



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



**“ENCAPSULACIÓN DE ACEITES GRASOS POLIINSATURADOS
EMPLEANDO LA ESPOROPOLENINA COMO POTENCIAL
AGENTE ENCAPSULANTE”**

TESIS

**Para obtener el título de:
INGENIERO QUÍMICO**

Presenta:

Alfonso Alfaro Bejarano

Director:

DR. EN C. CÉSAR PÉREZ ALONSO

Asesor Adjunto:

DR. JULIÁN CRUZ OLIVARES

Toluca, México, Marzo 2022

Contenido

2.	LISTA DE FIGURAS.....	iii
3.	LISTA DE TABLAS.....	iv
4.	AGRADECIMIENTOS.....	v
5.	RESUMEN	vi
6.	INTRODUCCIÓN	viii
7.	ANTECEDENTES	1
7.1	ÁCIDOS GRASOS.	1
7.1.1	Obtención de ácidos grasos de semillas oleaginosas.....	2
7.1.2	Aceite de ajonjolí.....	4
7.1.3	Aceite de chía.	7
7.2	ENCAPSULACIÓN	9
7.2.1	Procesos químicos.....	13
7.2.2	Procesos mecánicos	17
7.3	Biopolímeros	22
7.3.1	Gomas y mucílagos.....	25
7.3.2	Proteínas	26
7.3.3	Carbohidratos.....	27
7.3.4	Lípidos	28
7.4	ESPOROPOLENINA.....	30
7.4.1	Esporopolenina en transporte de fármacos.....	33
7.4.2	Esporopolenina como soporte de catalizadores.....	34
7.4.3	Esporopolenina en remoción de contaminantes.	35
7.4.4	Esporopolenina como agente encapsulante en la industria alimentaria.....	37
8.	JUSTIFICACIÓN.....	39
9.	HIPÓTESIS.....	40
10.	OBJETIVOS	41
10.1	OBJETIVO GENERAL.....	41
10.2	OBJETIVOS PARTICULARES	41
11.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
11.1	MATERIALES	42
11.2	MÉTODOS.....	42

11.2.1	Extracción de aceites.....	42
11.2.2	Caracterización de la esporopolenina.....	43
9.2.3.	Purificación de esporopolenina.....	44
11.2.4	Características estructurales de la esporopolenina no purificada y purificada	45
11.2.5	Encapsulación de aceites en las esporas.....	46
11.2.6	Eficiencia de encapsulamiento.....	47
11.2.7	Perfiles de liberación del aceite contenido en la esporopolenina	48
12.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
12.1	Caracterización de la esporopolenina no purificada.....	50
12.1.1	Espectroscopia Infrarroja (FTIR).....	50
12.1.2	Análisis Termogravimétrico y calorimétrico.....	51
12.1.3	Características estructurales de la esporopolenina no purificada y purificada	53
12.2	Propiedades encapsulantes de la esporopolenina.....	56
12.3	Perfiles de liberación de los aceites encapsulados en la esporopolenina	59
13.	CONCLUSIONES	63
14.	BIBLIOGRAFIA.....	65

2. LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS. (BEINDORFF & ZUIDAM, 2009).....	3
FIGURA 2 COMPOSICIÓN DE CÁPSULA (AMR ET AL., 2016)	10
FIGURA 3 DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DEL MECANISMO DE LIBERACIÓN DE CÁPSULA (AMR ET AL., 2016).....	12
FIGURA 4 ILUSTRACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS DIFERENTES PROCESOS DE ENCAPSULAMIENTO (OZKAN ET AL., 2019)	13
FIGURA 5 PRINCIPIO DEL MÉTODO DE COACERVACIÓN (ASBAHANI ET AL., 2015).....	14
FIGURA 6 CÁPSULA POR CO-CRISTALIZACIÓN DE TÉ VERDE (AKBARI ET AL., 2019)	15
FIGURA 7 ESTRUCTURA MOLECULAR DE 3 TIPOS DE CICLODEXTRINA (MACIAS ET AL., 2019)	17
FIGURA 8 DIAGRAMA SECADO POR ASPERSIÓN CORRIENTE PARALELA. (VENKATA ET AL., 2010)	19
FIGURA 9 DIAGRAMA SPRAY CHILLING (OXLEY 2012)	21
FIGURA 10 PROCESO DE EXTRUSIÓN DE PROBIÓTICOS POR TÉCNICA DE EXTRUSIÓN. (AGHAJANI ET AL, 2020).....	22
FIGURA 11 NANOPARTICULA DE LIPIDOS SÓLIDOS (EGHBAL & CHOUDHARY, 2018)	29
FIGURA 12 PORTADORES DE LIPIDOS NANOESTRUCTURADOS (EGHBAL & CHOUDHARY, 2018)	29
FIGURA 13 ESPORA DE L.CLAVATUM Y ESPORA TRATADA CON ÁCIDOS DE L.CLAVATUM (SYLVAIN ET AL., 2010).....	32
FIGURA 14 ESPORA NO PURIFICADA	45
FIGURA 15 ESPORA PURIFICADA	45
FIGURA 16 FT-IR DE ESPOROPOLENINA	51
FIGURA 17 TGA Y DSC DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA NO PURIFICADA	52
FIGURA 18 MORFOLOGÍA DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA NO PURIFICADA	53
FIGURA 19 MORFOLOGÍA DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA PURIFICADA	54
FIGURA 20 EDS DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA NO PURIFICADA	55
FIGURA 21 PERFILES DE LIBERACIÓN DE LOS ACEITES ENCAPSULADOS EN LA ESPOROPOLENINA	60

3. LISTA DE TABLAS

TABLA 1 COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL SEMILLA DE AJONJOLÍ	6
TABLA 2 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLA DE AJONJOLÍ	6
TABLA 3 COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL SEMILLA DE CHÍA	8
TABLA 4 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLA DE CHÍA	9
TABLA 5 PICOS ENCONTRADOS DSC DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA.	52
TABLA 6 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE MICROPARTÍCULAS DE ESPOROPOLENINA NO PURIFICADA.	56
TABLA 7 ENCAPSULACIÓN DE LOS ACEITES POR EL MÉTODO PASIVO	58
TABLA 8 ENCAPSULACIÓN DE LOS ACEITES POR EL MÉTODO DE AGITACIÓN	58
TABLA 9 ENCAPSULACIÓN DE LOS ACEITES POR EL MÉTODO AL VACÍO.....	59
TABLA 10 MODELOS CINÉTICOS QUE DESCRIBEN LOS PERFILES DE LIBERACIÓN DE LOS SISTEMAS ENCAPSULANTES.	61
TABLA 11 COEFICIENTES DE DIFUSIÓN EFECTIVO APARENTE DE LOS SISTEMAS ENCAPSULADOS.	62

4. AGRADECIMIENTOS

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

5. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue explorar la potencial capacidad que podría tener la espora de la especie *Lycopodium* como agente encapsulante de aceites grasos poliinsaturados como el aceite de ajonjolí y aceite de chía, los cuales son compuestos bioactivos con altos contenidos en aceites omega 6 y omega 3, pero sumamente termolábiles a factores ambientales como la temperatura, luz, oxígeno, etc., por lo que una manera de retardar estos fenómenos degradativos es mediante algún método de encapsulación.

El presente trabajo se dividió en tres apartados, el primero consistió en caracterizar la espora que comúnmente se le conoce como esporopolenina, mediante diferentes técnicas como IF-TR, DSC y SEM (por sus siglas en inglés) con el objeto de conocer sus propiedades químicas, térmicas y estructurales y corroborar con la literatura los resultados obtenidos en este trabajo con lo que ya se encuentra publicado relacionado a estas propiedades.

La segunda etapa consistió en purificar la esporopolenina para eliminar la materia orgánica contenida en su superficie externa y su estructura interna, y nuevamente analizar su topología por SEM. Posteriormente se procedió a evaluar la capacidad encapsulante de la esporopolenina no purificada y purificada, para ello se encapsuló el aceite de ajonjolí y el aceite de chía en una relación 1:3 w/w de agente encapsulante con respecto al material encapsulado y, se utilizaron tres métodos de encapsulación denominados encapsulación pasiva, encapsulación por agitación y encapsulación al vacío.

Los resultados más relevantes respecto a las propiedades encapsulantes de los dos tipos de esporopolenina (purificada y sin purificar) conllevaron a tener altos porcentajes de aceite superficial en la superficie de las esporas y bajos porcentajes de eficiencia de encapsulamiento (menores al 50%), por lo que al comparar estos resultados con otros tipos de agentes encapsulantes como las gomas, maltodextrina, almidones y mucílagos, este tipo de biopolímero no es competitivo para ser considerado un buen agente encapsulante.

Aunque la cantidad de aceite que se encontró en la estructura interna de las esporas, evidencia que si puede poseer la propiedad de retener cantidades equivalentes a su peso como lo demuestran los resultados del aceite total. Además, los perfiles de liberación de los aceites encapsulados demostraron tasas de liberación controladas por el mecanismo de difusión efectiva aparente. Por tanto, se puede concluir que la esporopolenina puede ser utilizada como agente coadyuvante para conformar un agente encapsulante más robusto empleándola en otro método de encapsulación como el secado por aspersion o gelificación iónica, para ello se requieren mayores estudios explorativos.

6. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la industria se encuentra en busca de la innovación de sus productos para hacerlos cada día más amigables con el medio ambiente, esto no significa que se deje de lado la optimización de los procesos o la eficiencia de estos.

Existen aceites esenciales con propiedades nutricionales, como es el caso del aceite de chía y aceite de ajonjolí. El aceite de chía contiene una gran cantidad de ácido α -linolénico (Omega-3) y el aceite de ajonjolí por su parte tiene una importante cantidad de ácido linoleico (Omega-6); la presencia de Omega-3 y Omega-6 en el organismo del ser humano se ha relacionado con la disminución de triglicéridos en sangre y mejora los niveles de colesterol, lo que llevaría a un menor riesgo de sufrir problemas cardiovasculares.

Como tal el cuerpo humano es incapaz de producir estos ácidos grasos, por lo cual es importante que los obtenga de otras fuentes provenientes de la dieta diaria o suplementos alimenticios. El uso y manejo de estos aceites es complicado, debido a que presentan alta volatilidad, son hidrofóbicos, lábiles y son susceptibles a degradarse ante la presencia de factores ambientales (luz, temperatura, humedad y oxígeno). La mejor alternativa para evitar la desnaturalización de los aceites es utilizar una solución tecnológica que resuelva adecuadamente la alteración de estos aceites.

La tecnología de encapsulación es un proceso que reduce la degradación de aceites de alto valor nutricional mediante el uso de agentes encapsulantes como los biopolímeros, los cuales funcionan como capa protectora ante los fenómenos deteriorativos, por lo tanto, es realmente importante evaluar la interacción que guarda el agente encapsulante con el material encapsulado, debido a que la estabilidad de las cápsulas depende de la compatibilidad que puedan tener la sustancia a encapsular y el biopolímero empleado.

Por lo anterior, el trabajo de investigación que se presenta consistió en evaluar la viabilidad de utilizar la esporopolenina como agente encapsulante de ácidos grasos polinsaturados, debido a que este biopolímero presenta ventajas respecto a los utilizados habitualmente en la industria.

7. ANTECEDENTES

7.1 ÁCIDOS GRASOS.

Los ácidos grasos poliinsaturados son componentes importantes de la dieta y aportan cerca de un 7-10 % de la energía total suministrada por los alimentos diariamente. Los ácidos grasos esenciales (AGE) son los componentes principales de todos los lípidos, estos pueden ser saturados (AGS), insaturados (AGI) o poliinsaturados (AGP) De estos existen dos ácidos grasos poliinsaturados que el cuerpo no puede producir el ácido linoleico (serie omega 6) y el ácido alfa linoleico (serie omega 3) los cuales deben ser obtenidos mediante la dieta (Blanco, 2015).

Todos los ácidos grasos mencionados tienen efectos sobre el organismo: Desde generar energía o modular una acción bioquímica como fisiológica del individuo. Entre otros componentes de la dieta, las cantidades relativas del conjunto de ácidos grasos modulan finalmente si la dieta consumida es saludable o perjudicial para la salud. Es interesante mencionar que además de aportar energía, también confieren mayor o menor fluidez, pueden actuar como segundos mensajeros y como resultados de su transformación metabólica, pueden generar distintos mediadores que conforman una serie de metabolitos que se pueden considerar bioactivos (Sanhueza et al., 2015).

La mayoría de los ácidos grasos omega-6 se consumen en la dieta a partir de aceites vegetales como el ácido linoleico (LA, por sus siglas en inglés). El organismo convierte el ácido linoleico en los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga: Gamma-linolénico (GLA) y ácido araquidónico (AA). El AA también se puede consumir directamente de la carne, y el GLA se ingiere a partir de varios aceites de origen vegetal (Valdés, 2018).

La extracción de las grasas y aceites naturales y sus transformaciones constituyen un sector industrial de gran importancia económica. Las principales materias primas utilizadas son los sebos y tocinos animales, los huesos, los productos secundarios de las fábricas de harina de pescado, la aceituna y las semillas oleaginosas (Primo, 2007).

7.1.1 Obtención de ácidos grasos de semillas oleaginosas

Los procesos de obtención de grasas vegetales de forma tradicional se clasifican en mecánicos, químicos o aquellos que incluyen una combinación de los dos. De forma general, incluyen las siguientes etapas: Limpieza para eliminar materias extrañas, secado para disminuir la humedad de la semilla, pelado de la semilla, tratamiento térmico para facilitar la extracción del aceite, extracción por prensado (Alba, 2016).

- En el primer caso, el cual es la extracción mecánica por prensado, una vez limpias las semillas se trituran y se calientan con vapor con objeto de dilatar los tejidos celulares. Seguidamente se someten a presión con prensas continuas de uso que alcanzan presiones altas y, simultáneamente, calientan la masa triturada. De este proceso se obtiene el aceite crudo y la torta. El aceite crudo se decanta, se filtra y pasa al proceso de refinado. La torta, que aun contiene entre un 15% y un 25% de aceite pasa a la etapa de extracción con disolvente.
- Para el segundo caso la extracción química con disolventes apolares se utiliza la fracción de petróleo que destila entre 55 y 65 °C, denominada hexano comercial. El hexano circula, a contracorriente, a través de depósitos llenos de material triturado. La disolución obtenida se destila para recuperar el hexano y obtener el aceite. Ambos procesos se usan extensamente para obtener aceites de semillas oleaginosas (soja, girasol, algodón, colza). El aceite así obtenido hay que refinarlo antes de utilizarlo para consumo humano. El residuo sólido desengrasado es muy rico en proteínas y se utiliza para la fabricación de productos compuestos y para extraer proteínas destinadas a la industria alimentaria.

La nomenclatura omega da cuenta del lugar, contando desde el grupo metilo, donde aparece el primer doble enlace (Figura 1) (Sanhueza et al., 2015).

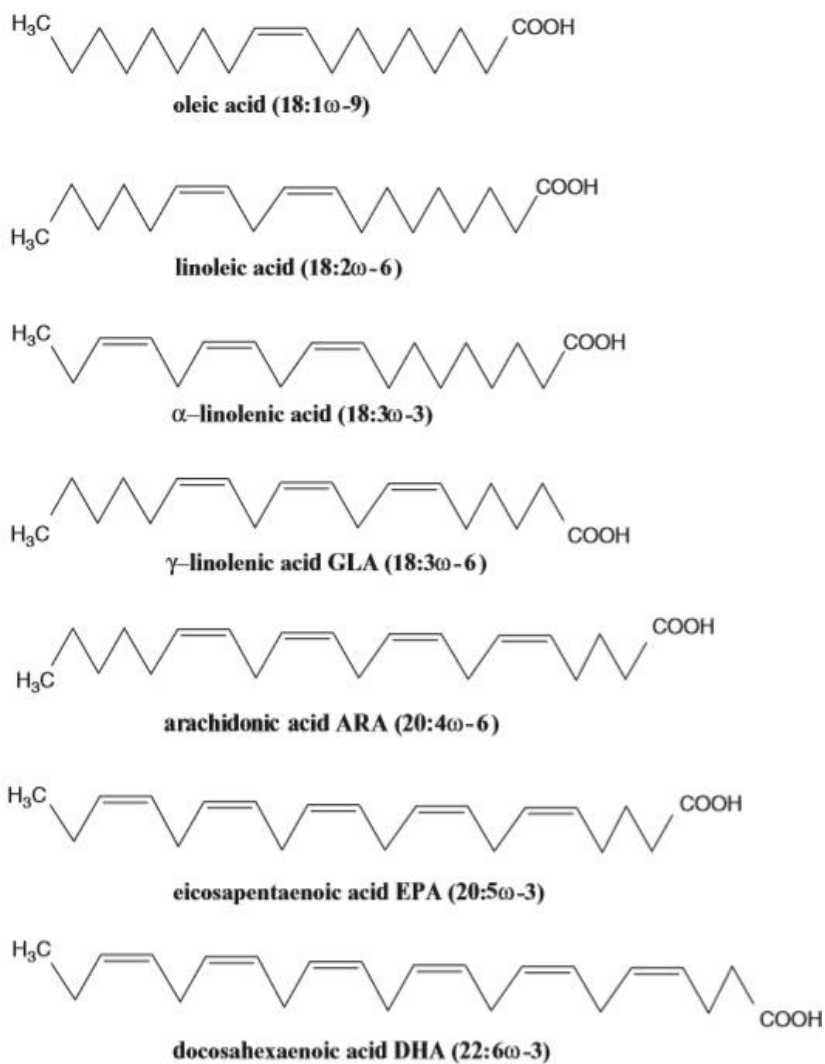


Figura 1 Ácidos grasos poliinsaturados. (Beindorff & Zuidam, 2009)

Los aceites vegetales contienen ácidos grasos mayoritariamente monoinsaturados, pertenecientes a la familia omega-9, y poliinsaturados pertenecientes a la familia omega-6, y por el contrario no contienen, o solo contienen pequeñas cantidades de ácidos grasos de la familia omega-3. Como es el caso del aceite de oliva, o girasol, de semilla de uva, de maíz,

y de soya. Como una excepción los aceites de canola, de chía y de linaza tienen un contenido superior de ácidos grasos omega-3 que de omega-6 (Valenzuela & Sanhueza, 2009).

Los aceites de origen marino se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos omega-3, aunque es necesario diferenciar entre los ácidos grasos omega-3 de origen vegetal y los de origen marino, ya que los de origen vegetal solo tienen como principal componente omega-3 al ácido alfa linolénico (ALN), en cambio los de origen marino se caracterizan por su alto contenido de los llamados ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) (Valenzuela & Sanhueza, 2009).

7.1.2 Aceite de ajonjolí.

El ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) es uno de los más antiguos e importantes cultivos de semillas oleaginosas conocidos por el hombre. Las semillas de ajonjolí son una fuente rica en proteínas y uno de los primeros cultivos los cuales fueron procesados para la producción de aceite (Hassan & Manal, 2012). Los cultivos de ajonjolí son comercializados de numerosas maneras. La mayor parte del ajonjolí es procesado directamente en aceite, pero también es comercializado en varias formas dependiendo del uso que se le este planeado dar, como comida, pasta y productos de panadería. Una vez que se han cosechado las semillas, estas se limpian y secan hasta aproximadamente 8% de humedad y luego se almacenan antes de triturarlas (Anilakumar et al., 2010)

El ajonjolí ha sido cultivado por siglos, particularmente en Asia y África específicamente en Sudan, Etiopía y Nigeria. Aproximadamente 78.6% de la producción mundial es proveniente de Asia. África proporciona el 16.6% del ajonjolí utilizado alrededor del mundo con Sierra Leona, Sudan, Nigeria y Uganda siendo los productores clave de este continente. América produce 4% de la demanda mundial de este producto, Europa el 2.9% y Oceanía el 0.2% (FAO, 2014).

El ajonjolí juega un papel importante en la nutrición humana, medicina, farmacéutica, industria y usos en la agricultura. La semilla de ajonjolí es muy rica en ácidos poliinsaturados usados en la producción de margarina y aceite de cocina. De igual manera esta semilla contiene cantidades significativas de lignanos sesamina y sesamolina. Estos compuestos tienen efectos beneficiosos sobre los niveles de lípidos en suero y la función hepática. Todas estas sustancias han mostrado poseer propiedades que reducen el colesterol en los humanos al igual que prevenir la presión sanguínea alta y proporcionar vitamina E (Gharby et al., 2017).

Las semillas de ajonjolí son una excelente fuente de cobre y calcio. Igualmente, son ricas en fósforo, hierro, magnesio, manganeso, zinc y vitamina B1. Tiene muchas propiedades medicinales y beneficios para la salud que se puede atribuir a su leve efecto laxante, emoliente y demulcente (Anilakumar et al., 2010).

Los ácidos grasos insaturados esenciales en el aceite de ajonjolí son químicamente inestables en presencia de oxígeno, luz, humedad y calor. La estabilidad del aceite de sésamo puede ser incrementado a través de procesos de microencapsulación (Fuentes et al., 2017).

La composición química del ajonjolí muestra que esta semilla es una importante fuente de aceite (50-60%), proteína (18-25%), carbohidratos y cenizas. La cantidad y calidad del aceite contenido en la semilla se ha mostrado dependiente de factores ecológicos, genéticos y fisiológicos como el clima, tipo de suelo y madurez de la planta respectivamente (Mera & Amada, 2017).

El aceite de ajonjolí es rico en ácidos grasos insaturados donde la composición de ácidos grasos es 14% saturados, 39% monoinsaturados y 46% poliinsaturados. Por el lado de carbohidratos su composición es de 3.2% glucosa, 2.6% fructuosa y 0.2% sacarosa, mientras que lo restante lo conforma fibra dietética. La composición nutrimental es enlistada en la tabla 1 y tabla 2 (Anilakumar et al., 2010).

Tabla 1 Composición nutrimental semilla de Ajonjolí

Nutriente	Cantidad (%)
Humedad	04.0-05.3
Proteína	18.3-25.4
Aceite	43.3-44.3
Ácidos grasos saturados (% en aceite)	14.0
Ácidos grasos monoinsaturados (% en aceite)	39.0
Ácidos grasos polinsaturados (% en aceite)	46.0
Ceniza	05.2-06.2
Glucosa	03.2
Fructuosa	02.6
Sacarosa	0.2
Fitosteroides	0.4

Anilakumar et al., 2010 (162)

Tabla 2 Composición de ácidos grasos en semilla de Ajonjolí

Nutriente	Cantidad
Ácido Graso	%
Ácido palmítico (16:0)	11.7
Ácido esteárico (18:0)	05.2
Ácido oleico (18:1)	41.4
Ácido linoleico (18:2)	39.4
Ácido linolénico (18:3)	00.4
Ácido araquidico (20:0)	00.4
Ácido Behenico (22:0)	00.6

Anilakumar et al., 2010 (162)

7.1.3 Aceite de chía.

Chía (*Salvia hispánica* L.) es una antigua semilla, originaria del centro oeste de México al norte de Guatemala, consumida por la cultura Azteca. Descubierta por accidente, el consumo de la semilla de chía ha estado en incremento durante las últimas décadas, debido a una gran variedad de estudios que se han realizado a esta semilla.(Jeong et al., 2010) La semilla de chía tiene altos niveles de ácidos grasos esenciales, especialmente ácido linoleico (omega-6) y ácido alfa linoleico (omega-3), indispensables para el mantenimiento de una función normal en las células del cuerpo, además de tener un efecto antiinflamatorio y propiedades beneficiosas para el sistema cardiaco. La semilla de chía además es una importante fuente de compuestos fenólicos, que actúan como antioxidantes de origen natural, posee propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y ayuda a prevenir tumores. Kampferol, ácido cafeico, ácido clorogénico, quercetina y miricetina son los principales compuestos fenólicos presentes en la semilla de chía, siendo responsables de su actividad antioxidante (Minaya, 2016).

La chía es una especie de origen mesoamericano con amplia distribución y diversidad genética, localizada principalmente en Centroamérica y México Actualmente, en México se cultiva por su valor económico y nutraceútico, y los principales estados productores son Jalisco y Puebla. Otros estados que están comenzando a producir son: Morelos, Nayarit, Guerrero, San Luis Potosí y Zacatecas. Se calcula que para el año 2015 se produjeron aproximadamente 6,960 toneladas a nivel nacional (Muñoz et al., 2017).

La chía es un cultivo que crece en condiciones tropicales y subtropicales y no es tolerante a las heladas. En cuanto a las condiciones de suelo, puede decirse que favorece su crecimiento y le proporciona una amplia variedad de nutrientes y humedad, esta última sobre todo para la germinación. Una vez establecida, la planta, se comporta bien con cantidades limitantes de agua. Por otro lado, los suelos donde mejor se desarrollan las plantas son los arenosos limosos, aunque también puede crecer en suelos arcillosos limosos de buen drenaje (Segura et al., 2014).

La semilla de chía está compuesta de nutrientes, vitaminas, antioxidantes y ácidos grasos (Tabla 3 y 4). La cantidad y calidad de los componentes puede variar por el sitio de cultivo, condiciones ambientales, disponibilidad de nutrientes, año de cultivo, por el tipo de suelo y clima (Ayerza & Coates, 2009). La chía es un alimento completo y funcional por: su contenido de antioxidantes, niveles seguros de metales pesados, ser libre de micotoxinas y por no contener gluten (Mohd et al., 2012).

La chía es la fuente vegetal con el mayor contenido de ácidos grasos esenciales, su aceite contiene propiedades fisicoquímicas de interés para la industria alimentaria, considerado como ingrediente alimentario potencial debido a sus beneficios en salud humana por contener 85.4% de ácidos grasos poliinsaturados (Xingú et al., 2017).

Tabla 3 Composición nutrimental semilla de Chía

Nutriente	Cantidad (%)
Humedad	6.8
Proteína	17.9
Aceite	27.3
Ácidos grasos saturados (% en aceite)	11.11
Ácidos grasos monoinsaturados (% en aceite)	8.59
Ácidos grasos poliinsaturados (% en aceite)	80.30
Ceniza	4.5
Carbohidratos Disponibles	8.9
Fibra (por diferencia)	34.6

(Alejo & Custodio, 2010)

Tabla 4 Composición de ácidos grasos en semilla de Chía

Nutriente	Cantidad
Ácido Graso	%
Ácido Mirístico (14:0)	0.05
Ácido Pentadecanoico (15:0)	0.2
Ácido Palmítico (16:0)	6.68
Ácido Palmitoléico (16:1)	0.26
Ácido Heptadecanoico (17:0)	0.17
Ácido Estearico (18:0)	3.56
Ácido Elaídico (18:1)	0.15
Ácido Oleico (18:1)	8.00
Ácido Linoleico (18:2)	19.75
Ácido Linolénico (18:3)	60.55
Ácido Eicosanoico (20:0)	0.15
Ácido Eicosaenoico (20:1)	0.13
Ácido Docosanoico (22:0)	0.23
Ácido Docosaenoico (22:1)	0.05
Ácido Tetracosanoico (24:0)	0.25

(Alejo & Custodio, 2010)

7.2 ENCAPSULACIÓN

La encapsulación es una tecnología de rápida expansión en la que se rodean o recubren gotas o partículas muy pequeñas de material líquido o sólido con una película continua de material polimérico. La encapsulación está involucrada en la conversión de líquidos en sólidos, que alteran las propiedades coloidales y de la superficie, brindan protección ambiental y controlan las características de liberación de diferentes materiales recubiertos. La mayor parte del producto encapsulado tiene diámetros entre 1 y 1000 μm . Se pueden encapsular una gran

cantidad de materiales centrales como células vivas, adhesivos, aromatizantes, agroquímicos, enzimas, productos farmacéuticos, etc. La microscopía electrónica de barrido se utiliza para revelar las características estructurales del compuesto encapsulado (Suganya & Anuradha, 2017).

Las partículas o cápsulas consisten en dos componentes, llamados material de núcleo y la cubierta o material de pared. El núcleo contiene un ingrediente activo mientras la pared o cubierta protege el material en el núcleo (Figura 2). Diferentes tipos de materiales conforman el núcleo de una capsula debido a su necesidad de ser protegidos del medio como lo son activos farmacéuticos, proteínas, peptinas, aceites volátiles, compuestos alimenticios, pigmentos, colorantes, monómeros, catalizadores, pesticidas etc. (Verkata et al., 2010).

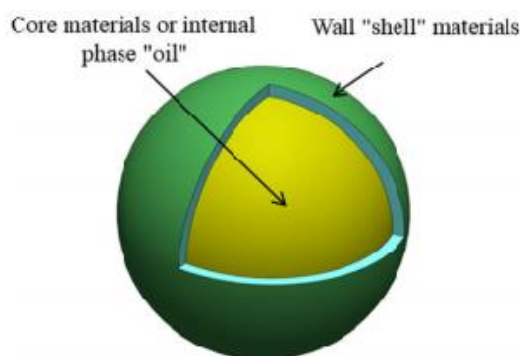


Figura 2 Composición de cápsula (Amr et al., 2016)

Los materiales de pared más utilizados pueden ser divididos en tres grupos:

A. Carbohidratos

- Carbohidratos de origen vegetal como maltodextrina, almidón, celulosa, goma arábica, goma de mezquite, goma guar, galactomananos, ciclodextrina, pectina.
- Carbohidratos de origen marino como carragenano y alginato.

- Carbohidratos de origen microbiano o animal como xantano, gellan, dextrano, quitosano.

B. Proteínas

- Proteínas de origen vegetal como la proteína de soja, proteína de guisante, proteína de cebada, zeína, gluten.
- Proteínas de origen animal como caseína, proteína de suero, gelatina.

C. Lípidos y ceras como grasa de leche, fosfolípidos, cera de abejas y cera de carnauba (Lakkis, 2007).

Una buena selección para el material de pared es de gran importancia debido a la influencia en la eficiencia de encapsulamiento y la estabilidad de la cápsula. Un material de pared ideal debe cumplir con las siguientes características: (Amr et al., 2016)

- 1) Buenas propiedades reológicas a altas concentraciones y fácil manejo.
- 2) Capacidad para dispersar o emulsionar el material activo y estabilizar la emulsión producida.
- 3) No tener reactividad química con los materiales del núcleo activo a encapsular durante el proceso.
- 4) Capacidad para sellar y retener el material activo dentro de su estructura durante el almacenamiento.
- 5) Capacidad para liberar completamente el disolvente u otros materiales utilizados durante el proceso de encapsulación en condiciones de secado.
- 6) Capacidad para proporcionar la máxima protección del material activo contra las condiciones ambientales.
- 7) Liberación controlable de material núcleo (Figura 3).
- 8) La solubilidad del disolvente debe ser aceptable para la industria.

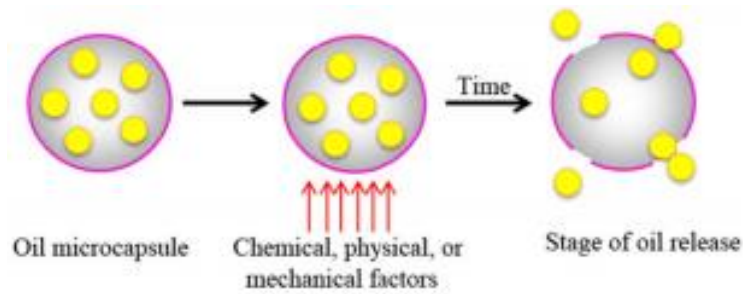


Figura 3 Diagrama esquemático del mecanismo de liberación de cápsula (Amr et al., 2016)

La encapsulación se utiliza usualmente para los siguientes fines: (Fang & Bhandari, 2010)

- Encapsular compuestos comestibles.
- Proteger compuestos bioactivos de los factores medioambientales.
- Retardar la evaporación de un núcleo volátil.
- Controlar la proporción con la cual un compuesto encapsulado se libera de la microcápsula.
- Mejorar el manejo de materiales viscosos u oleosos.
- Facilita el transporte y el almacenaje de mariales.
- Enmascara el sabor y el olor de la sustancia encapsulada.
- Protege la sustancia en el núcleo de reacciones químicas con el entorno.

Se han propuesto muchos procedimientos de encapsulación, pero ninguno de ellos puede considerarse como un procedimiento universalmente aplicable para componentes bioactivos. Esto se debe al hecho de que los componentes individuales de los compuestos bioactivos tienen su propia estructura molecular característica (Alamilla & Hermar, 2009). Dado que los compuestos encapsulantes están muy a menudo en forma líquida, muchas tecnologías se basan en el secado (Fang & Bhandari, 2010).

Existen una gran cantidad de técnicas para la producción de cápsulas, en general estos métodos pueden ser divididos en dos grupos: mecánicos y químicos (Figura 4). Los procesos químicos se dividen en las técnicas de coacervación, co-cristalización, inclusión molecular,

gelificación iónica, polimerización interfacial, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular; dentro de los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento, extrusión y por lecho fluidificado (Ozkan et al., 2019).

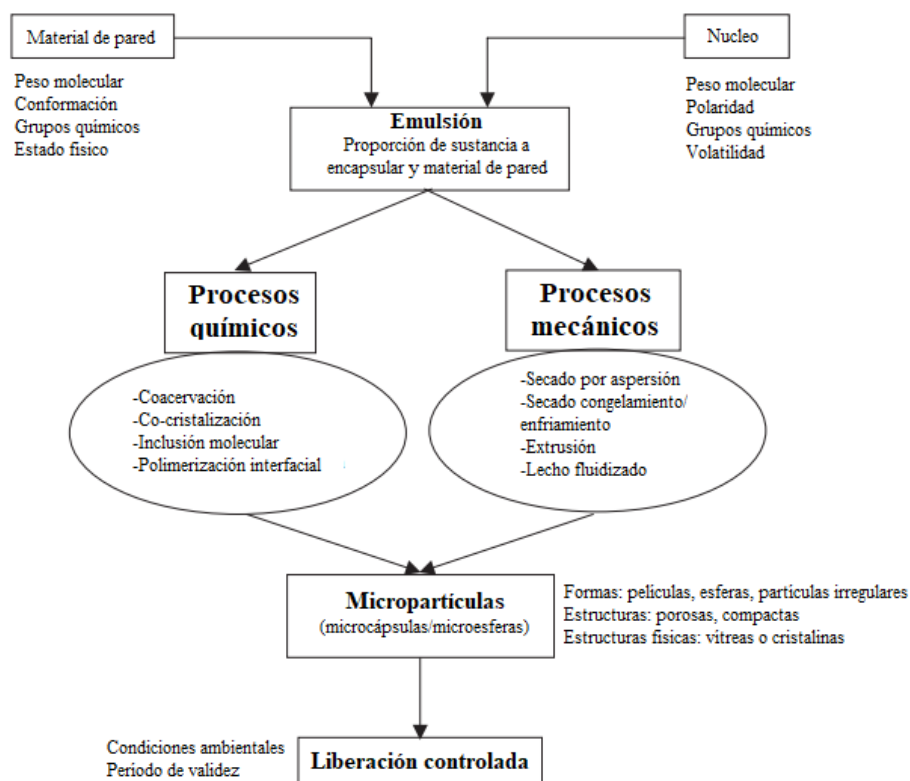


Figura 4 Ilustración esquemática de los diferentes procesos de encapsulamiento (Ozkan et al., 2019)

7.2.1 Procesos químicos

Coacervación

La técnica de coacervación se puede definir como un fenómeno coloidal que implica la separación de fase líquido-líquido de un polímero único o una mezcla de dos polímeros con carga opuesta en una solución acuosa desencadenada por interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, interacciones atractivas inducidas por

polarización, así como interacciones químicas. o agentes reticulantes enzimáticos (Ozkan et al., 2019).

Esta técnica fue el primer proceso de encapsulación estudiado y fue empleado inicialmente por Green y Scheicher (1955) para producir cápsulas de tinte sensibles a la presión para la fabricación de papel de copia sin carbón. La coacervación consiste en la separación de la solución de partículas coloidales que luego se aglomeran en una fase líquida separada llamada coacervado (Xiao et al., 2014); generalmente, el material del núcleo utilizado en la coacervación debe ser compatible con el polímero receptor y ser insoluble (o apenas soluble) en el medio de coacervación (Ozkan et al., 2019).

La coacervación puede ser simple o compleja. La coacervación simple implica solo un tipo de polímero con la adición de agentes fuertemente hidrofílicos a la solución coloidal. Para coacervación compleja se utilizan dos o más tipos de polímeros (Ozkan et al., 2019).

Las etapas fundamentales de coacervación son las siguientes: 1) el material del núcleo se emulsiona dentro de una solución acuosa que consta de dos polímeros a una temperatura de gelificación por encima de la proteína y un pH isoelectrico por encima de la proteína; 2) se forman fases inmiscibles; 3) los polímeros líquidos se depositan alrededor del material del núcleo; 4) las cápsulas se estabilizan mediante agentes de reticulación (Figura 5) (Asbahani et al., 2015).

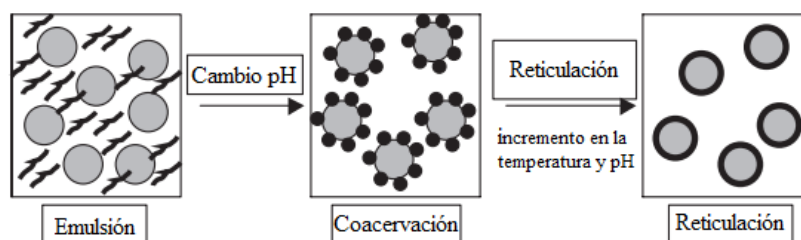


Figura 5 Principio del método de coacervación (Asbahani et al., 2015).

Hasta hace poco, esta tecnología no se usaba comúnmente en la industria alimentaria, esto se debe a que es complicada y costosa. La optimización de la concentración de material de pared en el proceso de emulsificación y coacervación es problemática debido a que la concentración requerida para obtener una emulsión puede ser diferente a la necesaria para aumentar el rendimiento de las cápsulas (Xiao et al., 2014). Otras limitaciones de la encapsulación por coacervación son: la evaporación de los compuestos volátiles, la disolución del compuesto activo en el disolvente de procesamiento y la oxidación del producto, porque los materiales del núcleo residual a veces se adhieren al exterior de la cápsula (Asbahani et al., 2015).

Co-Cristalización

En comparación con varios procesos de encapsulación de sabor, la co-cristalización ofrece una alternativa económica y flexible, ya que el procedimiento es relativamente simple. La co-cristalización es un proceso de encapsulación en el que se incorpora un segundo ingrediente (activo) en jarabe de sacarosa supersaturada para alcanzar la cristalización simultánea de ambos componentes (Sarabandi et al., 2018).

La sacarosa granulada está compuesta de cristales monoclinicos sólidos, densos y de superficie limitada. Esta estructura tiene que modificarse para usarse como material de encapsulación, cambiando de cristales perfectos a cristales irregulares, aglomerados y de tamaño micro. El espacio vacío aumentado y el área de superficie proporcionan una base porosa para la incorporación del compuesto activo (Figura 6) (Akbari et al., 2019).

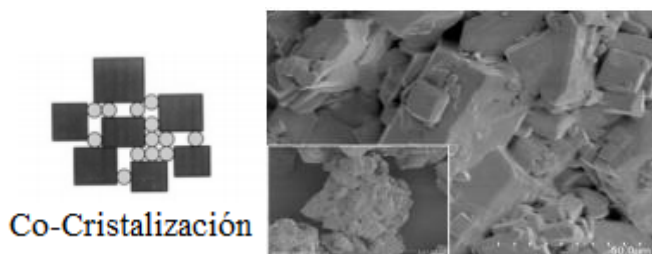


Figura 6 Cápsula por Co-cristalización de té verde (Akbari et al., 2019)

Inclusión molecular: ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CD) son oligosazúcares macrocíclicos formados por una modificación enzimática del almidón con un tamaño de cavidad que varía de 0,5 a 1 nm y pueden formar compuestos de inclusión unidos no covalentemente con moléculas pequeñas y polímeros mediante la inclusión de estas moléculas huésped en sus pequeñas cavidades (Estrada et al., 2019). Después de la separación del almidón causada por el grupo de enzimas ciclodextrina-glicosil-transferasas, la primera y la última molécula de glucosa se unen para formar una cadena circular cerrada con enlaces α 1-4.

Las CD más comúnmente están compuestas por 6,7 u 8 unidades glicosídicas que se denominan α -CD, β -CD y γ -CD, respectivamente (Figura 7). La importancia de las CD es que otras moléculas, generalmente más pequeñas (llamadas huéspedes), pueden entrar en su cavidad formando complejos de inclusión con estos huéspedes macrocíclicos (Macias et al., 2019).

La cavidad hidrófoba interna de la β -ciclodextrina tiene dimensiones moleculares que permiten la inclusión total o parcial de una amplia gama de compuestos. La cavidad central de la molécula crea un ambiente relativamente hidrofóbico, mientras que su superficie externa tiene un carácter hidrofílico. Esta conformación única es en gran parte responsable de las propiedades fisicoquímicas características de las ciclodextrinas (Steinbock et al., 2002).

Una aplicación típica es la protección de productos químicos volátiles inestables y de alto valor agregado. En la industria alimentaria, los saborizantes volátiles se han encapsulado dentro de las ciclodextrinas (Uhlemann et al., 2002).

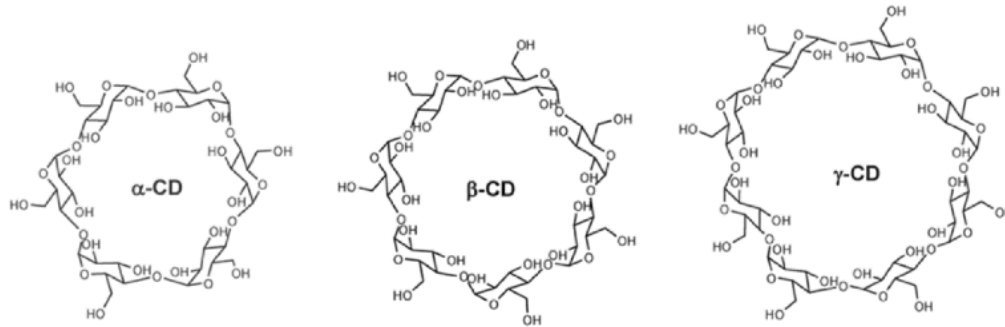


Figura 7 Estructura molecular de 3 tipos de ciclodextrina (Macias et al., 2019)

La retención de compuestos puede verse influenciada en mayor o menor medida por el peso molecular, el impedimento estérico, la funcionalidad química, la polaridad y la volatilidad del material del núcleo. Se requiere la presencia de agua o alta temperatura para liberar las moléculas huésped una vez completado (Macias et al., 2019).

La encapsulación en ciclodextrinas puede conducir a una mejora de la velocidad de disolución, una mayor permeabilidad de la membrana y una mejora de la biodisponibilidad de los nutraceuticos de baja solubilidad. Las CD también pueden actuar como portadores de sabor, proporcionando protección contra la oxidación, descomposición inducida por la luz y el calor. Además, las ciclodextrinas pueden prolongar la vida útil de los productos alimenticios y enmascarar o reducir el sabor y los olores no deseados (Garrido et al., 2018).

7.2.2 Procesos mecánicos

Secado por aspersión

El secado por aspersión tiene su origen en los Estados Unidos, con el primer diseño patentado registrado en 1872. Fue pensado en las industrias lácteas para la producción continua de leche en polvo. Desde entonces, el proceso se ha adaptado a muchas modificaciones de diseño, hasta el punto de haberse destacado como una técnica de secado amigable con la industria.

El secado por aspersión es una de las técnicas de microencapsulación más utilizadas y prácticas en todo el mundo, ya que proporciona una rápida evaporación del agua y mantiene temperaturas relativamente bajas en las partículas (Rigon & Zapata, 2016).

El secado por aspersión es una operación unitaria mediante la cual un producto líquido es atomizado en una corriente de gas caliente para obtener un polvo instantáneamente. El gas generalmente usado es aire y más raramente un gas inerte como nitrógeno. El líquido inicial alimentado al aspersor puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. Dependiendo del material inicial alimentado y de las condiciones de operación, el secado por aspersión produce un polvo muy fino (10-50 μ m) o partículas de tamaño grande (2-3mm) razón por la cual es una técnica común para producir encapsulados de alimentos (Medina et al., 2013).

La conveniencia del uso de esta técnica radica en los tiempos cortos de producción, la factibilidad económica y el uso de bajas temperaturas lo cual es un parámetro crucial para aquellos productos sensibles al calor, debido a que promueve una alta retención de sabor, color y nutrientes (Ferrari et al., 2012).

Durante el secado por aspersión se pueden distinguir las siguientes etapas: (Medina et al., 2013)

- **Atomización:** El objetivo de esta etapa es crear la máxima superficie de transferencia de calor entre el aire seco y el líquido para optimizar la transferencia de masa y calor. La atomización líquida en pequeñas gotas se puede llevar a cabo por presión o energía centrífuga.
- **Contacto:** Este contacto toma lugar durante la atomización y se inicia la etapa de secado. De acuerdo al sitio o lugar donde se encuentra localizado el atomizador comparado con el aspersor de aire caliente, se puede distinguir en sentido de la corriente paralela (Figura 8) y en contracorriente.
- **Evaporación de agua:** Al momento en que ocurre el contacto de las gotas de líquido con el aire caliente, se establece el balance de temperatura y presión parcial de vapor entre las fases líquido y gas. Por lo tanto, la transferencia de calor se lleva a cabo del

aire hacia el producto como resultado de la diferencia de temperatura mientras que la transferencia de agua se lleva a cabo en sentido opuesto.

- **Separación del producto seco y aire húmedo:**

Esta separación se hace a través de un ciclón colocado fuera de la cámara de secado, lo cual reduce las pérdidas del producto a la atmósfera: las partículas de mayor densidad son recuperadas en la base de la cámara de secado, mientras que las finas pasan a través del ciclón para ser separadas del aire húmedo. Además de los ciclones, los secadores por aspersión comúnmente están equipados con filtros, usados para remover los polvos finos (Gharsallaoui et al., 2007).

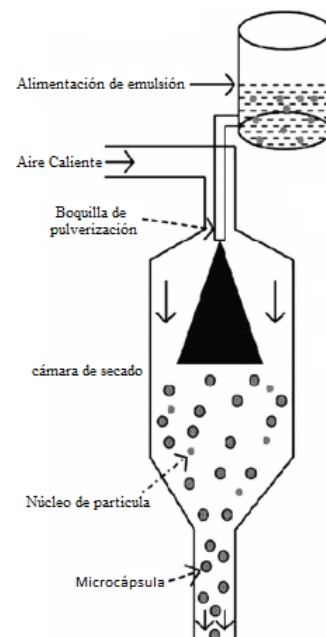


Figura 8 Diagrama secado por aspersión corriente paralela. (Venkata et al., 2010)

Una desventaja del secado por aspersión es que algunos compuestos de bajo punto de ebullición pueden perderse durante el secado y el material del núcleo también puede estar en la superficie de la cápsula, esto fomentaría la oxidación y posibles cambios del producto encapsulado (Esquivel et al., 2015).

Liofilización (freeze-drying)

La liofilización, también conocida como criodesecación, se utiliza para la deshidratación de casi todos los materiales sensibles al calor y aromas como los aceites. Antes de secar, el aceite se disuelve en agua, es congelado y luego se reduce la presión circundante y se agrega suficiente calor para permitir que el agua congelada en el material se sublime directamente de la fase sólida a la fase gaseosa (Amr et al., 2016).

La técnica de liofilización es uno de los procesos más útiles para secar sustancias termosensibles que son inestables en soluciones acuosas. En este proceso, tras la cristalización del agua, la solución no congelada es viscosa y se retrasa la difusión de compuestos. Al comenzar la liofilización, la superficie de la solución se convierte en un sólido amorfo en el que es posible la difusión selectiva (Yamashita et al., 2017).

Sin embargo, esta técnica de secado es menos atractiva que otras porque los costos de liofilización son hasta 50 veces más altos que el secado por aspersión y el almacenamiento y transporte de partículas producidas es extremadamente costoso, la aplicación comercial también está severamente restringida por el largo tiempo de procesamiento (Amr et al., 2016).

Spray cooling/ spray chilling

El enfriamiento por aspersión y el congelamiento por aspersión son el proceso de encapsulación menos costoso y se usan habitualmente para la encapsulación de compuestos volátiles para mejorar la estabilidad térmica, retrasar la liberación en ambientes húmedos (Gouin, 2004). Estas tecnologías son similares al secado por aspersión donde el material del núcleo se dispersa en un revestimiento o material de pared y se atomiza. Sin embargo, el enfriamiento por aspersión se basa en la inyección de aire frío, lo que permite la solidificación de la partícula. Una matriz fundida que contiene el compuesto bioactivo se atomiza para que forme gotas que se solidifican rápidamente cuando entran en contacto con el aire frío (Champagne & Fustier, 2007).

El enfriamiento por aspersión utiliza principalmente matrices grasas como vehículo. Las partículas que se producen pueden presentar algunas desventajas, que incluyen una baja capacidad de encapsulación y la expulsión del material del núcleo durante el almacenamiento, como resultado de la estructura cristalina y disposición polimórfica característica de muchos materiales lipídicos durante el proceso de solidificación y cristalización. Sin embargo, el enfriamiento por pulverización se considera la tecnología de

encapsulación más barata que tiene la posibilidad de fabricación a escala industrial. Esta tecnología podría usarse para generar perlas más pequeñas, lo que puede ser deseable en el procesamiento de alimentos (Pedroso et al., 2012).

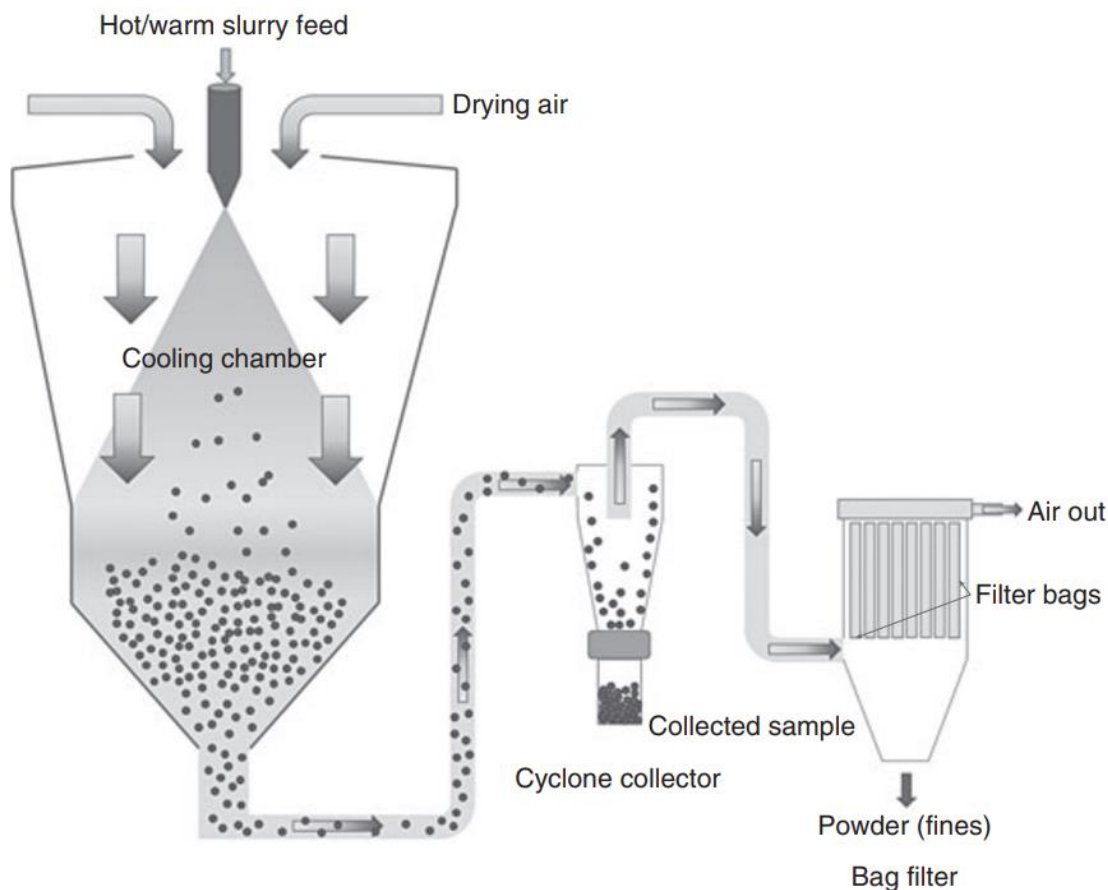


Figura 9 Diagrama Spray chilling (Oxley 2012)

Extrusión

La encapsulación por extrusión se ha utilizado para compuestos volátiles e inestables en matrices de carbohidratos vítreos (Reineccius et al., 2001). La principal ventaja del método de extrusión es la estabilidad de los compuestos contra la oxidación. Las matrices de carbohidratos en estado vítreo tienen buenas propiedades de barrera y la extrusión es un proceso conveniente que permite la encapsulación de compuestos en tales matrices (Gouin,

2004). Sin embargo, los parámetros del proceso y la difusión del sabor de los carbohidratos extruidos se ven afectados por defectos estructurales como grietas, paredes delgadas o poros formados durante o después del procesamiento (Ross, 2003). La extrusión de soluciones de polímeros para producir perlas o cápsulas se utiliza principalmente a escala de laboratorio (Heinzen, 2002).

Esta técnica consiste en dejar pasar los compuestos bioactivos mezclados con el polímero de pared a través de una boquilla o aguja de extrusión para formar una gota que cae en una solución de calcio, permitiendo que se produzca una ionización y encerrando los compuestos del núcleo (Chews & Nyam, 2016). En esta técnica, los parámetros a controlar son las concentraciones de alginato y calcio y su relación. Si se usa una solución de calcio sobre concentrada, la microcápsula será pequeña pero dura debido a un mayor intercambio de sodio por calcio, ocurriendo una gelificación más dura con el alginato. Por el contrario, si se usa una solución de calcio de baja concentración, la microcápsula resultante tendrá una pared frágil debido a la débil gelificación iónica entre el calcio y el alginato (Pasukamonset et al., 2016).

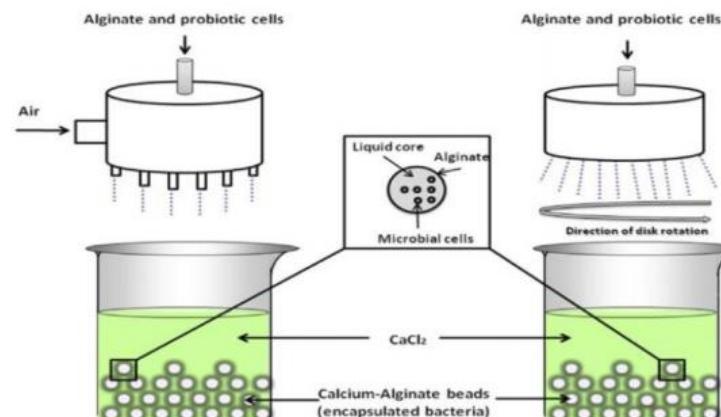


Figura 10 Proceso de extrusión de probióticos por técnica de extrusión. (Aghajani et al, 2020)

7.3 Biopolímeros

Los polímeros son macromoléculas formadas por cientos o miles de unidades básicas funcionales denominadas monómeros. Los polímeros pueden ser de naturaleza sintética, artificial o natural; estos últimos, provenientes directamente del reino animal o vegetal, presentan variadas propiedades y usos (Santos & Meireles, 2010).

El biopolímero actúa como una barrera y protege el núcleo contra el oxígeno, el agua y la luz además de evitar el contacto con otros ingredientes o controlar la difusión. En general, los materiales para encapsular deben cumplir los requisitos descritos anteriormente como un buen material de pared encapsulante y operacionalmente con lo siguiente: (Desai & Park, 2005)

- Económico.
- Ser de grado alimenticio y legalmente permitido.
- Estar disponible en grandes cantidades y calidad constante.

Se encuentran disponibles una serie de biopolímeros aprobados comercialmente para producir microcápsulas como goma arábica, maltodextrina, inulina, almidón de tapioca, fibra cítrica, jarabe de glucosa, proteína de soja, proteínas de suero y otros materiales de pared como gel de glucano y gel de curdlan (Barbosa et al., 2005). No todos los biopolímeros cumplen con las propiedades necesarias, por lo que a menudo se usan en combinación con otros materiales de pared y otros modificadores, como eliminadores de oxígeno, antioxidantes, agentes quelantes y tensioactivos (Lupo, 2014).

La elección de un biopolímero para la microencapsulación es muy importante para la eficacia de la encapsulación y la estabilidad de la microcápsula. Los biopolímeros típicos generalmente disponibles y adecuados para la microencapsulación de aceites incluyen (Lupo, 2014):

- Gomas naturales: goma Arábica, alginatos, carrageninas.
- Proteínas: proteínas lácteas, proteínas de soja, gelatinas.
- Carbohidratos: maltodextrinas y derivados de celulosa.
- Lípidos: ceras, emulsionantes.

Las propiedades funcionales de los biopolímeros son determinadas por las características moleculares, como su peso molecular, conformación, flexibilidad, polaridad e interacciones. Las características moleculares son determinadas por el tipo, número y secuencia de los

monómeros que conforman la cadena del polímero, los monómeros varían de acuerdo a su polaridad, dimensiones, interacciones, y grupos funcionales (Sánchez , 2006).

Los biopolímeros poseen características funcionales únicas; es decir, tienen capacidad para estabilizar emulsiones y espumas, formar geles y aumentar la viscosidad de las soluciones (BeMiller & Whister, 1996).

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 hidrofóbicas; que promueven la agregación, existiendo una baja solubilidad y las electrostáticas; que pueden ser atractivas o repulsivas incrementando o disminuyendo la solubilidad (BeMiller & Whister, 1996).

Una vez que ha sido formada una emulsión, lo importante para su estabilidad a largo plazo, es que el biopolímero adsorbido produzca una barrera macromolecular robusta en la interfase, para lo cual es necesario cumplir con las siguientes características: (Rodríguez et al., 2004)

- **Fuerte adsorción:** Implica que el polímero (regiones polares y no polares en la misma molécula) tiene un grado sustancial de carácter hidrofóbico que lo mantenga unido en la interfase.
- **Formación de una gruesa capa estabilizante estérica:** Se requiere de un polímero compuesto de una pequeña fracción de segmentos hidrofóbicos adsorbentes y una gran fracción de segmentos hidrofílicos no adsorbentes.
- **Cobertura superficial completa:** Implica que haya suficiente presencia de polímeros para saturar la interfase.
- **Formación de una capa estabilizante cargada:** Esto implica la presencia de grupos cargados en el biopolímero que contribuyan a la interacción electrostática repulsiva neta entre las superficies de las gotas, especialmente a bajas fuerzas iónicas.

7.3.1 Gomas y mucílagos

Las gomas provienen de diferentes partes de las plantas. La fuente de algunas gomas puede ser la epidermis de las semillas o pueden extraerse de las hojas y la corteza de las plantas. (Amiri et al., 2021)

Se considera que las gomas son productos patológicos formados después de una lesión en la planta o debido a condiciones desfavorables, como la sequía, por una ruptura de las paredes celulares, mientras que los mucílagos son generalmente productos normales del metabolismo, formados dentro de la célula y se producen sin dañar la planta. Las gomas se disuelven fácilmente en agua, mientras que el mucílago forma masas viscosas (Deogade et al., 2012).

El mucílago es un polisacárido de alto peso molecular que se comporta como un polielectrolito. variedad de plantas como el nopal, chía, aloe vera y plantago, y se ha utilizado como material portador para procesos de encapsulación. Tienen propiedades funcionales como aglutinantes, modificadores de textura y agentes gelificantes, emulsionantes o espumantes, y como materiales de pared en encapsulación de compuestos bioactivos (Kaewmanne et al., 2014).

Las gomas son productos patológicos, mientras que los mucílagos son productos fisiológicos (Desai et al., 2005). La acacia, el tragacanto y la goma guar son ejemplos de gomas, mientras que los mucílagos a menudo se encuentran en diferentes partes de las plantas. Por ejemplo, en las células epidérmicas de las hojas, en las capas de semillas, raíces y cortezas (Girish et al., 2009).

Las gomas y los mucílagos tienen ciertas similitudes, ambos son hidrocoloides vegetales. También son sustancias amorfas translúcidas y polímeros de un monosacárido o monosacáridos. Las gomas y los mucílagos tienen componentes similares y en la hidrólisis

producen una mezcla de azúcares y ácidos urónicos. Las gomas y los mucílagos contienen moléculas hidrofílicas, que pueden combinarse con agua para formar soluciones o geles viscosos. La naturaleza de los compuestos involucrados influye en las propiedades de diferentes gomas (Girish et al., 2009).

Las gomas y mucílagos de diferentes fuentes y sus derivados representan un grupo de polímeros ampliamente utilizados en formas farmacéuticas de encapsulación (Edwin et al., 2007). Los mucílagos de diferentes orígenes también se usan en formas de encapsulación convencionales de varios fármacos por sus propiedades de unión, espesamiento, estabilización y humidificación en medicina. Los nuevos usos de diferentes gomas y mucílagos en cosméticos y textiles han aumentado la demanda (Verma & Razdan, 2003).

7.3.2 Proteínas

Las proteínas extraídas de productos derivados de animales (proteínas de suero, gelatina, caseína) y vegetales (proteínas de soja, proteínas de guisante, proteínas de cereales) se usan ampliamente para la encapsulación de sustancias activas (Li et al., 2012). Estos polímeros naturales presentan varias ventajas: biocompatibilidad, biodegradabilidad, buenas propiedades anfifílicas y funcionales como la solubilidad en agua (Choi et al., 2010).

Aunque los hidrocoloides alimentarios se usan ampliamente como encapsulantes de sabor, las proteínas alimentarias, como el caseinato de sodio, la proteína de suero y los aislados de proteína de soja, no se han utilizado ampliamente para este propósito (Dickinson, 2001).

Debido a sus diferentes grupos químicos, propiedades anfifílicas, capacidad de auto-asociarse e interactuar con una variedad de diferentes tipos de sustancias, gran peso molecular y flexibilidad de la cadena molecular, las proteínas tienen excelentes propiedades funcionales como solubilidad, viscosidad, emulsificación y propiedades formadoras de película que pueden ser utilizadas en encapsulación. Durante la formación de la emulsión, las moléculas de proteína se adsorben rápidamente en la nueva interfaz de aceite y agua. La

capa estabilizadora estérica resultante protege inmediatamente las gotas de aceite contra la recuperación y posteriormente, proporciona estabilidad física a la emulsión durante el procesamiento y el almacenamiento (Dickinson, 2001).

Los materiales basados en proteínas como la polipéptida, la proteína de soja o los derivados de gelatina pueden formar emulsiones estables con compuestos volátiles. Sin embargo, sus solubilidades en agua fría, el potencial de reaccionar con carbonilos y alto costo limita su utilización en la industria (Li et al., 2012).

7.3.3 Carbohidratos

Los carbohidratos consisten en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Son muy adecuados para la encapsulación de colorantes para aplicaciones alimentarias porque ya se utilizan ampliamente como ingredientes alimentarios seguros y económicos. Los carbohidratos se consideran un caparazón adecuado en procesos de alta temperatura debido a su estabilidad de temperatura en comparación con los lípidos o proteínas, que pueden derretirse o desnaturalizarse cuando se someten a temperaturas más altas. Estos materiales tienen propiedades, tales como bajas viscosidades con alto contenido de sólidos y buena solubilidad que son deseables en un agente encapsulante (Boer et al., 2019).

Sin embargo, los materiales de pared que se basan en estos compuestos tienen propiedades interfaciales pobres y deben modificarse químicamente para mejorar su actividad superficial (Yoshi et al., 2001).

Almidones

El almidón y los ingredientes a base de almidón se usan ampliamente en la industria alimentaria para retener y proteger compuestos volátiles. Pueden actuar como portadores de la encapsulación de aroma, sustitutos de grasa y también estabilizadores de emulsión. Los

gránulos de algunas variedades de almidones tienen poros superficiales de 1–3 μm de diámetro, estos pequeños gránulos de almidón tienen la capacidad de combinarse en esferas porosas cuando se secan con pequeñas cantidades de agentes de unión como proteínas o una amplia gama de polisacáridos solubles en agua (Zhu, 2017).

La unión de compuestos volátiles al almidón se ha clasificado en dos tipos. Por un lado, el compuesto rodeado por la hélice de amilasa a través de enlaces hidrófobos se conoce como un complejo de inclusión. Por otro lado, se han determinado las interacciones polares que implican enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de los compuestos de almidón y el compuesto volátil (Arvisenet et al., 2002).

Maltodextrinas

Las maltodextrinas se forman hidrolizando parcialmente la harina de maíz con ácidos o enzimas y se suministran como equivalentes de dextrosa. Las maltodextrinas manifiestan la capacidad de formar matrices que son importantes para formar microcápsulas. Al seleccionar los materiales de la pared para la encapsulación, la maltodextrina es una buena opción entre costo y eficiencia, ya que es de sabor suave, tiene baja viscosidad en una alta proporción sólida y está disponible en diferentes pesos moleculares promedio (Madene et al., 2006).

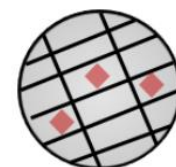
Las maltodextrinas proporcionan una buena estabilidad oxidativa a los compuestos encapsulados, pero exhiben una capacidad de emulsión pobre, baja estabilidad de la emulsión y retención mínima (Gharsallaoui et al., 2007).

7.3.4 Lípidos

Entre los sistemas de encapsulación, las partículas a base de lípidos son sistemas prometedores para la encapsulación y el suministro de ingredientes generalmente poco solubles. Para la aplicación de encapsulación utilizando lípidos, la investigación es escasa

hasta la fecha. Además, la síntesis de partículas o vehículos se realiza a menudo mediante un método diferente a las técnicas más convencionales (secado por aspersión). Por lo tanto, las partículas de lípidos que ofrecen un uso potencial para la aplicación de la encapsulación, llamados, nanopartículas de lípidos sólidos y portadores de lípidos nanoestructurados (De Boer et al., 2019).

Las nanopartículas de lípidos sólidos se desarrollaron como un sistema de vehículo alternativo a los vehículos tradicionales existentes, como las emulsiones y las partículas poliméricas. Las nanopartículas lipídicas sólidas son dispersiones coloidales acuosas cuya matriz está formada por lípidos solidificados muy estructurados (Figura 11). Los tamaños de partículas típicos de este método están en el rango de 40 a 1000 nm (Eghbal & Choudhary, 2018).



Solid lipid nanoparticle (SLN)

Figura 11
Nanopartícula de lípidos sólidos
(Eghbal & Choudhary, 2018)

Los portadores de lípidos nanoestructurados consisten en una mezcla de lípidos sólidos y líquidos que crea una matriz menos ordenada (Figura 12) que permite una mayor capacidad de carga y una menor posibilidad de expulsión del fármaco durante el almacenamiento. El proceso de síntesis se puede modificar para producir dispersiones de partículas de lípidos con un contenido de sólidos del 30 al 80% (Eghbal & Choudhary, 2018).



Nanostructured lipid carrier (NLC)

Figura 12
Portadores de lípidos nanoestructurados
(Eghbal & Choudhary, 2018)

Dentro de los principales agentes encapsulantes de carácter lipídico están: grasa láctea, lecitinas, ceras, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, parafinas, aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya; son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme (Gharsallaoui et al., 2007).

7.4 ESPOROPOLENINA

Los granos de polen de las plantas con flores y las esporas de las plantas sin flores tienen una estructura de pared de doble capa que protege su contenido. La pared interna se compone principalmente de celulosa y otros polisacáridos (Shaweds, 1990).

La intina es la capa interna de la pared del grano de polen, debajo de la exina y bordeando la superficie del citoplasma. Por tanto, no es resistente a la acetólisis y, por tanto, está ausente en el material palinológico. La intina a veces se llama endospora, en las paredes de las esporas. La intina se puede dividir en dos subcapas: endintina, la zona celulósica interna, más gruesa, que se encuentra adyacente al citoplasma y se tiñe positivamente con yodo en ácido sulfúrico; y exintina, la exterior, más fina, péctica, que tiñe positivamente con azul alcian (Barrier & Sylvain, 2008).

La exina es la capa exterior de la pared del grano de polen. La exina de las esporas a veces se denomina exospora. Según criterios puramente morfológicos, la exina se subdivide en una zona exterior, esculpida, sexina, que se encuentra sobre una parte interior no esculpida, nexin (Barrier & Sylvain, 2008).

En 1814, John Wiley fue el primero en comentar sobre la morfología del material de la pared de polen de tulipán, al que llamó "pollenina". Braconnot informó más tarde de tal morfología en 1829 en la pared de polen del junco (*Scirpoides holoschoenus*), a la que llamó "esporonina". Casi un siglo después, Zetzsche hizo un estudio sistemático para caracterizar el material de las esporas asexuales de *Lycopodium clavatum* L. Combinó los nombres anteriores para formar la palabra "esporopollenina", como término genérico para el material de exina resistente que forma tanto las esporas como las paredes de los granos de polen, ya que parecían ser del mismo o tener un carácter químico muy similar. Más simplemente, la esporopollenina se ha definido como "el material resistente no soluble que queda después de la acetólisis" (Mackenzie et al., 2015).

La capa externa (exina) de un grano de polen está hecha de esporopolenina, un polímero orgánico similar a los lípidos que es extremadamente resistente y produce posiblemente las cápsulas más robustas de la naturaleza. Las exinas han evolucionado para ser cápsulas eficientes de origen natural, ya que son necesarias para proteger el material genético frágil contenido por esporas (esporoplasma), de condiciones tales como estrés mecánico, exposición intensa a la luz ultravioleta y oxidación aérea (Robinson & Mauger, 1991). La resistencia física de la esporopolenina se ilustra por ser el único material que permanece intacto en las exinas encontradas en antiguas rocas sedimentarias, que tienen al menos 500 millones de años (Sylvain et al., 2010).

Se ha afirmado que la esporopolenina, puede ser utilizado como material para formar cápsulas y que presenta ventajas sobre otras sustancias comúnmente utilizadas para formar cápsulas, además de ser ecológicas, económicas y de fácil acceso, las exinas de esporopolenina resisten condiciones físicas, químicas y biológicas extremas, y en cierta medida, absorben la luz ultravioleta (Jungfermann et al., 1997). Las exinas son relativamente inestables a condiciones como la desnaturalización u oxidación. Se ha publicado relativamente poco para ilustrar el potencial de las exinas de esporopolenina en la encapsulación y hasta la fecha no se ha informado de ningún ejercicio que demuestre la integridad de los materiales después de la encapsulación y la recuperación (Atkin et al., 2010).

Se sabe que existen canales naturales a través de la exina en una espora viva, lo cual es necesario para suministrar el esporoplasma con nutrientes. Los canales identificados más evidentes son las aberturas en las paredes de las esporas, cuyos dos tipos son (i) aberturas, grandes de 1–2 μm de diámetro y (ii) canales de tamaño nano, que son mucho más estrechos de diámetro 15–20 nm para *L. clavatum* (Sylvain et al., 2010).

Utilizando tratamientos químicos adecuados, es posible extraer la espora o el polen "crudo" para producir capas huecas intactas que consisten solo en los recubrimientos de esporopolenina exina (Atkin et al., 2010). La esporopolenina se obtiene típicamente en forma

de cápsulas a través del tratamiento químico (ácido, base y cloroformo, etc.) de los pólenes de las plantas, lo que resulta en la eliminación de proteínas y materiales genéticos (Kaya et al., 2016).

En algunos estudios, las muestras de esporopolenina se usaron en la industria alimentaria como cápsulas para enmascarar el sabor del aceite de hígado de bacalao, el aceite de girasol y el aceite de pescado. Estos estudios mostraron que las muestras de esporopolenina son seguras para el consumo humano (Kaya et al., 2016).

La característica más importante es el tamaño homogéneo de la esporopolenina derivada de plantas de la misma especie o de especies diferentes (Mundargi et al., 2016). Las partículas de esporopolenina son mono dispersas, lo cual es raro en la naturaleza y todas las partículas son muy similares en morfología y tamaño de cualquier especie. Por lo general, tienen forma redonda y tienen grandes cavidades internas (Figura 13) con paredes de entre 1 y 2 μm de espesor. Se encuentran en la naturaleza de 1 a 240 μm de diámetro. Es importante destacar que las esporas y sus exinas de esporopolenina extraídas se pueden elegir de acuerdo con los requisitos de tamaño para una aplicación particular (Tutar et al., 2009).

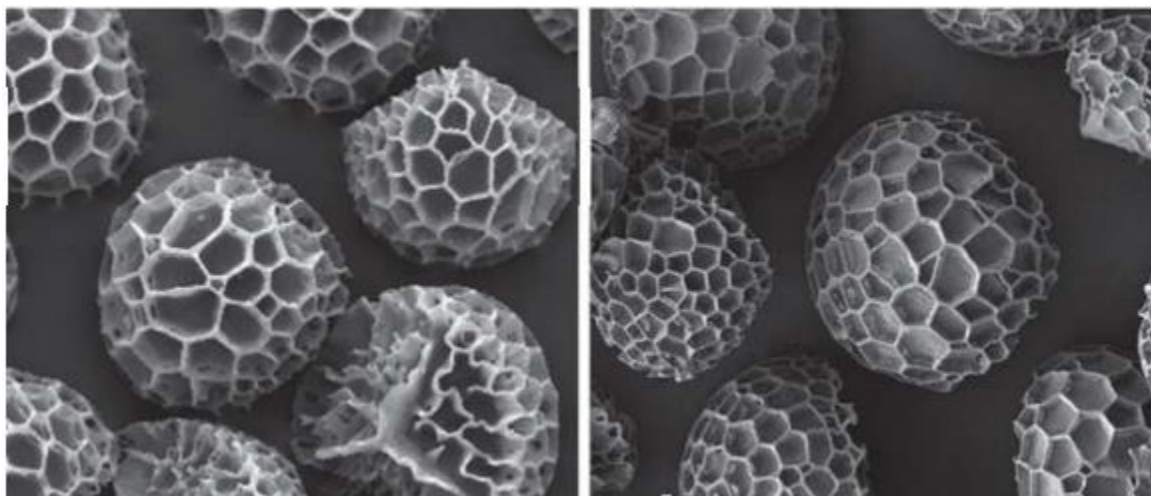


Figura 13 Espora de *L.clavatum* y espora tratada con ácidos de *L.clavatum* (Sylvain et al., 2010)

La estructura química detallada de la esporopolenina aún se desconoce. Se ha encontrado que su fórmula empírica es $C_{90}H_{144}O_{27}$ (Tutar et al., 2009). Se han realizado muchas técnicas analíticas para revelar su naturaleza química; sin embargo, la información disponible sobre su estructura química aún es limitada y necesita aclaración. Sin embargo, algunos estudios indicaron que la esporopolenina es principalmente un polímero alifático con grupos fenólicos y aromáticos o cadenas laterales conjugadas. Se considera una macromolécula compuesta principalmente por carotenoides y ésteres de carotenoides (Sargin & Arslan, 2015).

7.4.1 Esporopolenina en transporte de fármacos

Estudios recientes han demostrado que el vacío en la exina de la esporopolenina es efectivo para el transporte de distintos tipos de fármacos al igual que también pueden servir como parámetro de estudio de liberación de fármacos. Especialmente, la estabilidad química y la robustez de las cápsulas de esporopolenina a condiciones del tracto gastrointestinal se han reconocido en un estudio anterior. Las características más atractivas para la utilización de la esporopolenina como transporte de fármacos son: (Akyuz et al., 2017)

- Biocompatibilidad constante.
- Mucoadhesivo.
- Uniformidad en forma y tamaño.
- Tener cavidades internas que permiten la encapsulación.
- Resistencia a medios químicos agresivos.
- Estabilidad térmica.
- Naturaleza renovable.
- Tamaño de $\sim 20 \mu\text{m}$.

En la última década, el desarrollo de materiales microporosos y nanoporosos como sistemas controlados de administración de fármacos ha atraído la atención de los investigadores. Se ha descubierto que las propiedades de la superficie, el tamaño, la estructura y la morfología

de los materiales porosos se pueden utilizar fácilmente para fines controlados de carga, liberación y administración de fármacos. La administración oral de medicamentos es la vía más popular de administración debido a los bajos costos de producción y al cumplimiento a largo plazo; Además, la administración oral de fármacos también aumenta el valor terapéutico de los fármacos. Sin embargo, las duras condiciones del tracto gastrointestinal (GI), incluida la posible degradación enzimática y las condiciones de pH variable, afectan y aumentan drásticamente la complejidad de la administración oral de medicamentos (Alshehri et al., 2016).

Se han empleado varios sistemas de administración de fármacos, como sílice mesoporosa, fosfato de calcio, hidroxiapatita, xerogeles, hidrogeles y biopolímeros, para proteger la degradación de fármacos en el tracto gastrointestinal y para la administración controlada de fármacos (Diop et al., 2015).

La mayoría de los portadores de fármacos notificados anteriormente tenían varias deficiencias, como biocompatibilidad y citotoxicidad. Por lo cual, motivados por el éxito de la liberación de fármacos impulsada por la porosidad, la utilización de un material poroso natural monolítico no tóxico, estructuralmente robusto y fácil de funcionalizar, denominado cápsula de esporopollenina exina (SEC), como sistema de administración de fármacos atrajo la atención para su utilización debido a que es altamente estable y versátil con varias ventajas sobre los polímeros artificiales y otros polímeros naturales (resinas acrílicas y quitosano) (Alshehri et al., 2016).

7.4.2 Esporopollenina como soporte de catalizadores

En sistemas de catalizadores heterogéneos, el soporte juega un papel vital en el rendimiento de conversión, la longevidad y la estabilidad térmica y mecánica del catalizador. Estos parámetros determinan predominantemente si un catalizador es factible para operaciones industriales que requieren un alto número y frecuencia de rotación. Además, en comparación con los soportes sintéticos convencionales, ha habido un creciente interés en el diseño de

materiales de soporte ambientalmente seguros para sistemas de catálisis (Rostamnia et al., 2016).

A lo largo de los años, varios materiales de soporte de base biológica derivados de la celulosa, el alginato y el quitosano han mostrado un mejor rendimiento de reacción y selectividad que sus homólogos sintéticos. Sin embargo, en muchos estudios se han observado pérdidas notables en la estabilidad térmica y mecánica de dichos soportes tras las modificaciones químicas y la carga de iones metálicos debido a la interrupción de los enlaces de hidrógeno entre las hebras de polímero. Este es un problema grave para los sistemas de catalizadores que requieren altas temperaturas y tratamientos prolongados. La estabilidad térmica más baja restringe la reutilización del catalizador y aumenta los costos operativos. Se desean soportes de catalizadores producidos a partir de biopolímeros con mayor estabilidad química, mecánica y térmica, particularmente para que los sistemas de catalizadores sean aplicables a escala industrial (Anuradha et al., 2015).

Estudios han demostrado que los polímeros biológicos robustos como la esporopolenina son adecuados como material de soporte del catalizador. Se ha documentado el diseño de un silano térmicamente estable y microcápsulas de esporopolenina modificadas con base de Schiff como soporte para el catalizador de paladio (II). Los hallazgos del estudio demostraron que las cápsulas de esporopolenina pueden ser excelentes materiales de soporte de catalizadores considerando sus propiedades únicas como alta estabilidad térmica, resistencia mecánica, facilidad de modificación, naturaleza ambientalmente segura y resiliencia biológica y química. Estas son propiedades superiores a los catalizadores de paladio sobre soportes sintéticos. (Baran et al., 2017).

7.4.3 Esporopolenina en remoción de contaminantes.

Los cuerpos de agua están contaminados con iones de metales pesados a través de la descarga de desechos de muchas industrias, como el revestimiento de metales, la minería, la fabricación de dispositivos textiles y eléctricos. Los efluentes residuales de estas operaciones industriales, sin tratar o incluso tratados, pueden tener cantidades importantes de iones de

metales pesados. Los iones de metales pesados en los sistemas acuáticos y las aguas subterráneas plantean riesgos para los organismos vivos al acumularse en la cadena alimentaria debido a su movilidad, estabilidad y no biodegradabilidad. Cuando se consideran sus efectos perjudiciales y su toxicidad, es fundamental eliminar los iones de metales pesados para ahorrar recursos hídricos (Sargin & Arslan, 2015).

En esta preocupación, para eliminar los contaminantes metálicos de una solución acuosa se ha desarrollado una gran variedad de técnicas que incluyen el intercambio de iones, la ósmosis inversa, la filtración por membranas, la evaporación, la extracción de disolventes y la adsorción. Entre estos métodos existentes, la adsorción se ha convertido en una de las técnicas más prometedoras y efectivas debido a su mejor desempeño, disponibilidad de diferentes adsorbentes, fácil operación y bajo costo. Por lo tanto, se ha prestado mucha atención al desarrollo de adsorbentes prácticos y económicos con aplicaciones potenciales en la eliminación de metales de soluciones acuosas. (Murat et al., 2014)

Sin embargo, en los últimos años, debido a la aplicación de varios biomateriales con fines de adsorción, el término adsorción se ha vuelto más popular como biosorción. En esta perspectiva, numerosos biomateriales, desechos agrícolas, biopolímeros, desechos de plantas y varios otros biomateriales modificados se han utilizado ampliamente para la eliminación de iones metálicos de soluciones acuosas (Beindorff & Zuidam, 2009). En particular, la esporopolenina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, se ha utilizado ampliamente para tratar diversos contaminantes tóxicos de soluciones acuosas (Reddy et al., 2012).

La capacidad de la esporopolenina para servir como sorbente se debe a la presencia de grupos funcionales hidroxilo, carboxilo y carbonilo, estos grupos quelantes pueden formar complejos con una variedad de iones metálicos. Por tanto, debido a su naturaleza polimérica, bajo coste, disponibilidad en la naturaleza y posibilidad de introducir varios grupos funcionales, la esporopolenina ha generado un gran interés en su aplicación para la eliminación de metales pesados de soluciones acuosas (Murat et al., 2014).

7.4.4 Esporopolenina como agente encapsulante en la industria alimentaria

Las cápsulas se utilizan comúnmente en la industria alimentaria. El aislamiento de productos incompatibles se puede ejemplificar con el ácido cítrico en té, encapsulado debido al efecto blanqueador de los taninos. La liberación retardada de ácidos se puede utilizar en embutidos. Se puede observar una mejora en la manipulación con algunos sabores hidrófobos como el mentol o el limoneno (Barrier & Sylvain, 2008).

La protección de los ingredientes alimenticios es el objetivo principal de la encapsulación. Muchos aromas artificiales, aceites esenciales, vitaminas, minerales, edulcorantes o colorantes son especialmente sensibles al oxígeno y se benefician del encapsulamiento en una barrera que impida su degradación con el medioambiente (Anilakumar et al., 2010).

En general, se esperan varios efectos sobre un ingrediente encapsulado. A continuación, se dan dos productos a modo de ejemplos. Usan encapsulación multipropósito contra los problemas que se enumeran a continuación: (Barrier & Sylvain, 2008)

- β -caroteno: insolubilidad en agua, problemas de formación de polvo y sensibilidad a la oxidación del aire.
- Aspartamo: higroscopicidad, escasa fluidez, percepción de dulzor breve e inestabilidad térmica.

El aceite de hígado, así como algunos otros aceites de pescado, que son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, llamados ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico, y en las vitaminas A y D, pueden tener efectos positivos en las articulaciones, el corazón, el cerebro, el sistema nervioso y la piel. Desafortunadamente en un ambiente normal rico en oxígeno, los subproductos oxidados desarrollan rápidamente un sabor picante que es inaceptable para muchas personas a pesar de su baja concentración. Por tanto, este efecto limita el uso de aceite de bacalao en los alimentos, especialmente si su incorporación como ingrediente en las preparaciones debe exponerlo al aire. Por lo tanto, una tecnología económica y renovable

para enmascarar el picante sabor a pescado del aceite de hígado de bacalao podría tener amplias aplicaciones (Sylvain et al., 2010).

La encapsulación de los aceites de pescado se ha logrado utilizando diferentes materiales y técnicas, como la atomización ultrasónica de la emulsión de quitosano, o secado por aspersión de emulsión de maltodextrina (Alamilla & Hermar, 2009).

Varios estudios han demostrado que las exinas de esporopolenina (SEC), extraídas de esporas de *Lycopodium clavatum* fácilmente disponibles y renovables, pueden utilizarse con eficacia para el proceso de encapsulación de alimentos para enmascarar el sabor del aceite de hígado de bacalao y proporcionar un material rico en aceite en forma de polvo (Sylvain et al., 2010).

8. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años la industria alimentaria se ha enfocado en el desarrollo de nuevos productos, ya que el consumidor se interesa por productos benéficos para la salud humana, de origen natural, biodisponibles, de bajo costo y con un aporte nutricional para mejorar la calidad y estilo de vida. Siguiendo con estos estándares propuestos para la industria, una de las problemáticas más comunes es el manejo de compuestos que son susceptibles a la degradación por factores ambientales como la luz, temperatura, humedad y oxígeno, por lo que es de suma importancia desarrollar nuevas tecnologías eficientes y económicas para poder conservar las propiedades de los compuestos de interés y evitar el deterioro o pérdida de estos.

Los ácidos grasos (tanto omega-3 como omega-6) como compuestos de interés son indispensables dentro de una dieta sana y equilibrada, debido a que el cuerpo humano es incapaz de producirlos de forma natural, a causa de esto el humano necesita consumirlos de fuentes externas como lo son los aceites de ajonjolí y chía, respectivamente. Estos ácidos grasos tienen la propiedad de reducir los niveles de colesterol alto de forma más efectiva que las grasas monoinsaturadas.

En el presente trabajo se propone utilizar la esporopolenina como biomaterial encapsulante de los ácidos grasos poliinsaturados del aceite de chía y de ajonjolí, debido a las propiedades que presenta la esporopolenina de ser un material de gran porosidad, termoestable, de distribución de tamaño homogéneo, de gran resistencia mecánica y química.

9. HIPÓTESIS

La esporopolenina purificada permitirá encapsular ácidos grasos poliinsaturados como el aceite de ajonjolí y aceite de chía con un mayor porcentaje de eficiencia de encapsulación con respecto a la esporopolenina no purificada.

10. OBJETIVOS

10.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad encapsulante del biopolímero esporopolenina purificada y no purificada como biomaterial de pared de aceites grasos poliinsaturados de aceite de ajonjolí y aceite de chía.

10.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Extraer aceite de ajonjolí y de chía mediante un proceso de prensado en frío.
- Realizar purificación de esporopolenina mediante un procedimiento fisicoquímico.
- Caracterizar fisicoquímica y térmicamente a la esporopolenina.
- Encapsular aceite de ajonjolí y de chía en esporopolenina por la técnica de contacto, agitación y vacío.
- Determinar el contenido de aceite superficial, aceite total en las cápsulas y eficiencia de encapsulación.
- Obtener imágenes de la estructura externa de las exinas de esporopolenina mediante microscopía óptica y de barrido.
- Realizar perfiles de liberación del aceite contenido en las cápsulas.
- Comparar las eficiencias de los métodos de encapsulamiento, así como realizar un análisis de ambas esporas (purificadas y no purificadas).

11. MATERIALES Y MÉTODOS

11.1 MATERIALES

Para la extracción de los aceites a encapsular se utilizaron semillas de ajonjolí y chía obtenidas de un centro comercial en la ciudad de Toluca, Estado de México.

La espora utilizada fue de la especie *Lycopodium*, así como los reactivos y material (Ácido Clorhídrico (HCl), Hidróxido de potasio (KOH), Acetona (CH₃COCH₃), Etanol (C₂H₅OH), Acido Orto-Fosfórico (H₃PO₄), Hidróxido de sodio (NaOH) y papel filtro) fueron adquiridos por la empresa Sigma-Alrich S.A. de C.V. (Toluca, Estado de México, México)

El agua empleada en los experimentos fue agua destilada proporcionada por la planta piloto de Ingeniería Química de la Unidad Cerrillo, de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México.

11.2 MÉTODOS

11.2.1 Extracción de aceites

Para la extracción del aceite de ajonjolí y aceite de chía se utilizó el método de prensado en frío. Se colocaron 300 g de semillas (ajonjolí o chía) dentro de un émbolo de 40 cm de largo por 10 cm de diámetro, y este a su vez se colocó en una prensa hidráulica Tamer (modelo PHT-20, Shanghai, China) ejerciendo una presión gradual sobre el pistón, hasta alcanzar las 9 toneladas de presión a temperatura ambiente (~ 20 °C).

El aceite extraído se recolectó en un vaso de precipitado y posteriormente fue envasado en frascos de vidrio color ámbar y almacenados en 4°C en un refrigerador comercial (Alpizar-Reyes et al., 2020).

11.2.2 Caracterización de la esporopolenina

La espora no purificada de la especie *Lycopodium* fue caracterizada por las siguientes técnicas:

Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR)

Los grupos funcionales de la esporopolenina se determinaron mediante espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR) utilizando un espectrofotómetro de Infrarrojo por Transformada de Fourier modelo Tensor 27, Bruker, con una fuente MIR y con el accesorio de ATR modelo Platinum ATR, Bruker con cristal de diamante.

Caracterización térmica

La caracterización térmica se llevó a cabo mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y un análisis termogravimétrico (TGA). Ambos estudios, TGA y DSC, se llevaron a cabo utilizando un analizador térmico Netzsch STA 449 F3 (Jupiter®, Selb, Alemania) con una rampa de calentamiento de 10 °C / min, en una atmósfera de nitrógeno a una velocidad de flujo de 20 mL / min. Las muestras se calentaron de 22 °C a 450 °C; se emplearon crisoles de aluminio de 5 mm de diámetro. Se usó el algoritmo de suavizado Savitzky-Golay para las curvas de TGA.

9.2.3. Purificación de esporopolenina

Se eliminó todo el material que no pertenecía a la exina, capa exterior de la espora de polen, donde se encuentra la esporopolenina de acuerdo con la metodología propuesta por (Barrier et al., 2010). 50 g de esporopolenina fueron lavados con acetona a reflujo mediante agitación a temperatura ambiente a una velocidad de 300 rpm durante 4 h, la mezcla resultante fue filtrada para dejarse secar a temperatura ambiente toda la noche (Etapa 1, E1). Posterior al tratamiento con acetona, las esporas fueron colocadas en una solución 1M de hidróxido de potasio con agitación de 300 rpm a reflujo durante un lapso de veinticuatro horas para su posterior filtrado (Etapa 2, E2).

Posteriormente, se realizó una serie de lavados a las esporas, cada lavado se llevó a cabo a una agitación de 300 rpm por un lapso de treinta minutos y su respectivo filtrado, el total de lavados fueron cinco lavados con agua destilada a 60°C y cinco lavados con etanol a 30°C. Después de los lavados, las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente durante toda la noche con una estufa de convección forzada (FELISA, Ciudad de México) (Etapa 3, E3).

Las esporas fueron sometidas a un nuevo lavado con Ácido Orto-Fosfórico a temperatura ambiente con una agitación de 500 rpm y reflujo constante, este lavado se mantuvo durante un lapso de siete días consecutivos. Al pasar este tiempo, las esporas fueron filtradas y lavadas con una solución de ácido clorhídrico 2M y un subsecuente lavado con una solución de hidróxido de sodio 2M, estos lavados se realizaron a temperatura ambiente con una agitación de 300 rpm durante un lapso de una hora cada lavado y un filtrado para cada solución (Etapa 4, E4). Posteriormente se realizaron lavados como los descritos en la etapa 3 empleando agua y acetona. Finalmente, las esporas se secaron a 45 °C hasta que alcanzaron peso contante, lo cual fue aproximadamente en dos días (Etapa 5, E5) y de esta manera se obtuvieron esporas libres de esporoplasma a las cuales se les llamo “Esporas purificadas”.

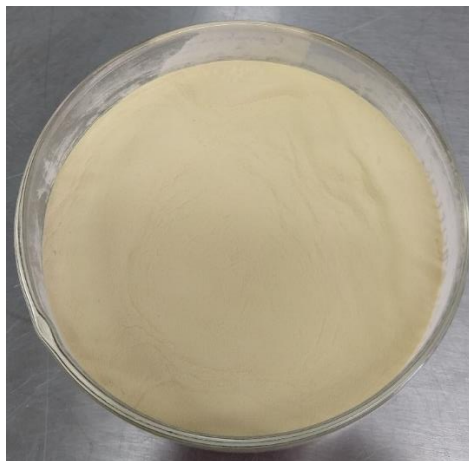


Figura 14 Espora no purificada



Figura 15 Espora purificada

11.2.4 Características estructurales de la esporopolenina no purificada y purificada

Morfología por microscopía electrónica de barrido

La morfología superficial de las esporas se adquirió usando un microscopio electrónico de barrido modelo JSM-6510 (Jeol Co. Ltd., Tokio, Japón) con una aceleración de voltaje de 1

a 30 kV. filamento de tungsteno, detectores de electrones secundarios y retrodispersos, resolución máxima de 5 nm en modalidad de alto vacío y con electrones secundarios, acoplado a un detector de rayos X, para hacer análisis químico por medio de Dispersión de Energía (EDS) marca OXFORD, con resolución de 137 eV.

Adicionalmente se empleó la técnica de espectroscopía de energía dispersada (EDS) para identificar la composición elemental de la esporopolenina de la clase *Lycopodium* con un equipo modelo ULTIMA con tecnología de óptica de haz cruzado (CBO) patentada de Rigaku con intervalo de medición de -3 a 162 ° (máximo) y tensión nominal del tubo generador de rayos X de 60-150 kV con un detector contador de centelleo.

11.2.5 Encapsulación de aceites en las esporas

El encapsulamiento de aceite en las esporas se realizó por tres métodos distintos los cuales fueron: i) pasivo o de contacto; ii) por agitación, y iii) al vacío, para los tres métodos se encapsularon ambos aceites (ajonjolí, chía) y los dos tipos de esporas (no purificada y purificada)

Encapsulamiento pasivo

Se pesaron 2g de esporas y se incorporaron en un vaso de precipitado de 50 mL, posteriormente se fue añadiendo lentamente con una pipeta Pasteur 6g de aceite hasta obtener una relación 1:3 de espóra-aceite (w/w), el sistema se mantuvo a temperatura ambiente (~ 20°C) durante el tiempo del proceso de encapsulación que fue de 2 h aproximadamente; con este método el aceite se introduce en la espóra por difusión.

Encapsulamiento por agitación

Se pesaron 2g de esporas y se incorporaron en un vaso de precipitado de 50 mL, posteriormente se fue añadiendo lentamente con una pipeta Pasteur 6g de aceite hasta obtener una relación 1:3 de espora-aceite (w/w), el sistema se mantuvo a temperatura ambiente (~ 20°C) durante el tiempo del proceso de encapsulación, el sistema se agitó con una espátula hasta que se logró tener una mezcla homogénea.

Encapsulamiento al vacío

Se pesaron 2g de esporas y se incorporaron en un matraz aforado de 50 mL, a estas esporas se fue añadiendo aceite con ayuda de una pipeta Pasteur hasta tener 6g de aceite hasta obtener una relación 1:3 de espora-aceite (w/w), el sistema se colocó en Vortex durante 5 min a 500 rpm. Posteriormente, el sistema fue llevado al vacío durante un periodo de tiempo de 2 h para favorecer la difusión del aceite en el interior de la espora.

11.2.6 Eficiencia de encapsulamiento

Aceite superficial

El aceite superficial en microcápsulas se determinó en base al método propuesto por Menin et al. (2018) con algunas modificaciones. Brevemente, se dispersó un gramo de cápsulas en 10 mL de n-hexano con agitación continua a 200 rpm durante un minuto. La suspensión se filtró y el residuo se lavó tres veces con 5 mL de n-hexano. Las cápsulas se secaron en una estufa de convección forzada a 45°C hasta peso constante. El aceite superficial de las cápsulas se determinó calculando la diferencia entre la masa de cápsulas inicial y el peso de la muestra obtenida después del secado.

Aceite total

El contenido de aceite total se midió de acuerdo con el método descrito por Rodea-González et al. (2012). Brevemente, se formó una suspensión a través de la dispersión de 2 g de cápsulas en 180 mL de n-hexano. El aceite se extrajo utilizando un sistema Soxhlet (VLP-SER 148/6), con un tiempo de extracción de 6 h. Después de la extracción, las muestras se secaron en una estufa de convección forzada a 45°C hasta peso constante. El contenido total de aceite se calculó como la diferencia entre la masa inicial de cápsulas y la masa de la muestra obtenida después de la extracción con Soxhlet.

Eficiencia de encapsulamiento

El porcentaje de eficiencia de encapsulamiento (EE) se determinó con la siguiente relación Rodea González et al. (2012):

$$EE\% = \frac{(O_{total} - O_{superficial})}{O_{total}} \times 100 \quad (1)$$

donde el aceite total (O_{total}) contempla la suma del contenido de aceite dentro de las cápsulas y en la superficie de estas, mientras que el aceite de la superficie ($O_{superficial}$) es el aceite que correspondió a el contenido de aceite no encapsulado que se encuentra en la superficie de las partículas.

11.2.7 Perfiles de liberación del aceite contenido en la esporopolenina

Los perfiles de liberación del aceite de ajonjolí y aceite de chía en las esporas se obtuvieron basados en el método de Peniche et al. (2004). Se llevó a cabo mediante agitación de las cápsulas (0.5g) cargadas de cada sistema a diferentes intervalos de tiempo (1, 2, 4, 8, 16 y 32

min) adicionadas con 10 mL de n-hexano contenidos en un vaso de precipitado de 50 mL. Al término de cada intervalo de tiempo, las cápsulas se separaron del solvente por filtración, se colocaron en recipientes de aluminio identificados y el residuo del solvente se secó en una estufa por convección forzada a 35 °C. Por último, la liberación del aceite se calculó midiendo la pérdida de masa de cada muestra en los diferentes intervalos de tiempo después de secar el residuo del solvente.

12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

12.1 Caracterización de la esporopolenina no purificada

12.1.1 Espectroscopia Infrarroja (FTIR)

La estructura química de la esporopolenina no purificada fue obtenida por FT-IR. La esporopolenina es un biopolímero con estructura compleja compuesto solamente por hidrógeno (H), oxígeno (O) y carbono (C) con una cadena principal alifática, cadenas laterales compuestas de éteres aromáticos y carbonos conjugados. Estas cadenas están formadas principalmente por ácidos di-carboxílicos, ácidos grasos, n-alcanos y grupos –OH (Bernard et al., 2015).

El espectro FT-IR de las micropartículas de esporopolenina no purificada (Figura 16), verifica la existencia de vibraciones pertenecientes a enlaces -OH en 3360 cm^{-1} propios de la superficie de las micropartículas de la esporopolenina, las bandas en $2850\text{-}2925\text{ cm}^{-1}$ pertenecen a vibraciones de enlaces C-H debido a la presencia de alcanos. A números de onda de $1601\text{-}1760$ y 650 cm^{-1} se detectan bandas debido a vibraciones de enlaces C=C pertenecientes a alquenos conjugados y anillos aromáticos, las bandas en $1440\text{-}1395\text{ cm}^{-1}$ detectaron vibraciones de grupos O-H propios de ácidos carboxílicos, compuestos endógenos de la compleja estructura de la esporopolenina.

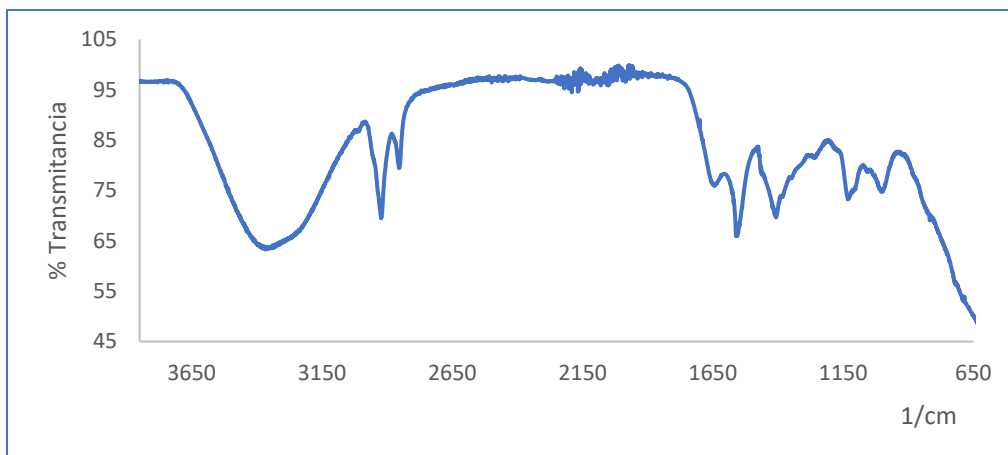


Figura 16 FT-IR de esporopolenina

12.1.2 Análisis Termogravimétrico y calorimétrico

El análisis termogravimétrico se llevó a cabo para de monitorear cambios físicos de la esporopolenina no purificada en una atmosfera de N₂, en un crisol de aluminio y con una rampa de calentamiento de 20°C/min. En la Figura 17a, se muestra el termograma de las micropartículas de esporopolenina en el cual se observan tres pérdidas de masa significativas entre (a) 0-170 °C del -2.35 % en masa, (b) 170-345 °C del -6.21 %, (c) 345-550 °C del -22.05 %. En la Figura 17b, se observa la curva calorimétrica de barrido diferencial (DSC), en donde se observan 5 picos los cuales se presentan en la Tabla 5 y que corresponden a reacciones de descomposición ya que existió una pérdida de masa considerable de hasta 30.61%.

Al analizar las curvas obtenidas por TGA y DSC, los tres picos en el intervalo de temperatura de 86-124°C corresponden a la pérdida de masa asociada a la pérdida de vapor de agua y dióxido de carbono (Alshehri et al., 2016). A la temperatura de 184°C y 235°C se registraron dos picos estrechos asociados a la degradación de grupos funcionales que contenían oxígeno, a los 500°C la degradación de grupos cetona correspondió a la pérdida de masa significativa, datos que concuerdan con otros estudios de degradación térmica hechos a la esporopolenina (Bernard et al., 2015). Las micropartículas de la esporopolenina presentaron una temperatura máxima de degradación de ~400°C con la pérdida de menos de 10% en masa.

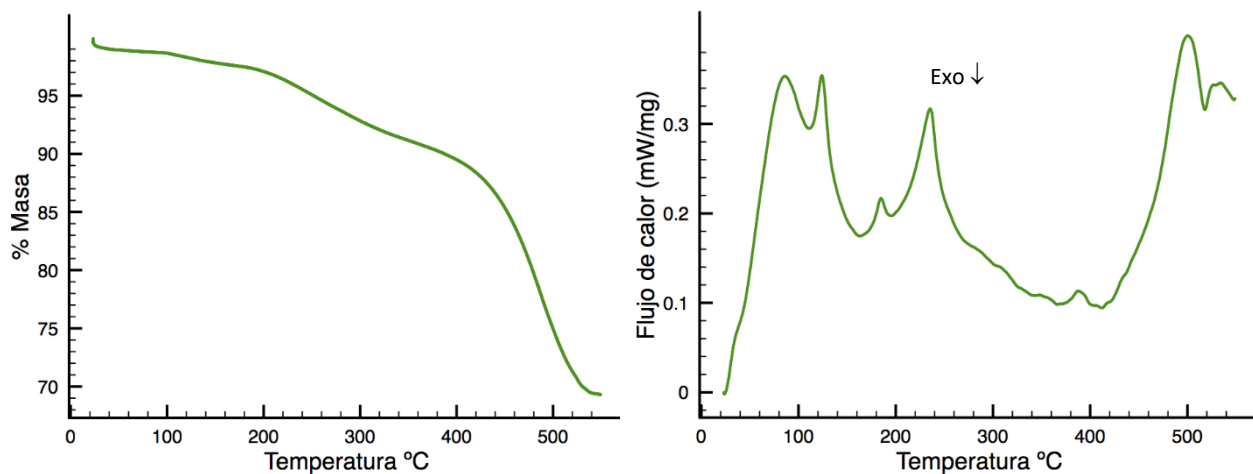


Figura 17 TGA y DSC de micropartículas de esporopolenina no purificada

Tabla 5 Picos encontrados DSC de Micropartículas de esporopolenina.

No. Picos	Temperatura (°C)	ΔH (J/g)	Proceso
1	86	43.31	Endotérmico
2	124		
3	184	16.31	Endotérmico
4	235		
5	500	18.71	Endotérmico

12.1.3 Características estructurales de la esporopolenina no purificada y purificada

Microscopia electrónica de barrido

Las imágenes obtenidas por medio de esta técnica permitieron conocer la estructura microscópica de la esporopolenina no purificada y purificada. En la micrografía electrónica de barrido presentada en la Figura 18, que corresponde a la esporopolenina no purificada se puede observar un material sólido mesoporoso por tener un tamaño de poro de ~2 nm (Seehra & Narang, 2016), con morfología porosa uniforme en tamaño y distribución (Baran et al., 2016).

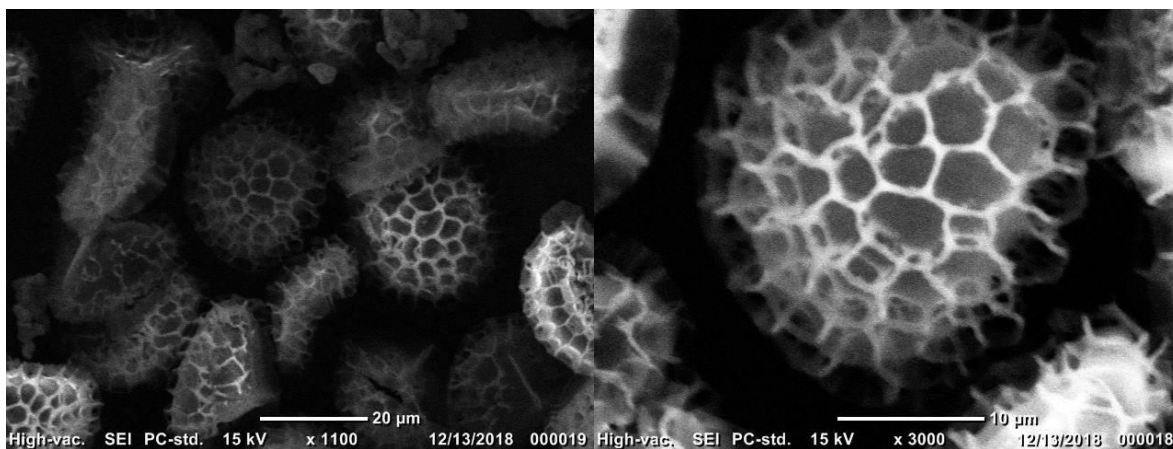


Figura 18 Morfología de micropartículas de esporopolenina no purificada

Mientras que en la Figura 19 se puede observar la micrografía de la esporopolenina obtenidas después del procedimiento de purificación donde se eliminó el material no exino y el material genético que normalmente se encuentra dentro de la estructura de los granos de polen, resultando la estructura porosa de la esporopolenina de aproximadamente 20 nm de largo.

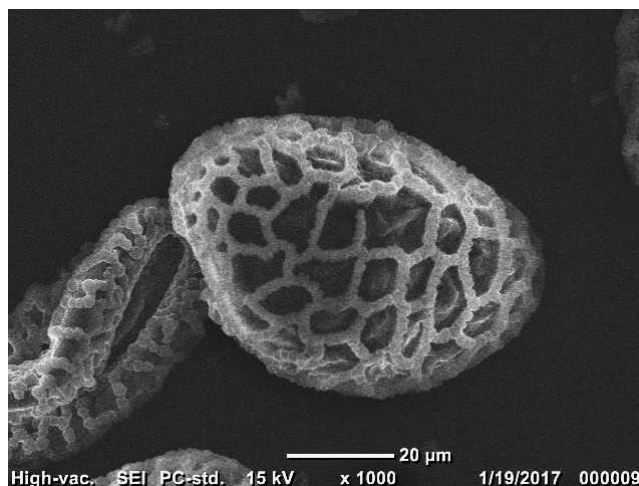


Figura 19 Morfología de micropartículas de esporopolenina purificada

Al comparar ambas figuras, las correspondiente a los granos de polen no purificados respecto a la esporopolenina purificada, se puede notar una diferencia, en donde se aprecia una morfología estructural superficial más homogénea (más redondeada) y donde se muestra el material orgánico en su interior.

Espectroscopía de energía dispersada (EDS)

La técnica EDS, proporcionó información cualitativa y semicuantitativa sobre la composición elemental de la esporopolenina no purificada, esta técnica permitió identificar ciertos elementos con firmas elementales únicas. En la Figura 20, se muestra el mapeo de EDS de las micropartículas de esporopolenina donde las altas concentraciones de carbono y oxígeno asociadas a su composición son evidentes (Murat Şener, 2014).

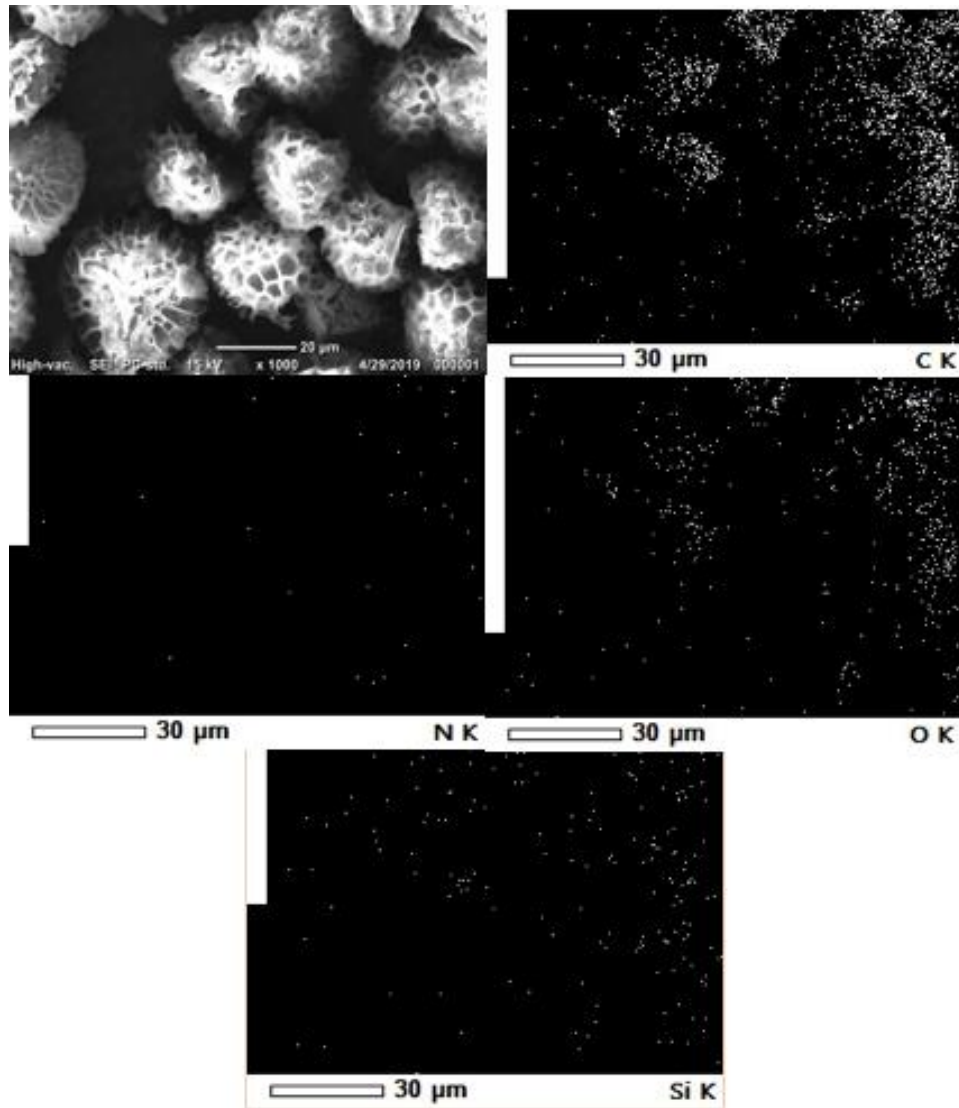


Figura 20 EDS de Micropartículas de esporopolenina no purificada

A partir de la Tabla 6, se constata que el mayor porcentaje en la superficie de la esporopolenina está compuesto por C, N y O. Esta composición resulto muy similar para la esporopolenina purificada, esto debido a que el proceso de purificación sólo consto de eliminar la materia orgánica del interior de las esporas, por lo que la composición externa de las micropartículas no se vio afectada, además el proceso de purificación no contemplo cambios químicos en la esporopolenina durante el procedimiento.

Tabla 6 Análisis cuantitativo de Micropartículas de esporopolenina no purificada.

Elemento	Radiografía característica (keV)	Porcentaje de Masa (%)
C	0.277	53.55 ± 5
N	0.392	13.92 ± 5
O	0.525	15.29 ± 5
Na	1.041	1.46 ± 5
Si	1.739	0.03 ± 5
Otros	0	15.75 ± 5
TOTAL		100%

12.2 Propiedades encapsulantes de la esporopolenina

En las tablas 7-9 se muestran las propiedades encapsulantes de la esporopolenina sin purificar y purificada para los diferentes métodos de encapsulamiento de los aceites de chía y ajonjolí, respectivamente. Como se puede apreciar en el caso del aceite superficial, se observa en todos los casos que la esporopolenina sin purificar contiene mayor cantidad de aceite que su contraparte la esporopolenina purificada. Lo anterior evidencia por una parte que el método de encapsulamiento juega un papel importante, donde los porcentajes mayores se tienen en el método pasivo y por agitación, respecto al método al vacío. Por otra parte, las esporas sin purificar retienen mayor cantidad de aceite que las esporas purificadas, esto se puede deber a una posible interacción entre el aceite y la materia orgánica que se encuentra en la superficie de las esporas conllevando a una mayor retención de aceite.

Con respecto a la capacidad que tiene la esporopolenina de retener el aceite tanto en su interior como en su superficie (aceite total), las tablas 7-9 muestran que la cantidad de aceite que se encuentra en la esporopolenina es alta, teniendo un intervalo entre 0.70 y 0.82 g de aceite / g de espora. Esta propiedad encapsulante también demuestra que el proceso de encapsulación cobra relevancia, donde el método de agitación proporciona los valores más

altos, seguido del método pasivo y finalmente el método al vacío. Se infiere que el proceso pasivo de encapsulamiento se da mediante un mecanismo de transferencia de masa difusivo, el cual depende del tiempo; mientras que los métodos de agitación y al vacío posiblemente se estén llevando a cabo por convección y donde los gradientes de concentración de aceite son mayores en comparación con los gradientes que se dan en el proceso de encapsulación pasivo.

La eficiencia de encapsulamiento es un parámetro fundamental que dictamina la eficacia que tiene un biopolímero para ser considerado un buen agente encapsulante, es decir, proporciona y cuantifica la cantidad real de aceite que retiene en su estructura interna el biopolímero y que le proveerá protección durante su procesamiento, distribución y almacenamiento. En las tablas 7-9 se observa que la esporopolenina purificada tuvo mayor capacidad de retención de aceite, esto era de esperarse debido a que en el proceso de purificación se elimina la materia orgánica que se encuentra en la estructura interna de las esporas, favoreciendo que las cavidades de las esporas tengan mayor área específica para encapsular una mayor cantidad de aceite que las esporas sin purificar. También se aprecia que el método de encapsulación al vacío favoreció la inclusión del aceite en el interior de las esporas, en comparación con los métodos pasivos y por agitación. Otra observación que se tiene es que el aceite de chía tiene mayor afinidad con las esporas que el aceite de ajonjolí, ya que los porcentajes de encapsulamiento son mayores con el aceite de chía, el cual es más rico en omegas 3, mientras que el aceite de ajonjolí es rico en omegas 6.

Aunque para todos los sistemas estudiados, la eficiencia de encapsulamiento resulto estar por debajo del 50%, mientras que en el mercado existen otros tipos de biopolímeros como gomas, proteínas, almidones que le confieren eficiencias de encapsulamiento a aceites como los que se utilizaron en este trabajo por arriba del 80%; por ende, la esporopolenina no puede ser considerado un excelente agente encapsulante, quizá se podría mejorar su eficacia si se le confiere una modificación química a su estructura, utilizarla en otros tipos de métodos de encapsulamiento, o bien, emplear este biopolímero en combinación con otro tipo de biopolímero para incrementar su capacidad de encapsulamiento mediante una sinergia entre ambos biomateriales.

Tabla 7 Encapsulación de los aceites por el método pasivo

Aceite	Agente encapsulante	Aceite superficial (%)	Aceite total (g/g espora)	Eficiencia de encapsulamiento (%)
Chía	Espora purificada	67	0.75	34
Chía	Espora sin purificar	70	0.73	26
Ajonjolí	Espora purificada	84	0.74	17
Ajonjolí	Espora sin purificar	86	0.77	15

Tabla 8 Encapsulación de los aceites por el método de agitación

Aceite	Agente encapsulante	Aceite superficial (%)	Aceite total (g/g espora)	Eficiencia de encapsulamiento (%)
Chía	Espora purificada	77	0.82	28
Chía	Espora sin purificar	83	0.81	19
Ajonjolí	Espora purificada	81	0.82	17
Ajonjolí	Espora sin purificar	84	0.80	14

Tabla 9 Encapsulación de los aceites por el método al vacío

Aceite	Agente encapsulante	Aceite superficial (%)	Aceite total (g/g espora)	Eficiencia de encapsulamiento (%)
Chía	Espora purificada	54	0.71	42
Chía	Espora sin purificar	69	0.70	29
Ajonjolí	Espora purificada	62	0.74	29
Ajonjolí	Espora sin purificar	72	0.75	25

12.3 Perfiles de liberación de los aceites encapsulados en la esporopolenina

En la figura 21 se muestran los perfiles de liberación de los aceites encapsulados en la esporopolenina sin purificar y purificada. Los perfiles presentan un comportamiento ascendente conforme se incrementa el tiempo, es decir, desde un punto de vista matemático se tiene una forma exponencial. Los sistemas conformados con la esporopolenina sin purificar libera menor cantidad de aceite, ya sea de ajonjolí o de chía, al parecer la topología externa en combinación con la materia orgánica que se encuentra en la superficie y en el interior de este polímero retarda la difusión del aceite del interior al exterior de las esporas.

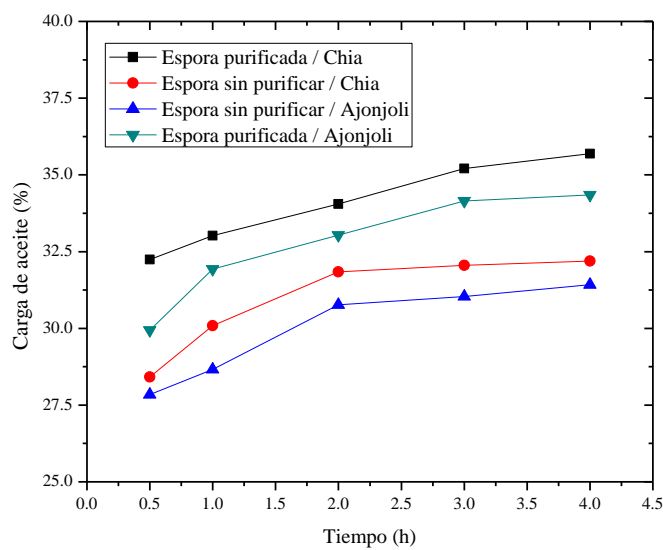


Figura 21 Perfiles de liberación de los aceites encapsulados en la esporopolenina

Para explicar los posibles mecanismos de liberación de los aceites en las esporas, se utilizaron dos modelos cinéticos de liberación, el modelo matemático de Higuchi y el modelo matemático de Ley de Potencia, también conocido como el modelo de Peppas, ambos modelos se encuentran descritos dentro de la tabla 10. En ambos modelos el parámetro Q describe la cantidad o el porcentaje de aceite liberado de las esporas; el parámetro K es adimensional y relaciona las características estructurales y geométricas de la matriz (esporopolenina), y n es el factor difusional que indica el mecanismo de liberación del aceite (Dima et al., 2016).

En este caso, en las cápsulas o partículas, los valores de n indican los siguientes mecanismos de liberación: para $n \leq 0.43$, el mecanismo de liberación dominante es la difusión de Fick (transporte caso I); $0.43 \leq n < 0.85$ indica la combinación simultánea de dos mecanismos, la difusión y el hinchamiento del biopolímero (transporte no Fickiano o anómalo), y cuando $n \geq 0.85$ el mecanismo corresponde a una cinética de liberación de orden cero (transporte caso II) (Cortés-Camargo et al., 2019 Siepmann & Peppas, 2001).

En la tabla 10 se aprecia que el modelo matemático que mejor describe los perfiles de liberación es el modelo tipo Ley de Potencia del modelo de Peppas, ya que los factores de correlación cuadráticos resultaron ser más grandes que los valores obtenidos mediante el modelo de Higuchi. Por ende, para el caso del modelo tipo Ley de potencia, se puede observar que el valor del parámetro n oscila entre 0.04 y 0.06 aproximadamente. Estos valores son menores a 0.43, lo que significa que la liberación de los aceites se da mediante el mecanismo de transporte de materia por difusión tipo Fick de carácter difusivo efectivo aparente.

Tabla 10 Modelos cinéticos que describen los perfiles de liberación de los sistemas encapsulantes.

Modelo matemático	Espora purificada / Chia	Espora sin purificar / Chia	Espora sin purificar / Ajonjoli	Espora purificada / Ajonjoli
Ley de potencia $Q = Kt^n$	n=0.0498 K=0.2207 R ² =0.9940	n=0.0620 K=0.1802 R ² =0.9454	n=0.0624 K=0.1739 R ² =0.9618	n=0.0661 K=0.1838 R ² =0.9791
Higuchi $Q = K\sqrt{t}$	n=0.5 K=0.00046 R ² =0.9768	n=0.5 K=0.00048 R ² =0.8748	n=0.5 K=0.00049 R ² =0.9320	n=0.5 K=0.00056 R ² =0.9381

Con base en estos resultados, se asumió que los dos aceites (chía y ajonjolí) se liberaron predominantemente por difusión efectiva. Por lo tanto, se aplicó la ley de difusión de la ley de Fick para partículas esféricas asumiendo que: (1) los aceites se dispersan uniformemente por toda la matriz de la esporopolenina; (2) la tasa de liberación de los aceites está gobernada por el transporte de materia de estos aceites por los poros de la matriz que constituye la esporopolenina; (3) no hubo contribución del transporte de materia por convección y (4) las dimensiones de las micropartículas permanecen constantes (diámetros de 10 μm , aproximadamente). Posteriormente se procedió a calcular los coeficientes de difusión efectivo aparente para los diferentes sistemas encapsulantes estudiados mediante la siguiente expresión: (Beirão-da-Costa et al., 2012)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 6 \left(\frac{D_t}{\pi r^2} \right)^{0.5} - \frac{3D_t}{r^2} \quad \text{Ec (2)}$$

donde:

M_t : masa de soluto liberada en un tiempo t

M_∞ : masa de soluto liberada en un tiempo infinito

r : radio de esporopolenina

D_t : coeficiente de difusión

Los valores de los coeficientes de difusión efectivo se presentan en la tabla 11. Como se puede apreciar, los valores se encuentran en el orden de $2 \times 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$, estos valores resultan relativamente muy pequeños, lo que hace inferir que el tamaño de poro de la esporopolenina se encuentra en el orden de los nanómetros, por lo que la resistencia al transporte de materia es relativamente alta. Resultados similares han sido reportados para el encapsulamiento del aceite esencial de orégano, donde se empleó inulina, gelatina y sacarosa como agentes encapsulantes empleando el secado por aspersión como método de encapsulación (Beirão-da-Costa et al., 2012).

Tabla 11 Coeficientes de difusión efectivo aparente de los sistemas encapsulados.

Sistema	Coeficiente de difusión efectivo $D_{ef} \text{ (m}^2/\text{s)}$
Espora purificada / Chía	2.22E-14
Espora sin purificar / Chía	2.27E-14
Espora purificada / Ajonjolí	2.25E-14
Espora sin purificar / Ajonjolí	2.29E-14

13. CONCLUSIONES

- La esporopolenina de la especie *Lycopodium clavatum* resultó ser térmicamente estable en el intervalo de temperatura entre los 184 y 235 °C, así como su estructura evidenció una conformación mesoporosa con morfología uniforme en tamaño y distribución alrededor de 20 μm de diámetro aproximadamente.
- La esporopolenina sin purificar mostró porcentajes de aceite superficial mayores respecto a la esporopolenina purificada, por lo que la remoción de materia orgánica de la superficie externa del biopolímero impacta en esta propiedad encapsulante, donde lo deseable es tener la menor cantidad de aceite superficial.
- El contenido de aceite total presentó valores altos, demostrando la capacidad que tienen las esporas de retener aceite tanto en su superficie como en su interior, en conjunto con el método de encapsulación por agitación, teniendo contenidos de aceite total entre 0.70 y 0.82 g aceite/g de spora.
- Los porcentajes de eficiencia de encapsulamiento tuvieron valores por debajo del 50%, estando debajo de los reportados por otros tipos de agentes encapsulantes como gomas, almidones, maltodextrinas, mucílagos. Lo anterior hace inferir que los métodos de encapsulación propuestos no fueron los adecuados, o bien, que la esporopolenina no tiene la capacidad de encapsular y retener los aceites estudiados dentro de su estructura porosa.
- La liberación de los aceites de la esporopolenina presentó perfiles de liberación que se ajustan adecuadamente a un modelo tipo Ley de potencia, donde el mecanismo de transporte de materia se da por difusión.

- En términos generales, se puede concluir que esta especie de espora tiene características y propiedades que lo hacen atractivo como coadyuvante en el proceso de encapsulación de aceites grasos poliinsaturados, y que sería atractivo utilizarlo en combinación con otro tipo de biopolímero y con otras técnicas de encapsulación como el secado por aspersión o la gelificación iónica.

14. BIBLIOGRAFIA

- Aghbashlo, M., Mobli, H., Madadlou, A., & Rafiee, S. (2012). The correlation of wall material composition with flow characteristics and encapsulation behavior of fish oil emulsion. *Food Research International*, 49(3), 379-388.
- Aghajani, A., Nezhad, H. H., Mortazavi, A. S., & Yazdi, F. T. (2020). Microencapsulation of probiotics in yogurt: A Review. *Engineering, technology and innovation*, 54-71.
- Aghbashlo, M., Mobli, H., Madadlou, A., & Rafiee, S. (2012). The correlation of wall material composition with flow characteristics and encapsulation behavior of fish oil emulsion. *Food Research International*, 49(3), 379-388.
- Akbari, M., Sadeghi, A., Sarabandi, K., & Ghorbani, A. (2019). Physicochemical properties and antioxidant activities of green tea extract microencapsulated by co-crystallization technique. *Journal of Food Science and Technology* 85 (15), 197-216.
- Akyuz, L., Sargin, I., Kaya, M., Ceter, T., & Akata, I. (2017). A new pollen-derived microcarrier for pantoprazole delivery. *Materials Science and Engineering*, 71, 937-942.
- Alamilla, M. A., & Hermar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38, 902-912.
- Alba, G. (2016). Aceites vegetales, hacia una producción sostenible. *Universidad Autónoma de Occidente*, 9-19.
- Alejo, A. R., & Custodio, P. E. (2010). Microencapsulamiento de ácido linolénico (omega 3) extraído a partir de semilla de chía (Tesis). *Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla*.
- Alshehri, S., Al-Lohedan, H., Al-Farraj, E., Alhokbany, N., Chaudhary, A. A., & Agamad, T. (2016). Macroporous natural capsules extracted from *Phoenix dactylifera* L. spore and their application in oral drugs delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 504, 39-47.
- Amiri, M. S., Mohammadzadeh, V., Yazdi, M. E., Barani, M., Rahdar, A., & Kyzas, G. (2021). Plant-Based Gums and Mucilages Applications in Pharmacology and Nanomedicine: A Review. *Molecules*, 26(6), 770-793.
- Amr, M., Shabbar, A., Barkat, A., Hamid, M., Abouelwafa, M. Y., Ahmed, M., & Liang, L. (2016). Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 143-182.
- Anilakumar, K. R., Pal, A., Khanum, F., & Bawa, A. S. (2010). Nutritional, Medicinal and Industrial Uses of Sesame Seeds. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 75(4), 159-158.
- Anuradha, Kumari, S., & Pathak, D. (2015). Synthesis and development of Chitosan anchored Copper(II) Schiff base complexes as heterogeneous catalysts for N-arylation of amines. *Tetrahedron Letters*, 56(27), 4135-4142.

- Arvisenet, G., Bail, P., Voilley, A., & Cayot, N. (2002). Influence of physicochemical interactions between amylase and aroma compounds on the retention of aroma in food-like matrices. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *50*, 7088-7093.
- Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H., & Casabianca, H. (2015). Essential Oils: From Extraction to Encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, *483(1-2)*, 220-243.
- Atkin, S. L., Barrier, S., Cui, Z., Fletcher, P. D., Grahame, M., Panel, V., . . . Zhang, X. (2010). UV and visible light screening by individual sporopollenin exines derived from *Lycopodium clavatum* (club moss) and *Ambrosia trifida* (giant ragweed). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *102*, 209-217.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2009). Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and α -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selection. *Industrial Crops and Products* *30(2)*, 321-324.
- Baran, T., Sargin, I., Kaya, M., Mentés, A., & Ceter, T. (2017). Design and application of sporopollenin microcapsule supported palladium catalyst: Remarkably high turnover frequency and reusability in catalysis of biaryls. *Journal of Colloid and Interface Science* *486*, 194-203.
- Barbosa, G. V., & Vega, H. (1999). Encapsulation and the controlled release of flavors Compounds. *Leatherhead Food Industry Journal*, *2*, 36-48.
- Barbosa, G. V., Ortega, E., Juliano, P., & Yan, H. (2005). Food Powders. In G. V. Barbosa, E. Ortega, P. Juliano, & H. Yan, *Encapsulation processes* (pp. 199-219). New York: Springer.
- Barrier, & Sylvain. (2008). *Physical and chemical properties of sporopollenin exine particles*. Cottingham: University of Hull.
- Barrier, S., Rigby, A. S., Taboada, A. D., Thomasson, M. J., Mackenzie, G., & Atkin, S. L. (2010). Sporopollenin exines: A novel natural taste masking material. *Food Science and Technology*, *43*, 73-76.
- Beindorff, C., & Zuidam, N. (2009). *Microencapsulation of fish oil*. New York: Springer.
- Beirão da Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A., Pinheiro, A., Serra, A. T., Moldão Martins, M., . . . Beirão da Costa, M. L. (2012). Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. *Journal of Food Engineering*, *110*, 190-199.
- BeMiller, J. N., & Whister, R. L. (1996). *Carbohydrates in Food Chemistry*. New York, EUA.: Marcel Dekker.
- Beristain, C. I., Mendoza, R. E., García, H. S., & Vázquez, A. (1994). Cocrystallization of Jamaica (*Hibiscus sabdarifa* L.) granules. *Lebensmittel-Weissenchaft Und-Technologie*, *27*, 347-349.

- Bhandari, B. R., Datta, N., D'Arcy, B. R., & Rintoul, G. B. (1998). Cocrystallization of honey with sucrose. *Lebensmittel-Weissenchaft Und Technologie*, 31, 138-142.
- Blanco, O. G. (2015). Ácidos grasos omega-6 y omega-3 de la dieta y carcinogénesis mamaria: bases moleculares y celulares. *Medicentro Electrónica*, (3) 50-72.
- Boer, F. Y., Imhof, A., & Velikov, K. (2019). Encapsulation of colorants by natural polymers for food applications. *Coloration Technology*, 3-15.
- Buffo, R. A., & Reineccius, G. A. (2001). Comparison among assorted drying processes for the encapsulation of flavors. *Perfumer and Flavorist*, 26, 58-67.
- Busilacchi, H., Quiroga, M., Bueno, M., Di Sapio, O., Voykos, F., & Severin, C. (2013). Evaluación de *Salvia hispanica* L. cultivada. *INCA. Cultivos Tropicales*, 34(4), 55-59.
- Champagne, C., & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Food Biotechnology*, 18, 184-190.
- Chews, S. C., & Nyam, K. L. (2016). Microencapsulation of kenaf seed oil by co-extrusion technology. *Journal of Food Engineering*, 175, 43-50.
- Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Jeong, M. A., . . . Kim, C. J. (2010). Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters, 84. *Meat Science*, 557-563.
- Cortés Camargo, S., Acuña Avila, P. E., Rogríguez Huevo, M. E., Román Guerrero, A., Varela Guerrero, V., & Pérez Alonso, C. (2019). Effect of chia mucilage addition on oxidation and release kinetics of lemon essential oil microencapsulated using mesquite gum – Chia mucilage mixtures. *Food Research International*, 116, 1010-1019.
- Crews, C., Hough, P., Gdosward, J., Brereton, P., Less, M., Guet, S., & Winkelmann, W. (2006). Quantitation of the main constituents of some authentic seed oils of different origin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54 (2), 6261-6265.
- Crouzet, J. (1998). Aromes alimentaires. Techniques de l'ingénieur. *Agroalimentaire*, 32, 36-45.
- De Boer, F. Y., Imhof, A., & Velikov, K. P. (2019). Encapsulation of colorants by natural polymers for food applications. *Coloration Technology*, 1-12.
- Deogade, U. M., Deshmukh, V. N., & Sakarkar, D. M. (2012). Natural gums and mucilage's in NDDS: Applications and recent approaches. *Int. J. PharmTech. Res.*, 799-814, 4.
- Desai, A., Shidhaye, S., & Malke, S. (2005). Use of natural release retardant in drug delivery system. *Indian Drugs*, 42, 565-575.
- Desai, K. G., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361-1394.
- Desai, K. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361-1394.

- Desobry, S., Netto, F. M., & Labuza, T. P. (1997). Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for b-carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*. 62, 1158-1162.
- Dickinson, E. (2001). Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology. *Colloids Interfaces B*, 20, 197-210.
- Dima, C., PaCoriandrum sativum L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. *Food Chemistry*, 195, 39-48.
- Diop, M., Auberval, N., Viciglio, A., Langlois, A., Bietiger, W., Mura, C., . . . Sigrist, S. (2015). Design, characterisation, and bioefficiency of insulin–chitosan nanoparticles after stabilisation by freeze-drying or cross-linking. *International Journal of Pharmaceutics* 491(1-2), 402-408.
- Dziezak, J. D. (1998). Microencapsulation and encapsulation ingredients. *Food Technology*, 42, 136-151.
- Edwin, J., Edwin, S., & Dosi, S. (2007). Application of Hibiscus leaves mucilage as suspending agent. *Indian Journal of pharmaceutical Education and Research*, 41(2), 373-385.
- Eghbal, N., & Choudhary, R. (2018). Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. *LTW*, 90, 254-264.
- Esquivel, B., Ochoa, L., & Rutiaga, O. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 16 (2), 180-192.
- Estrada, G., Martinez, R., Morales, J., & Olayo, R. (2019). Incorporation of fluoroquinolone/beta cyclodextrin inclusion complex from polylactic acid electrospun fibers and modeling of the release behavior. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 18, 737-747.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols. *Trends in food Science and Technology*, 21(2), 510-523.
- FAO. (2014). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Ferrari, C. S., Marconi, S., & Aguirre, J. (2012). Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. *Drying Technology*, 30, 154-163.
- Fuentes, T., Martinez, S. L., Cortés, S., Yazmin, A., Gallardo, R., Baeza, R., & Pérez, C. (2017). Effects of the process variables of microencapsulation sesame oil by spray drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 477-490.
- Garrido, E., Cerqueira, A., Chavarria, D., Silvia, T., Borges, F., & Galindo, F. (2018). Microencapsulation of caffeic acid phenethyl ester and caffeic acid phenethyl amide by inclusion in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Chemistry* 254, 260-265.

- Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Asdadi, A., Yadini, A., & Charrouf, Z. (2017). Chemical characterization and oxidative stability of seed and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(2), 105-111.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, O., Chambin, A., Voilley, G., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Ghosh, S. K. (2006). Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. *Functional Coatings*, 1-28.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, L., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry. *International Journal of Food and Nutrition*, 50, 213-224.
- Girish, K., Dhiren, P., Vipul, D., & Vineet, C. (2009). Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(5), 308-322.
- Godshall, M. A. (2007). How carbohydrates influence food flavor. *Journal of Food Technology*, 51, 63-67.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 330-347.
- Hassan, H., & Manal, A. M. (2012). Studies on Egyptian sesame seeds (*sesamum indicum* L.) and its products 1. *World J. Dairy Food Sci.*, 7(2), 195- 201.
- Heinzen, C. (2002). Microencapsulation solve time dependent problems for foodmakers. *European Food and Drink*, 3, 27-30.
- Hsieh, R., & Kinsella, J. (1989). Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids: Mechanisms, Products and Inhibition with Emphasis of Fish. . *Advances in Food and Nutrition Research*, 233-341 (08).
- Jackson, L. S., & Lee, K. (1991). Microencapsulation in the food industry. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 24, 289-297.
- Jamboonsri, W., Phillips, T. D., Geneve, R. L., Cahill, J. P., & Hildebrand, D. F. (2011). Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L. a new w3 source. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(2), 171-178.
- Jeong, S. K., Park, H. J., Park, B. D., & Kim, I. J. (2010). Effectiveness of tropical chia seed oil on pruritus of end-stage renal disease (ESRD) patients of healthy volunteers. *Ann. Dermatol* 22(2), 143-148.

- Jungfermann, C., Ahlers, F., Grote, M., Cubatz, S., Steuernagel, S., Thom, I., . . . Wiermann, R. (1997). Solution of sporopollenin and reaggregation of a sporopollenin-like material: A new approach in the sporopollenin research. *Journal Of Plant Physiology*, 98, 513-519.
- Kaewmanee, T., Bagnasco, L., Benjakul, S., Lanteri, S., Morelli, C. F., Speranza, G., & Cosulich, M. E. (2014). Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry*, 148, 60-69.
- Kaya, M., Akyuz, L., Sargin, I., Mujtaba, M., Salaberria, A. M., Labidi, J., . . . Ceter, T. (2016). Incorporation of sporopollenin enhances acid–base durability, hydrophobicity, and mechanical, antifungal and antioxidant properties of chitosan films. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 47, 236-245.
- Kenyon, M. (1995). Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. *American Chemical Society*, 35, 42-50.
- Kim, Y. D., Morr, C. V., & Schenz, T. W. (1996). Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: liquid orange oil emulsion particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1308-1313.
- Korus, J. (2001). Microencapsulation of flavours in starch matrix by coacervation method. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 10(5), 17-23.
- Lakkis, J. M. (2007). *Introduction. In Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. Iowa USA: Blackwell.
- Landines, M., & Zambrano, J. (2009). La oxidación lipídica en la cadena de producción acuícola. *Revista de Investigacion Agraria y Ambiental*, (1) 13-22.
- Lawson, H. (1999). *Aceites y grasas alimentarios: tecnología, utilización y nutrición*. España: Acribia.
- Li, H., Zhu, K., Zhou, H., & Peng, W. (2012). Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula. *Food Chemical*, 132, 808-814.
- Lupo, B. (2014). *Estudio de la gelificación de los alginatos para encapsulación: caracterización, preparación y aplicaciones en alimentos funcionales*. Barcelona : Universitat de Barcelona .
- Macias, E., Gallegos, J., Rocha, N., Moreno, M., Medina, L., & Gonzales, R. (2019). Microencapsulation of phenolic compounds: Technologies and novel polymers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (19), 2, 491-521.
- Mackenzie, G., Boa, A., Taboada, A., Atkin, S., & Sathyapalan, T. (2015). Sporopollenin, the least known yet toughest natural biopolymer. *Frontiers in Materials*, 66-71.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.

- Maulny, A. P., Beckett, S. T., & Mackenzie, G. (2005). Physical properties of Co-crystalline sugar and honey. *Journal of Food Science*, 70, 567-572.
- Medina, L. E., García, E., Calderas, F., González, R., Sánchez, G., Gallegos, J., . . . Rodríguez, J. (2013). Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (opuntia ficus indica). *LWT Food Science and Technology*, 50, 642-650.
- Mera, H., & Amada, E. (2017). *Análisis Gastronómico de la Semilla Ajonjolí (Sesamun Indicum)*. Guayaquil: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL.
- Minaya, J. (2016). *Efecto del uso de semillas de chía (Salvia hispanica) enteras y trituradas en los valores lipídicos y glucémicos en la sangre de dos grupos con diferentes perfiles metabólicos*. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Mohd, N., Keong, S., Yong, W., Kee, B., Wei, S., & Guan, S. (2012). The Promising Future of Chía (Salvia hispanica L.). *BioMed Research Biotechnology* 5(2), 1-9.
- Mundargi, R. C., Tan, E. L., Seo, J., & Cho, N. J. (2016). Encapsulation and controlled release formulations of 5-fluorouracil from natural Lycopodium clavatum spores. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 89, 102-108.
- Muñoz, T., Ocampo, I., Parra, F., Cervantes, J., Argumedo, A., & Cruz, S. (2017). Production process and commercialization mechanisms of chía (Salvia hispánica L.). *Nova Scientia* 19 (9), 788-818.
- Murat, S., Harikishore, D., & Berkant, K. (2014, Mayo 4). Biosorption properties of pretreated sporopollenin biomass for lead(II) and copper(II): Application of response surface methodology. *Ecological Engineering*, 68, 200-208.
- Nakagawa, K., Iwamoto, S., Nakajima, M., Shono, A., & Satoh, K. (2004). Microchannel emulsification using gelatine and surfactant-free coacervate microencapsulation. *Journal of Colloids and Interface Science*, 278, 198-215.
- Oxley, J. D. (2012). Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*, 110-130.
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry* 272, 494-506.
- Pasukamonset, P., Kwon, O., & Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from Clitoria ternateapetal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 61, 772-779.
- Pedroso, D. L., Thomazini, M., Barrozo, H. R., & Favaro, S. C. (2012). Protection of bifidobacterium lactis and lactobacillus acidophilus by microencapsulation using spray-chilling. *International Dairy Journal*, 26, 127-132.

- Primo, E. (2007). *Química básica y aplicada: de la molécula a la industria*. Barcelona: REVERTÉ.
- Rahman, M. S., Hossain, M. A., Ahmed, G. M., & Uddin, M. M. (2007). Studies on the characterization, lipids and glyceride compositions of Sesame seed oil. *Bangladesh Journal of Science, Industry and Research*, 42, 67-74.
- Reddy, D., Lee, S., & Sessaia, K. (2012). Biosorption of Toxic Heavy Metal Ions from Water Environment Using Honeycomb Biomass An Industrial Waste Material. . *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(9), 5967-5982.
- Reineccius, T. A., Reineccius, G. A., & Peppard, T. L. (2002). Encapsulation of flavors using cyclodextrins: comparison of flavor retention in alpha, beta and gamma types. *Journal of Food Science*, 67, 3271-3279.
- Remuñán, C., & Alonso, M. J. (1997). Microencapsulación de medicamentos. In C. Remuñán, & M. J. Alonso, *Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. (pp. 577-609). Madrid: Síntesis S.A.
- Rigon, R., & Zapata, T. (2016). Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry(Rubus fruticosus). *Journal of Food Science and Technology* 53, 1515-1524.
- Risch, S. J. (1995). Encapsulation: overview of uses and techniques. Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredient. *American Chemical Society*, 370, 2-7.
- Risch, S. J. (1998). Encapsulation of flavours by extrusion. *International Dairy Journal*. 13, 593-605.
- Robinson, D. H., & Mauger, J. W. (1991). Phytochemical Phylogeny. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 48, 14-23.
- Rodriguez, M. E., Pedroza, R., Prado, L. A., Beristain, C. I., & Vernon, E. J. (2004). Microencapsulation by spray-drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal Food Science*, 69, 351-359.
- Ross, K. B. (2003). Effect of texture and microstructure on flavour retention and release. *International Dairy Journal*, 13(6), 593-605.
- Rostamnia, S., Doustkhah, E., & Zeynizadeh, B. (2016). Cationic modification of SBA-15 pore walls for Pd supporting: Pd@SBA-15/IL DABCO as a catalyst for Suzuki coupling in water medium. *Microporous and Mesoporous Materials* 222, 87-93.
- Sabah El Khier, M. K., Khogali Elnur, A. I., & Gasim, A. Y. (2008). Chemical Composition and oil characteristics of sesame seed cultivars grown in Sudan . *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(6), 761-766.
- Sánchez, E. (2006). Hidroextracción y Microencapsulación de Aceite Esencial de Pimienta Gorda . *Universidad Autónoma del Estado de México*, 50-72.
- Sanhueza, J., Duran, S., & Torres, J. (2015). Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos* 32 (3), 1362-1375.

- Santos, D. T., & Meireles, M. A. (2010). Carotenoid pigments encapsulation: Fundamentals, techniques and recent trends. *Open Chemical Engineering Journal*, 4, 42-50.
- Sarabandi, K., Mahoonak, A. S., & Akbari, M. (2018). Physicochemical properties and antioxidant stability of microencapsulated marjoram extract prepared by co-crystallization method. *Journal of Food Process Engineering*, 320-332.
- Sargin, I., & Arslan, G. (2015). Chitosan/sporopollenin microcapsules: Preparation, characterisation and application in heavy metal removal. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 230-238.
- Segura, C. M., Ciau, S. N., Rosado, R. G., Chel, G. L., & Betancur, A. D. (2014). Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán México. *Agricultural Science* 5(3), 220-226.
- Shaweds, G. (1990). Sporopollenin. In G. Shaweds, J. Brooks, P. R. Grant, M. Muir, P. Van, & G. Gijzel, *Lycopodium clavatum* (pp. 305-348). New York: London.
- Siepmann, J., & Peppas. (2001). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 139-157.
- Simopoulos, A. P. (2002). Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(6), 495-505.
- Steinbock, B., Vichaikul, P. P., & Steinbock, O. (2002). Nonlinear analysis of dynamic binding in affinity capillary electrophoresis demonstrated for inclusion complexes of β -cyclodextrin. *Journal of Chromatography*, 943, 139-146.
- Suganya, V., & Anuradha, V. (2017). Microencapsulation and Nanoencapsulation: A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 9 (3), 233-239.
- Sylvain, B., Taboada, A. D., Thomasson, M. J., Madden, L., Pointon, J. C., Wadhawan, J. D., . . . Mackenzie, G. (2010). Viability of plant spore exine capsules for microencapsulation. *Journal of Materials Chemistry*, 15, 975-981.
- Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society* 61(5), 928-931.
- Turley, L. (1996). Breaking free update on controlled flavour release. *International Food Ingredients*, 3, 14-18.
- Tutar, H., Yilmaz, E., Pehlivan, E., & Yilmaz, M. (2009). Immobilization of *Candida rugosa* lipase on sporopollenin from *Lycopodium clavatum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 315-320.
- Uhlemann, H., Schleifenbaum, B., & Bertram, H. J. (2002). Flavor encapsulation technologies: an overview including recent developments. *Perfumer and Flavorist*, 27, 52-61.
- Valdés, G. (2018). Análisis de parámetros de proceso en la microencapsulación de ácido linoleico mediante secado por aspersión. *Universidad Autónoma del Estado de México (Tesis)*.

- Venkata, N., Muthu, P., Narayan, S., Surya, K., Seetha, P., & Srawan, G. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187-197.
- Venkata, R. E. (1992). Chemical and biological aspects of selected polysaccharides. *Indian Journal Pharmaceutical Sciences*, 54, 90-97.
- Verma, P. R., & Razdan, B. (2003). Studies on *Leucaena leucocephala* seed gum: emulsifying properties. *Journal of Science and Industrial Research*, 62, 198-206.
- Xiao, A., Liu, W., Zhu, G., Zhou, R., & Niu, Y. (2014). A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(8), 1482–1494.
- Xingú, L., Gonzáles, H., Cruz, E., Sangerman, D., Orozco, G., & Rubí, M. (2017). Chia (*Salvia hispanica* L.) current situation and future trends. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1619-1631.
- Yamashita, C., Chung, M., Santos, C., Mayer, C., Moraes, I., & Branco, I. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *Food Science and Technology* 84, 256-262.
- Yoshii, H., Scottitantawat, A., Liu, X., Atarashi, T., Furuta, T., & Aishima, S. (2001). Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2, 55-61.
- Zeller, B., Saleeb, F., & Ludescher, R. (1998). Trends in development of porous carbohydrate food ingredients for use in flavor encapsulation. *Trends in Food Science and Technology*, 9(11-12), 389-394.
- Zhu, F. (2017). Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. *Food Chemistry*, 229, 542-552.