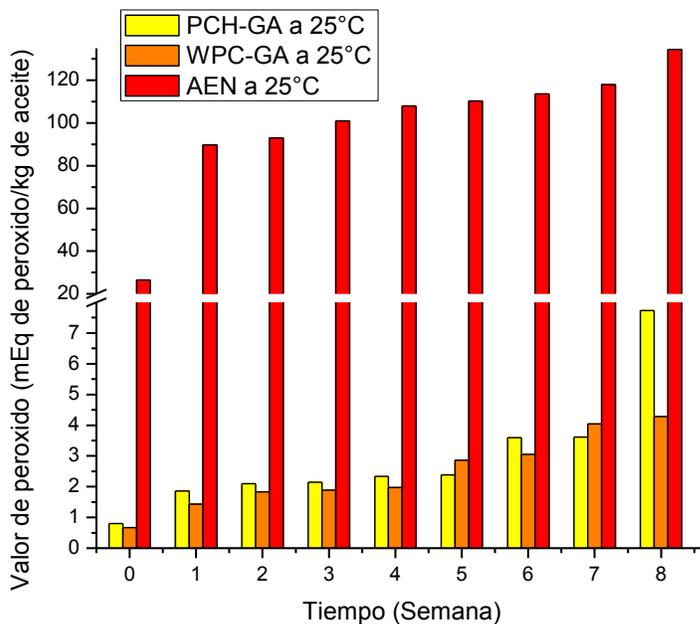
Para las condiciones de 35°C las microcápsulas de AEN cubiertas con WPC-GA, tuvieron un valor de peróxido de 0.6 meq de HP / kg de AEN en el tiempo cero hasta llegar a un valor de 11.14 meq de HP / kg de AEN en la octava semana. En el caso del sistema PCH-GA, el valor de peróxido en el tiempo cero fue de 0.75 meq de HP / kg de AEN y alcanzo un valor de 1.89 meq de HP / kg de AEN en la octava semana.

Con una temperatura de 40°C las microcápsulas de AEN encapsuladas con WPC-GA, tuvieron un valor de peróxido de 0.76 meq de HP / kg de AEN en el tiempo cero hasta llegar a un valor de 10.13 meq de HP / kg de AEN en la octava semana. Para el sistema PCH-GA, el valor de peróxido en el tiempo cero fue de 0.78 meq de HP / kg de AEN y alcanzo un valor de 2.14 meq de HP / kg de AEN en la octava semana.

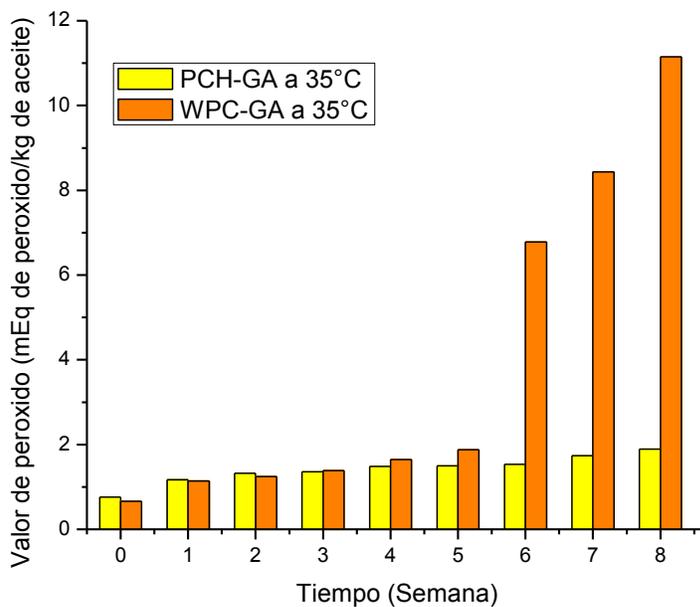
Durante la primer semana ambos sistemas mostraron valores de peróxido similares, en el caso del sistema WPC-GA obtuvo valores de 1.43, 1.14, 1.18 mientras que el sistema PCH-GA obtuvo valores de 1.86, 1.16, 0.94 meq de HP / kg de AEN para las temperaturas 25, 35 y 40°C respectivamente., sin embargo, el sistema WPC-GA mostro un mejor comportamiento manteniendo valores bajos de peróxido a 25°C, por el contrario el sistema PCH-GA obtuvo mejores valores para las temperaturas altas 35 y 40°C ya que el incremento en los valores de peróxido fueron constantes y pequeños a diferencia del sistema WPC-GA en donde se muestra una degradación en la proteína a partir de la cuarta semana incrementando de manera considerable los valores de peróxido haciendo presente una liberación de aceite de la microcápsula, esto se puede explicar debido a la característica de la proteína de chícharo, la cual presenta un incremento en la hidrofobicidad de la proteína a temperaturas altas, esto mejora la capacidad de la proteína para adsorber hacia la interfase en consecuencia, la internalización de los grupos hidrófobos aumenta la aleatoriedad del sistema 'proteína más agua' y, por consiguiente, produce un aumento de entropía al doblarse. Este aumento de entropía produce una contribución negativa a la energía libre del plegado y aumenta la estabilidad de la estructura proteica (Mahmoudi, *et al.*, 2011).

En resumen, el AEN es demasiado lábil en condiciones diferentes a temperatura ambiente, sin embargo la microencapsulación es un método eficiente para protegerlo de esto, el sistema de biopolímeros WPC-GA resulto ser el más eficiente para una temperatura de 25°C, sin embargo, si

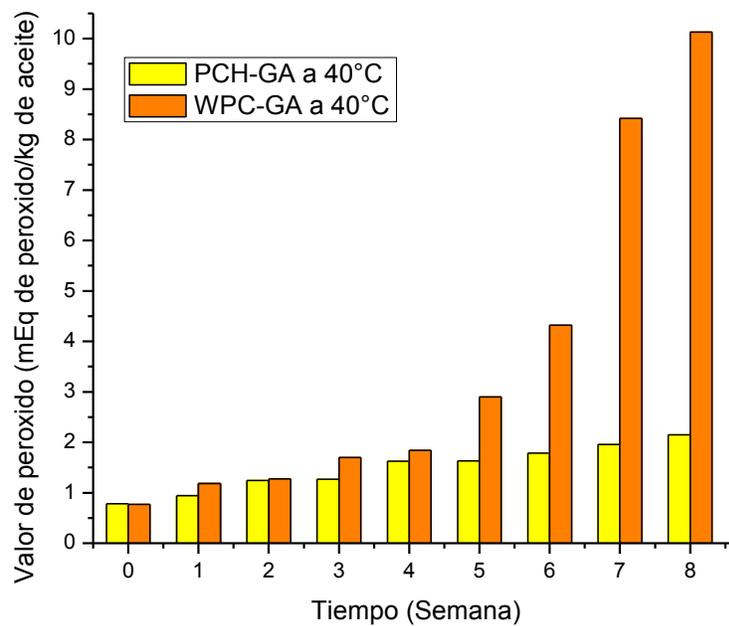
el objetivo es una temperatura mayor a ésta el sistema PCH-GA arroja los resultados más consistentes, mostrando un menor valor de peróxidos en temperaturas mayores a los 25°C.



**Figura 2.** Valores de peróxido del AEN sin encapsular y del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 25°C.



**Figura 3.** Valores de peróxido del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 35°C.



**Figura 4.** Valores de peróxido del AEN encapsulado con WPC-GA, y PCH-GA, en almacenamiento por ocho semanas a 35°C.

# CONCLUSIONES

## 7. CONCLUSIONES

El desarrollo de microcápsulas con biopolímeros de origen animal y de origen vegetal permitió identificar que ambas proteínas (WPC y PCH) pueden ser empleadas eficientemente como agentes encapsulantes en conjunto con goma arábica (GA) capaces de formar microcápsulas, aunque el empleo de cada una de ellas aporta características diferentes a las microcápsulas.

En el estudio de las emulsiones conformadas por las mezclas de proteína y el aceite esencial de naranja podemos resaltar una diferencia notable en cuanto a la estabilidad emulsionante del sistema WPC-GA siendo de 86.67% mientras que la del sistema PCH-GA es del 71.43%, en las propiedades de espuma también existe una diferencia notoria ya que el sistema WPC-GA muestra propiedades de formación de espuma bastante mayores con respecto al sistema PCH-GA siendo la estabilidad de la espuma la más relevante con datos de 58.62% con respecto a 3.45% para los sistemas respectivamente. Esto se puede corroborar teniendo en cuenta que el sistema WPC-GA obtuvo una cinética de coalescencia más lenta con respecto al sistema PCH-GA, lo cual nos indica una mayor estabilidad en la emulsión conformada por proteína animal, siendo  $9.92 \times 10^{-7} \text{ K}_c \text{ (s}^{-1}\text{)}$  para WPC y  $7.73 \times 10^{-7} \text{ K}_c \text{ (s}^{-1}\text{)}$  para PCH.

Al emplear microcápsulas compuestas con proteína de suero de leche con una humedad de 3.33%, se obtuvo un ángulo de reposo de  $23.19^\circ$ , un índice de compresibilidad de Carr de 10 % y un radio de Hausner de 1.1; mientras que cuando se ocupó la proteína de chícharo con una humedad de 2.33%, se obtuvo un ángulo de reposo de  $21.46^\circ$ , un índice de compresibilidad de Carr de 25 % y un radio de Hausner de 1.34. Sin embargo, a pesar de que estos parámetros fueron muy similares para ambas formulaciones, podemos argumentar que las microcápsulas compuestas con WPC tienen un comportamiento más a fin con un flujo libre, mientras que las microcápsulas compuestas con PCH podrían presentar problemas de fluidez afectando así su transporte, envasado y comercialización.

De los resultados obtenidos de la formación de peróxidos se pudo identificar que ambos sistemas biopoliméricos son aptos para la protección de los aceites lábiles ante factores ambientales, retardando la oxidación del aceite esencial de naranja el cual es extremadamente lábil y prolongando la vida útil de los microencapsulados a través del tiempo, sin embargo las capsulas de WPC mostraron mejores resultados a temperatura ambiente mientras que las de PCH obtuvieron un mejor rendimiento a 35 y 40°C. Por otro lado, la formulación compuesta con WPC tiene una

mayor capacidad para retener el aceite esencial de naranja en el núcleo esto en base a la eficiencia de encapsulamiento mayor (88 %) respecto a la eficiencia de encapsulamiento obtenida en la formulación compuesta con PCH (85.1 %).

De manera global, el sistema de biopolímeros conformado por proteína de suero de leche y goma arábica mostró los resultados más contundentes y apropiados para éste estudio, demostrando así una mejor sinergia entre la proteína animal y el polisacárido con respecto a la proteína vegetal, por lo cual el sistema que aporta las mejores propiedades para proteger el aceite esencial de naranja con respecto a las condiciones deteriorarías es el sistema WPC-GA.

## BIBLIOGRAFÍA

Adamiec, J. & Kalembe, D., 2006. Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray drying. *Dry Technol*, Volumen 24, pp. 1127-1132.

Alpizar-Reyes, E. y otros, 2017. Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid.. *Journal of Food Engineering*, Volumen 209, pp. 68-75..

Álvarez-Chávez, L., Valdivia-López, M., Aburto-Juárez, M. & Tecante, A., 2008. Chemical characterization of the lipid fraction of mexican chía seed (*Salvia hispánica* L.). *Int J Food Prop*, pp. 687-697.

Anon., 2019. *iQuimicas*. [En línea]  
Available at: [https://iquimicas.com/que-es-un- /](https://iquimicas.com/que-es-un-/)

Aranberri, I., BP, B., JH, C. & PD., F., 2006. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos.. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Volumen 7, pp. 211-231..

Azuaje, F., 2017. *Biopolimeros*. [En línea]  
Available at: <http://biopolimerosenlaactualidad.blogspot.com/2017/05/tipos-de-biopolimeros.html>

Bakry, A. M. y otros, 2016. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Researchgate*, Volumen 15, pp. 143-182.

Bakry, A. M. y otros, 2016. Stability of tuna oil and tuna oil/peppermint oil blend microencapsulated using whey protein isolate in combination with carboxymethyl cellulose or pullulan.. *Food Hydrocolloids*, Volumen 60, pp. 559-571.

Bauer, K. & Garbe, D., 1985. Common Fragrance and Flavor Materials. *VCH Verlagsgesellschaft*, p. 213.

Bauer, K., Garbe, D. & Surburg, H., 2001. Common Fragrance and Flavor Materials. Wiley-VCH, p. 293.

Belletti, N. y otros, 2004. Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 6932-6938.

Beristain, C. I., García, H. S. & Vernon-Carter, E. J., 2001. Spray-dried encapsulation of cardamom (*Ellearia cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, Volumen 34, pp. 398-401.

Bertolini, A. C., Siani, A. C. & Grosso, R. F., 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Issue 49, pp. 780-785.

Bhandari, B. y otros, 1992. Flavor encapsulation by spray drying – application to citral and linalyl acetate. *J Food Sci*, Volumen 57, pp. 217-221.

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

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

Boyle, W., 1955. Spices and essential oils as preservatives.. *The American Perfumer and Essential Oil Review* 66, pp. 25-28.

Bringas-Lantigua, M. y otros, 2011. Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil.. *Drying Technology*, Issue 29, p. 520–526..

Carneiro, H., Tonon, R., Grosso, C. & Hubinger, M., 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, Issue 115, p. 443–451..

Carson, C. & Riley, T., 1993. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, pp. 49-55.

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

Cerón-Salazar, I. & Cardona-Alzate, C., 2011. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cáscara de naranja. *Ingeniería y Ciencia*, pp. 65-86.

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

Cortés-Camargo, S. y otros, 2017. Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil: Evaluation of mixtures of mesquite gum–nopal mucilage as new wall materials.. *Journal of microencapsulation*, Volumen 34, pp. 395-407.

Cosentino, S. y otros, 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, pp. 130-135.

Coumans, W., Kerkhof, P. & Bruin, S., 1994. Theoretical and practical aspects of aroma retention in spray drying and freeze drying. *Dry Technol*, Volumen 12, pp. 99-149.

Cox, S. y otros, 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, pp. 170-175.

Crosthwaite, D., 1998. *UK trade within the flavour and fragrance*. London, IFEAT, pp. 6-12.

Cutter, C., 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, pp. 601-607.

Dalgleish, D., 2006. Food emulsions-their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloid*, pp. 415-422.

Delaquis, P., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 101-109.

Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, Issue 17, p. 25–39.

Drusch, S., Serfert, Y. & Schwarz, K., 2006. Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: Flow properties and oxidative stability. *Eur J Lipid Sc and Technol*, Volumen 108, pp. 501-512.

Dziejak, J. D., 1988. Microencapsulation and ingredients. *Food Technology*, Volumen 42, pp. 136-148,151.

Escalona-García, L. y otros, 2016. Oxidation kinetics and thermodynamic analysis of chia oil microencapsulated in a whey protein concentrate-polysaccharide matrix.. *Journal of Food Engineering*, Issue 175, p. 93–103..

Fang, X., Shima, M. & Adachi, S., 2005. Effects of drying conditions on the oxidation of linoleic acid encapsulated with gum Arabic by spray-drying. *Int J Food Sc Technol*, Volumen 11, pp. 380-384.

Fang, Z. & Bhandari, B., 2010. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends Food Sci Technol*, Issue 21, p. 510.

Fisher, K. & Phillips, C. A., 2006. The effect of lemon, orange, and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, pp. 1232-1240.

Gharsalloui, A. y otros, 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*, Volumen 40, pp. 1107-1121.

Goyal, A. y otros, 2015. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification.. *Powder Technology*, Volumen 286, pp. 527-537.

Guenther, E., 1948. *The Essential Oils*.. New York: D. Van Nostrand.

Gupta, M., Gularia, P., Singh, D. & Gupta, S., 2014. Analysis of aroma active constituents, antioxidant and antimicrobial activity of *C. sinensis*, *Citrus limetta* and *C. limon* fruit peel oil by GC-MS. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, pp. 895-899.

Hamdan, D. I. y otros, 2013. Anti-inflammatory, insecticidal and antimicrobial activities and chemical composition of the essential oils of different plant organs from navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. *Malesy*) grown in Egypt. *Journal of Medicinal Plants Research*, pp. 1204-1215.

Hartmans, K., Diepenhorst, P., Bakker, W. & Gorris, L., 1995. 1995The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. *Industrial Crops and Products*, pp. 3-13.

Hogan, S., McNamee, B., O'Riordan, E. & O'Sullivan, M., 2001. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *J Agri Food Chem*, Volumen 49, pp. 1934-1938.

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

Ilsley, S., Miller, H., Greathead, H. & Kamel, C., 2002. Herbal sow diets boost pre-weaning growth. *Pig Progress*, pp. 8-10.

Jafari, S., Assadpoor, E. & Yinghe, H., 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oil during spray drying. *Dry Technol*, Volumen 26, pp. 816-835.

Jafari, S., Yinghe, H. & Bhandari, B., 2007. Role of powder particle size on the encapsulation efficiency of oils during spray drying. *Dry Technol*, Volumen 25, pp. 1091-1099.

Jiménez-Alvarado, R. y otros, 2009. Ferrous bisglycinate content and release in W1/O/W2 multiple emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes. *Food Hydrocolloids*, Issue 22, p. 2425–2433.

Jindal, M., Kumar, V., Rana, V. & Tiwary, A., 2013. Exploring potential new gum. *Ind. Crops Prod.*, Issue 45, pp. 312-318.

Kabalnov, A., 1998. *Coalescence in emulsions, in modern aspects of emulsion science*. Cambridge: B. P. Binks.

Kaewmanee, T. y otros, 2014. Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax.. *Food chemistry*, Volumen 148, , pp. 60-69..

Kalegowda, P., Chauhan, A. S. & Urs, S. M. N., 2017. Opuntia dillenii (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage: Physico-chemical, rheological and functional behavior.. *Carbohydrate polymers*, Volumen 157, pp. 1057-1064.

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

Kitchener, J. & Musselwhite, P., 1969. Theory of stability of emulsions. En: S. P., ed. *Emulsion Science*. London, England: Academic Press, p. 77–130.

Labuza, T., 1984. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of Chemical Education*, Issue 61, pp. 348-358.

Langrish, T. & Chiou, D., 2008. Producing powders of hibiscus extract in a laboratory-scale spray dryer. *Int J Food Eng*, Volumen 4, pp. 1-21.

Lis-Balchin, M. y otros, 1999. Differences in bioactivity between the enantiomers of  $\alpha$ -pinene. *Journal of Essential Oil Research*, pp. 393-397.

- Liu, X., Furuta, T., Yoshii, H. & Linko, P., 2000. Retention of emulsified flavor in a single droplet during drying. *Food Sci Technol*, Volumen 6, pp. 335-339.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. & Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release a review. *Int J Food Sc Technol*, Volumen 41, pp. 1-21.
- Mahfoudhi, N. y otros, 2014. Assessment of emulsifying ability of almond gum in comparison with gum Arabic using response surface methodology.. *Food Hydrocoll.*, Volumen 37, pp. 49-59.
- Mahmoudi, N., Axelos, M. A. V. & Riaublanc, A., 2011. Interfacial properties of fractal and spherical whey protein aggregates. *Soft matter*, Issue 7(17), pp. 7643-7654.
- Manabe, A., Nakayama, S. & Sakamoto, K., 1987. Effects of essential oils on erythrocytes and hepatocytes from rats and dipalitoyl phophatidylcholine-liposomes. *Japanese Journal of Pharmacology*, pp. 77-84.
- Marino, M., Bersani, C. & Comi, G., 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *Journal of Food Protection*, p. 1017-1023.
- McClements, D., 1999. Food emulsions: principles, practice and techniques.. *CRC Press*.
- McClements, D., 2004. Protein stabilized emulsions.. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, Volumen 9, pp. 305-313.
- McClements, D., Decker, E. & Weiss, J., 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components.. *J Food Sci*, pp. 109-124.
- McNamee, B. F., O'Riordan, E. D. & O'Sullivan, M., 1998. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volumen 46, pp. 4551-4555.
- Mendoza-Yepes, M., Sanchez-Hidalgo, L., Maertens, G. & Marin-Iniesta, F., 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by a plant essential oil (DMC) en Spanish soft cheese. *Journal of Food Safety*, pp. 47-55.

- Menin, A. y otros, 2018. Effects of microencapsulation by ionic gelation on the oxidative stability of flaxseed oil.. *Food chemistry*, Volumen 269, pp. 293-299.
- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S. & Matsuno, R., 2002. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spraydrying. *J of Microencapsulation*, Volumen 19, pp. 181-189.
- Mishra, S., Mann, B. & Joshi, V., 2001. Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin. *Food Hydrocolloids*, Issue 15, p. 9–15.
- Montes, E. J. M., De Paula, C. D. & Ortega, F., 2007. Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*).. *Temas agrarios*, Volumen 12(1), pp. 5-12.
- Moyler, D., 1998. *CO2 extraction and other new technologies: an update on commercial adoption*. London, IFEAT, pp. 33-39.
- Niu, F. y otros, 2016. Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion: Rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study.. *Food Hydrocolloids*, Issue 52, p. 607–614.
- Onsaard, E., Putthanimon, J., Singthong, J. & Thammarutwasik, P., 2018. Oxidation stability of sesame oil encapsulated by spray drying.. *International Food Research Journal*, Volumen 2, p. 25.
- Oosterhaven, K., Poolman, B. & Smid, E., 1995. S-carvone as a natural potato sprout inhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. *Industrial Crops and Products*, pp. 23-31.
- Ortiz-Basurto, R. I. y otros, 2017. Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation.. *Carbohydrate polymers*, Volumen 175, pp. 603-609..
- Packiyasothy, E. & Kyle, S., 2002. Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*, pp. 384-387.

- Park, S. J., Shin, Y. S. & Lee, J. R., 2001. Preparation and Characterization of microcapsules containing lemon oil. *Journal of Colloid and Interface Science*, Volumen 241, pp. 502-508.
- Parthasarathi, S. & Anandharamakrishnan, C., 2016. Enhancement of oral bioavailability of vitamin E by spray-freeze drying of whey protein microcapsules.. *Food and Bioproducts Processing*, Volumen 100, pp. 469-476.
- Pedroza-Islas, R., Vernon Carter, E. J., Durán-Domínguez, C. & Trejo-Martínez, S., 1999. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation-I, Microcapsule particle size, morphology and microstructure. *Food Research International*, Volumen 32, pp. 367-374.
- Peleg, M., 1977. Flowability of food powders and methods for its evaluation—a review.. *Journal of Food Process Engineering* , Volumen 1(4), pp. 303-328.
- Pérez Alonso, C. y otros, 2008. DSC thermo-oxidative stability of read chili oleoresin microencapsulated in blended biopolymers matrices. *J Food Eng*, Issue 85, pp. 613-624..
- QuimiNet, 2011. *QuimiNet*. [En línea] Available at: <https://www.quiminet.com/articulos/todo-lo-que-queria-saber-de-la-goma-arabiga-64082.htm>
- Reineccius, G., 2004. The spray drying of food flavors. *Dry Technol*, Volumen 22, pp. 1289-1324.
- Ré, M. I., 1998. Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, Volumen 16, pp. 1195-1236.
- Rezaei, A., Nasirpour, A. & Tavanai, H., 2016. Fractionation and some physicochemical. *Food Hydrocoll*, Issue 60, pp. 461-469.
- Rodea-González, D. A. y otros, 2012. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, Issue 111(1), pp. 102-109.
- Rodríguez-Huezo, E. y otros, 2004. Microencapsulation by spray-drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal Food Science*, Volumen 69, pp. 351-359.

Román-Guerrero, A. y otros, 2009. Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. *Food Hydrocolloids*, Issue 23, p. 708–713.

Ruiz-Ramos, J. y otros, 2006. Interrelationship between the viscoelastic properties and effective moisture diffusivity of emulsions with the water vapor permeability of edible films established by mesquite gum-chitosan complexes.. *Carbohydrate Polymers*, Issue 64, pp. 355-363..

Senatore, F., 2000. Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae) growing wild in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, pp. 186-189.

Shahidi, F. & Han, X., 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Review Food Science Nutrition*, Volumen 33, pp. 501-547.

Shaikh, J., Bhosale, R. & Singhal, R., 2004. Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Journal of Food Chemistry*, Volumen 94, pp. 105-110.

Shantha, N. & Decker, E., 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids.. *Journal of AOAC International*., Issue 77, p. 421–424.

Sherman, P., 1969. Emulsion Science. En: P. Sherman, ed. *Rheology of emulsions*. London, England: Academic Press, p. 217–351.

Soottitawat, A. y otros, 2005. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying.. *Food Sci Technol*, Volumen 6, pp. 107-114.

Tolstoguzov, V., 2003. Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, Issue 17, p. 1–23.

Van de Braak, S., 1999. Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. *Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries*, p. 116.

Van Krimpen, M. & Binnendijk, G., 2001. RopadiarR as alternative for antimicrobial growth promoter in diets of weanling pigs. *ISSN*, p. 14.

Van Welie, 1997. Alle cosmetica ingrediënten en hun functies.. *Nederlandse Cosmetica Vereniging*, p. 126.

Vernon-Carter, E., Beristain, C. & Pedroza-Islas, R., 2000. Mesquite gum (Prosopisgum). In: Doxastakis, G., Kiosseoglou, V. (Eds.) . En: *Novel Macromolecules in Food Systems*. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, p. 217–238.

Vernon-Carter, E. y otros, 1996. Color degradation and coalescence kinetics of aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gums and their blends. *J Text Stud*, Volumen 27, pp. 625-641.

Vernon-Carter, E., Pedroza Islas, R. & Beristain, C., 1998. Stability Capsicum annum oleoresin in water emulsions containing Prosopis and Acacia gums. *J Text Stud*, Volumen 29, pp. 553-567.

Walstra, P. & Dickinson, E., 1987. Overview of Emulsions and Foam Stability. *Food Emulsions and Foams. Proc. International Symposium*, pp. 242-258.

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

Ye, A., Hemar, Y. & Singh, H., 2004. Influence of polysaccharides on the rate of coalescence in oil-in-water emulsions formed with highly hydrolyzed whey proteins. *J Agricultural Food Chem*, Issue 52, pp. 5491-5498.

Yildiz, G. y otros, 2018. Microencapsulation of docosahexaenoic acid (DHA) with four wall materials including pea protein-modified starch complex.. *International journal of biological macromolecules*, Volumen 114, pp. 935-941.

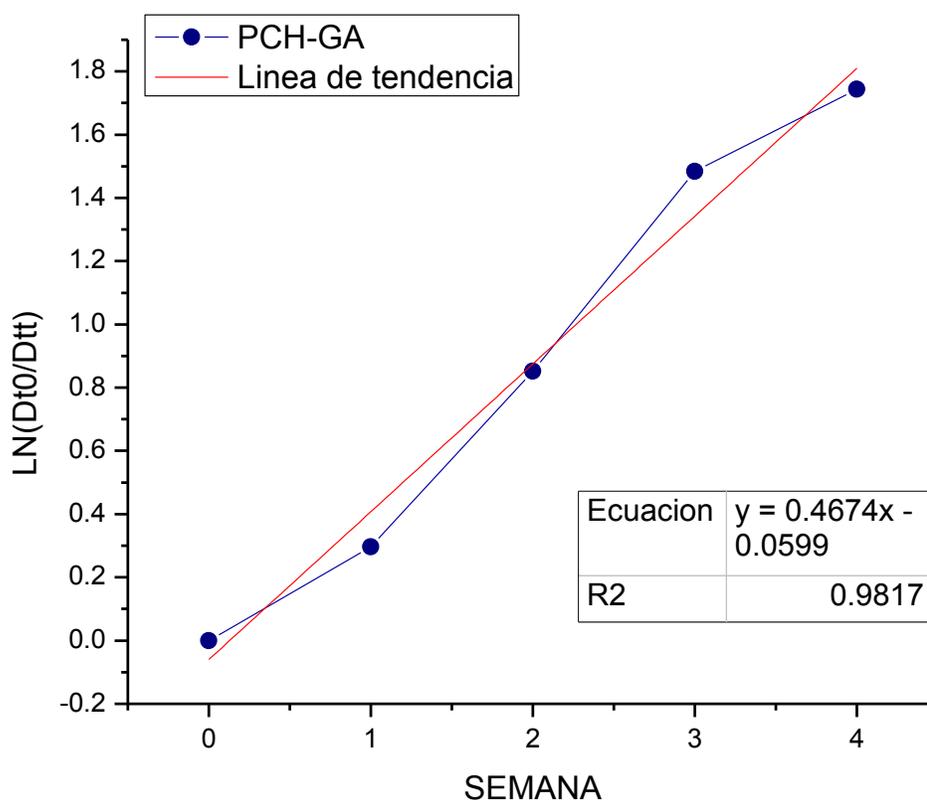
Zabka, M., R., P. & L., S., 2009. Antifungal effect of Pimenta dioica essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi.. *Industrial Crops and Products*, Issue 30, pp. 250-253.

## ANEXOS

### ANEXO 1. CINÉTICA DE COALESCENCIA

**Tabla 7.** Resultados de la emulsión PCH-GA con AEN

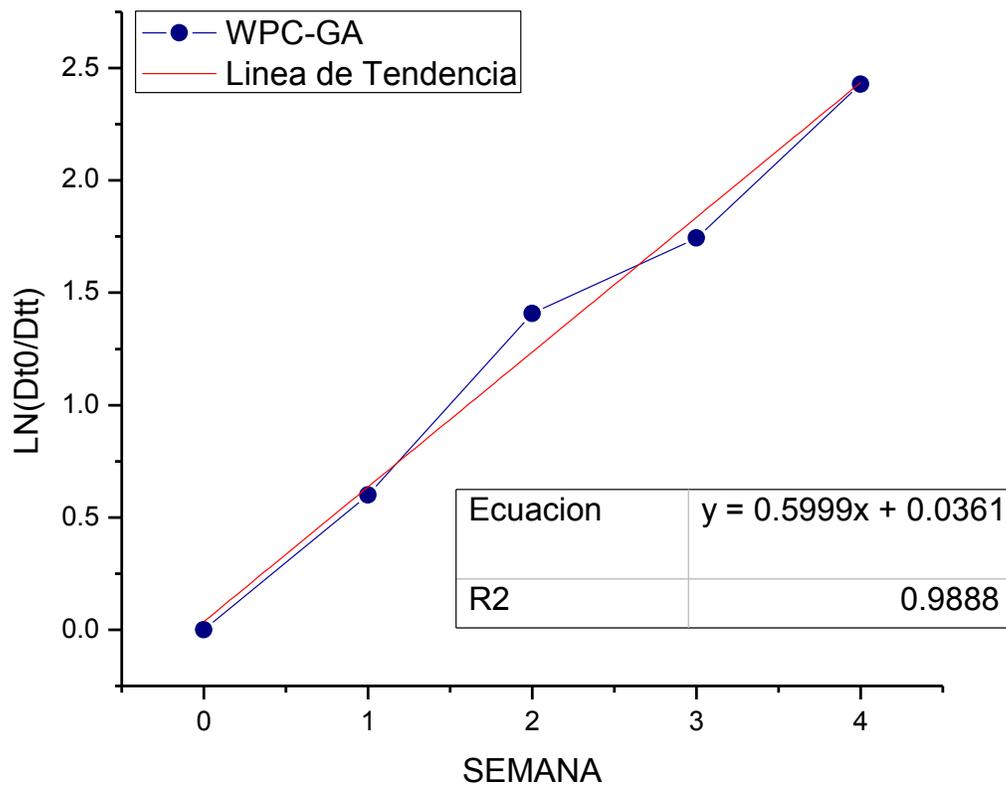
Tiempo (semanas)	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Radio ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )
0	518.35	79.19	12.61	25.21
1	410.63	71.75	11.42	22.84
2	295.36	59.64	9.49	18.98
3	195.89	48.31	7.69	15.38
4	171.42	44.28	7.05	14.10



**Figura 5.** Tamaño de gota de la emulsión PCH-GA con AEN a lo largo de 4 semanas

**Tabla 8.** Resultados de la emulsión WPC-GA con AEN

Tiempo (semanas)	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Radio ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )
0	297.67	60.28	9.59	19.19
1	181.21	49.69	7.86	15.71
2	111.76	35.59	6.00	12.00
3	96.98	33.71	5.36	10.73
4	58.39	26.83	4.27	8.54



**Figura 6.** Tamaño de gota de la emulsión WPC-GA con AEN a lo largo de 4 semanas

## ANEXO 2. PERFILES DE OXIDACIÓN

**Tabla 9.** Resultados de los perfiles de oxidación a 25 °C

<b>Tiempo</b> (Semanas)	<b>Valor de peróxidos @ 25 °C</b> (meq / kg aceite)		
	<b>WPC-GA</b>	<b>PCH-GA</b>	<b>AEN</b>
0	0.672	0.799	26.499
1	1.435	1.864	89.697
2	1.832	2.102	93.017
3	1.887	2.150	100.932
4	1.975	2.340	107.911
5	2.865	2.380	110.294
6	3.055	3.595	113.529
7	4.040	3.611	118.040
8	4.279	7.734	134.466

**Tabla 10.** Resultados de los perfiles de oxidación a 35 °C

<b>Tiempo</b> (Semanas)	<b>Valor de peróxidos @ 35 °C</b> (meq / kg aceite)	
	<b>WPC-GA</b>	<b>PCH-GA</b>
0	0.664	0.759
1	1.141	1.165
2	1.244	1.323
3	1.387	1.355
4	1.649	1.482
5	1.880	1.498
6	6.781	1.530
7	8.433	1.737
8	11.150	1.895

**Tabla 11.** Resultados de los perfiles de oxidación a 40 °C

<b>Tiempo</b> (Semanas)	<b>Valor de peróxidos @ 40 °C</b> (meq / kg aceite)	
	<b>WPC-GA</b>	<b>PCH-GA</b>
0	0.767	0.783
1	1.180	0.942
2	1.276	1.244
3	1.697	1.268
4	1.840	1.625
5	2.896	1.633
6	4.318	1.784
7	8.417	1.959
8	10.133	2.150