



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE
COMPUESTOS FENÓLICOS DE MATCHA (*CAMELLIA
SINENSIS*) ENCAPSULADOS EN MATRICES MIXTAS POR
GELACIÓN IÓNICA”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:
DIANA BERENICE BERNAL SÁNCHEZ

ASESOR ACADÉMICO
DRA. EN C. A. ANDREA YAZMIN GUADARRAMA LEZAMA

TOLUCA, MÉXICO; 08 DE SEPTIEMBRE DEL 2025.



ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN.....	11
ANTECEDENTES.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	15
HIPÓTESIS	16
OBJETIVOS	17
1. MARCO TEÓRICO	19
1.1 Matcha (<i>Camellia sinensis</i>).....	19
1.1.1 Origen.....	19
1.1.2 Familia	19
1.1.3 Género.....	20
1.1.4 Especie.....	20
1.1.5 Compuestos bioactivos de <i>Camellia sinensis</i>	21
1.1.6 Estructura química de los polifenoles de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	23
1.1.7 Propiedades biológicas de los polifenoles de matcha (<i>Camellia sinensis</i>).....	24
1.1.8 Aportes benéficos a la salud	25
1.2 Compuestos fenólicos.....	26
1.2.1 ¿Qué son los compuestos fenólicos?.....	26
1.2.2 Familias de los compuestos fenólicos.....	26
- Catequinas.....	28
- Antocianinas	29
- Flavonoides.....	30
1.3 ¿Qué es la bioaccesibilidad?.....	31
1.3.1 ¿Cómo se determina la bioaccesibilidad?.....	33
1.4 Digestibilidad <i>in vitro</i>	33
1.4.1 El proceso digestivo.....	38
1.4.2 Fase oral.....	39
1.4.3 Fase gástrica.....	40
1.4.4 Fase intestinal	42
1.5 Encapsulación de compuestos bioactivos	44
1.5.1 ¿Qué es la encapsulación?.....	44

1.5.2	Ventajas de la encapsulación	45
1.5.3	Desventajas de la encapsulación.....	45
1.5.4	Diversos métodos de encapsulación	45
-	Gelación iónica.....	47
-	Gelación interna.....	49
-	Gelación externa.....	49
-	Coacervación	50
-	Secado por aspersion	52
-	Emulsión.....	53
-	Extrusión	54
-	Liofilización	55
1.6	Encapsulación por gelación iónica con matrices mixtas.....	56
1.6.1	Agentes encapsulantes	56
	Alginato de sodio	57
	Grenetina	57
	Maltodextrina.....	58
1.6.2	Materiales de pared o recubrimiento.....	59
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
2.1	MATERIALES	61
2.2	MÉTODOS.....	61
2.2.1	Extracción acuosa del concentrado de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	61
2.2.2	Caracterización del extracto de matcha (<i>Camellia sinensis</i>).....	61
2.2.3	Encapsulación de matcha (<i>Camellia sinensis</i>) por gelación iónica	64
-	Preparación de la solución de alginato de sodio	64
2.2.4	Caracterización de los ensapsulados de matcha (<i>Camellia sinensis</i>).....	66
2.2.5	Simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	67
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
3.1	Caracterización fisicoquímica del extracto de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	71
3.2	Determinación de azúcares reductores mediante el método de Fehling	73
3.3	Caracterización de los encapsulados de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	73
3.4	Simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	79
4.	CONCLUSIÓN.....	85
	REFERENCIAS	87

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

CS	<i>Camellia sinensis</i>
mg	miligramos
g	gramos
mL	mililitros
μL	microlitros
BA	Bioaccesibilidad
TA	Temperatura ambiente
SST	Sólidos solubles totales
CFT	Compuestos fenólicos totales

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Camellia sinensis</i>	21
Figura 2. <i>Camellia japonica</i>	21
Figura 3. <i>Gordonia lasianthus</i>	21
Figura 4. Estructura de las principales catequinas encontradas en el matcha (Phongnarosorn et al., 2018).	22
Figura 5. Estructura química del grupo fenol (A), del ácido benzoico (B) y del ácido cinámico (C).	27
Figura 6. Estructura básica de los flavonoides.....	28
Figura 7. Estructura química de los isómeros de las catequinas del té verde (CTV) en su configuración trans llamadas catequinas (García-Rodríguez, 2022).....	29
Figura 8. Antocianina: Estructura del ion flavilio (Akagi et al., 2009).....	30
Figura 9. Métodos utilizados para evaluar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos (caonell-Capella et al., 2014).	35
Figura 10. Protocolo del método de digestión <i>in vitro</i> estandarizado (Minekus et al., 2014).	37
Figura 11. Esquema del aparato digestivo humano.....	38
Figura 12. Tipos de transporte paracelular y transcelular en las células del epitelio intestinal.	43
Figura 13. Representación esquemática de los diferentes sistemas de encapsulación: a) reservorio, b) matriz inclusiva, c) mixto y d) aglomerados.....	46
Figura 14. Estructura de los monosacáridos que conforman al alginato (Junter et al., 2009)	48
Figura 15. Modelo de Caja de huevo (Avendaño et al., 2009).....	48
Figura 16. Representación del fenómeno de coacervación compleja	52
Figura 17. Técnica de encapsulación en emulsión (Pasin et al., 2012).	54
Figura 18. Tipos de dispositivos extrusores (Pasin et al., 2012).....	55
Figura 19. Análisis microscópico de cápsulas obtenidas por gelificación iónica a 15 y 30 minutos de reposo en CaCl ₂	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de <i>Camellia</i>	20
Tabla 2. Estructura química de las catequinas primarias en <i>Camellia sinensis</i> (Belščak, et al., 2009).	23
Tabla 3. Enzimas en la fase oral en la digestión (Mahan et al., 2013).....	40
Tabla 4. Enzimas en la fase gástrica en la digestión (Mahan et al., 2013).	42
Tabla 5. Sustancias empleadas en el recubrimiento de la microencapsulación (Villena et al., 2009).....	59
Tabla 6.. Composición de los fluidos digestivos para la simulación <i>in vitro</i>	67
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica del extracto de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	71
Tabla 8. Azúcares reductores por el método de Fehling.....	73

RESUMEN

Desde una perspectiva tecnológica, esta investigación aporta evidencia sólida sobre las ventajas de la gelación iónica como método de encapsulación para el desarrollo de ingredientes funcionales. En particular, se enfocó en los polifenoles del matcha compuestos bioactivos conocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y potencialmente anticancerígena. El objetivo de esta investigación fue evaluar la digestibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos presentes en matcha (*Camellia sinensis*) encapsulados en matrices mixtas por el método de gelación iónica, con el propósito de determinar su liberación y estabilidad durante el proceso digestivo simulado.

Se caracterizó fisicoquímicamente el extracto de matcha en términos de pH, sólidos solubles totales (SST), contenido de fenoles totales (CFT) y azúcares reductores totales. Posteriormente, se encapsuló el extracto con matrices mixtas (alginato de sodio-grenetina por medio de la técnica de gelación iónica, evaluando las características físicas de los encapsulados (forma y tamaño de partícula).

La de digestibilidad *in vitro* se evaluó el porcentaje de hidrólisis en las distintas fases del proceso digestivo, considerando tiempos de gelificación de 15 y 30 minutos en CaCl_2 , con un recubrimiento de alginato de sodio y otros encapsulados sin capa adicional, los resultados mostraron que los encapsulados sin recubrimiento con 15 y 30 minutos, presentaron el mayor porcentaje de hidrólisis durante la fase intestinal con un pH 7 (35% y 44.9%, respectivamente).

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que el tiempo de gelificación desempeña un papel determinante en la eficacia del sistema encapsulante, ya que influye tanto en la eficiencia de encapsulación como en el comportamiento fisicoquímico de los encapsulados durante la fase gástrica e intestinal.

ABSTRACT

From a technological perspective, this research provides solid evidence on the advantages of ionic gelling as an encapsulation method for the development of functional ingredients. In particular, it focused on the polyphenols of matcha bioactive compounds known for their antioxidant, anti-inflammatory and potentially anti-cancer properties. The objective of this research was to evaluate the *in vitro* digestibility of phenolic compounds present in matcha (*Camellia sinensis*) encapsulated in mixed matrices by the ionic gelation method, with the purpose of determining their release and stability during the simulated digestive process.

Matcha extract was physicochemically characterized in terms of pH, total soluble solids (SST), total phenol content (CFT) and total reducing sugars. Subsequently, the extract was encapsulated with mixed matrices (sodium-grenetin alginate by means of the ionic gelation technique, evaluating the physical characteristics of the encapsulates (particle shape and size).

In vitro digestibility, the percentage of hydrolysis was evaluated in the different phases of the digestive process, considering gelification times of 15 and 30 minutes in CaCl₂, with a sodium alginate coating and other encapsulates without additional layer, the results showed that the uncoated encapsulates with 15 and 30 minutes, presented the highest percentage of hydrolysis during the intestinal phase with a pH 7 (35% and 44.9%, respectively).

The results obtained in this study confirm that the gelification time plays a determining role in the effectiveness of the encapsulating system, since it influences both the encapsulation efficiency and the physical-chemical behavior of the encapsulates during the gastric and intestinal stages.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el interés por los compuestos bioactivos presentes en alimentos de origen vegetal ha incrementado significativamente, debido a su potencial en la prevención de enfermedades crónicas. Entre estos compuestos, los polifenoles han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas. El matcha (*Camellia sinensis*), se ha consolidado como una fuente rica en polifenoles, destacando por su elevada concentración de catequinas y otros metabolitos secundarios con actividad biológica relevante.

Sin embargo, la biodisponibilidad de estos compuestos fenólicos se puede ver limitada por factores como la degradación durante el procesamiento, almacenamiento y especialmente, durante el trayecto gastrointestinal. Ante este desafío, el desarrollo de sistemas de encapsulación que protejan y permitan una liberación controlada de dichos compuestos se ha convertido en una estrategia prometedora dentro del campo de los ingredientes funcionales.

La gelación iónica ha emergido como una técnica efectiva y de bajo costo, que permite la formación de encapsulados utilizando polímeros como el alginato de sodio, frecuentemente combinado con biopolímeros como la gretina, para mejorar la estabilidad estructural y funcional del sistema encapsulante.

La presente investigación tiene como objetivo evaluar la digestibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos presentes en matcha (*Camellia sinensis*) encapsulados en matrices mixtas por el método de gelación iónica, con el propósito de determinar su liberación y estabilidad durante el proceso digestivo simulado. Con este fin, se realizó la extracción acuosa de matcha bajo condiciones controladas y posteriormente su caracterización fisicoquímica, considerando parámetros como el pH, sólidos solubles totales, contenido de fenoles totales y azúcares reductores. El extracto fue encapsulado mediante gelación iónica empleando matrices de alginato y gretina, evaluando características morfológicas como la forma y el tamaño de partícula. Finalmente, se simuló la digestión gastrointestinal *in vitro* para determinar

el comportamiento de liberación de los compuestos fenólicos durante la fase gástrica e intestinal.

Esta investigación busca aportar conocimiento sobre la eficacia de sistemas encapsulantes basados en gelación iónica para proteger compuestos bioactivos durante el tránsito gastrointestinal, contribuyendo así al desarrollo de ingredientes funcionales con mayor biodisponibilidad y potencial impacto en la salud humana.

ANTECEDENTES

En las últimas décadas, el interés por los compuestos bioactivos presentes en alimentos vegetales ha aumentado debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y cardioprotectoras (Bora et al., 2018). Entre estos compuestos los fenoles y polifenoles han sido objeto de numerosos estudios, debido a sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios, y potencialmente anticancerígenos.

El té verde (*Camellia sinensis*), especialmente el matcha, es reconocido por su elevado contenido de catequinas, como la epigalocatequina galato (EGCG), las cuales constituyen aproximadamente el 30 % del peso seco de las hojas y son fundamentales para muchos efectos funcionales (Cutrim et al., 2019). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la biodisponibilidad de los polifenoles del té verde es limitada, debido a su inestabilidad en condiciones gastrointestinales (pH ácido, presencia de enzimas digestivas, en otros) y a su transformación metabólica en el intestino. La biodisponibilidad de los polifenoles es limitada, ya que estos compuestos sufren degradación en condiciones gastrointestinales adversas (Liang et al., 2017).

Con el objetivo de mejorar la protección y liberación controlada de compuestos durante la digestión, se han explorado distintas técnicas de encapsulación, se ha explorado la encapsulación, especialmente mediante gelación iónica, como método suave y biocompatible para proteger compuestos sensibles. La técnica se basa en la interacción entre alginato de sodio y Ca^{2+} , formando microcápsulas adecuadas para sustancias hidrosolubles como los polifenoles (Munin & Edwards-Lévy, 2011; Li et al., 2021). En un estudio comparativo con spray chilling, la gelación iónica logró eficiencias de encapsulación cercanas al 72 % para extractos de té verde, preservando su actividad antioxidante (Cutrim et al., 2019).

La incorporación de matrices mixtas y recubrimientos adicionales mejora la eficiencia y el perfil de liberación. Por ejemplo, mezclas de alginato con proteínas o polisacáridos como chitosán o grenetina han incrementado la eficiencia de encapsulación hasta un 56 % y han retardado significativamente la liberación de

compuestos fenólicos en condiciones simuladas (Li et al., 2021; Martinović et al., 2023).

Los modelos de digestión *in vitro* se han consolidado como herramientas precisas para evaluar la liberación y estabilidad de microencapsulados. Un estudio con extracto de uva demostró que la combinación alginato–grentina en sistemas liofilizados alcanzó eficiencias de encapsulación superiores al 97 % y una bioaccesibilidad intestinal de hasta 100 % para catequinas (Martinović et al., 2023).

A pesar de estos avances, la investigación sobre encapsulación de extracto de matcha mediante gelación iónica con matrices mixtas es aún incipiente, especialmente en relación con su comportamiento durante la digestión *in vitro*. Este proyecto busca llenar ese vacío, evaluando sistemáticamente la estabilidad y liberación de polifenoles encapsulados en sistemas de alginato–grentina, bajo diferentes tiempos de gelificación y condiciones de recubrimiento.

JUSTIFICACIÓN

El creciente interés por los alimentos funcionales y nutraceúticos ha impulsado la investigación en compuestos bioactivos derivados de fuentes naturales, como los polifenoles, debido a su potencial terapéutico y preventivo frente a enfermedades crónicas no transmisibles. En los últimos años el matcha (*Camellia sinensis*) se ha popularizado a comparación de otros productos, por su alta concentración de polifenoles, particularmente catequinas, que han demostrado poseer propiedades antioxidantes y anticancerígenas. Uno de los principales retos asociados al aprovechamiento de estos compuestos es su baja estabilidad y limitada biodisponibilidad durante el proceso digestivo, lo que reduce su efectividad una vez ingeridos.

Ante esta problemática, la encapsulación mediante gelación iónica se presenta como una estrategia tecnológica eficaz para proteger compuestos fenólicos sensibles frente a condiciones adversas del tracto gastrointestinal, mejorando su estabilidad y permitiendo una liberación controlada. El uso de matrices mixtas, como la combinación de alginato de sodio y grenetina, ofrece ventajas adicionales al fortalecer la integridad estructural de las microcápsulas y modificar su comportamiento durante la digestión.

La presente investigación se justifica en la necesidad de diseñar y evaluar sistemas de encapsulación que incrementen la funcionalidad real de los compuestos bioactivos presentes en el matcha, optimizando su liberación en las fases del proceso digestivo donde puedan ejercer su efecto biológico. Los resultados de este estudio aportarán información valiosa sobre la eficiencia de encapsulación, estabilidad fisicoquímica y liberación de compuestos fenólicos encapsulados, lo cual puede ser de gran utilidad en el desarrollo de productos alimenticios funcionales.

Esta investigación contribuye al avance científico en el área de alimentos funcionales y tecnología de encapsulación, y puede representar una base para futuras aplicaciones industriales orientadas a mejorar la biodisponibilidad de compuestos naturales con efectos benéficos para la salud humana.

HIPÓTESIS

La encapsulación de matcha (*Camellia sinensis*) en matrices mixtas de alginato de sodio-grenetina, utilizando un tiempo controlado de gelificación y un recubrimiento único de alginato de sodio permitirá una protección eficiente de compuestos fenólicos y una liberación controlada de los mismos, durante un modelo de digestibilidad *in vitro*.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la digestibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos presentes en matcha (*Camellia sinensis*) encapsulados en matrices mixtas por el método de gelación iónica, con el propósito de determinar su liberación y estabilidad durante el proceso digestivo simulado

Objetivos específicos

- Realizar la extracción acuosa de los compuestos fenólicos de matcha (*Camellia sinensis*), bajo condiciones controladas, para la posterior evaluación de parámetros fisicoquímicos.
- Caracterizar el extracto acuoso de matcha (*Camellia sinensis*) para determinar su composición de compuestos fenólicos totales.
- Determinar el pH del extracto acuoso de matcha (*Camellia sinensis*) como parámetro indicativo de su acidez natural.
- Cuantificar los sólidos solubles totales (°Brix) presentes en el extracto mediante refractometría, como estimación del contenido de compuestos solubles.
- Evaluar el contenido de compuestos fenólicos totales del extracto mediante el método Folin-Ciocalteu, expresado en equivalentes de ácido gálico.
- Determinar la concentración de azúcares reductores presentes en el extracto mediante el método de Fehling.
- Encapsular el extracto de matcha (*Camellia sinensis*) mediante la técnica de gelación iónica, utilizando matrices mixtas constituidas por alginato de sodio y grenetina como agente encapsulante y cloruro de calcio como agente gelificante.
- Caracterizar los encapsulados obtenidos, evaluando su forma y tamaño de partícula, mediante análisis visual y/o microscópico.

- Evaluar la liberación de compuestos fenólicos del extracto acuoso de matcha (*Camellia sinensis*) durante la fase gástrica y la fase intestinal con el fin de determinar la biodisponibilidad del compuesto encapsulado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Matcha (*Camellia sinensis*)

La *Camellia sinensis* es una especie perenne, polinizada y suele alcanzar un tamaño natural de 15 metros de altura. Sin embargo, bajo condiciones de cultivo, se produce la altura del arbusto entre 60 y 100 cm para recolectar las hojas tiernas. Las flores son de tonalidad blanca y surgen en grupos o individualmente en las axilas. Las frutas son verdes con 2-3 semillas y empiezan a producirse entre 5 y 6 años tras la siembra (Mondal, 2004). Está compuesto por compuestos polifenólicos con una elevada actividad antioxidante. No obstante, estos tienen una estabilidad reducida, por lo que la encapsulación se presenta como una opción para su resguardo.

1.1.1 Origen

El matcha es una variedad de té verde molido que se deriva de la variedad conocida como Tencha. Hace siglos, se preparaba y se consumía en las ceremonias de los budistas Zen en China, y posteriormente se trasladó a Japón. Actualmente, en China, el matcha se consume escasamente, pero en Japón es muy común. La producción de matcha se distingue de la del té verde convencional, ya que se elabora a partir de la materia prima del té verde de brotes y hojas recién formadas de *C. sinensis* que han experimentado un sombreado parcial algunas semanas antes de su recolección.

1.1.2 Familia

Camellia sinensis pertenece a la familia *Theaceae*, (orden Theales) la cual se distribuye principalmente en regiones tropicales o subtropicales de ambos hemisferios.

1.1.3 Género

El género *Camellia* es el más primitivo y variado de la familia, con una antigua procedencia ya que se hallan fósiles del periodo Cretácico de la Era Secundaria (Viéitez, 1995). En la familia *Camellia*, la especie más conocida y de mayor valor es la *Camellia sinensis*. Esto ocurre porque se producen los diferentes tipos de té elaborado con las hojas de dos de sus especies, *C. sinensis var. sinensis* y *C. sinensis var. assamica*. China es el principal productor global de té, pero la mayor parte del té que se consume en occidente proviene de India y Sri Lanka (Parks, 2005).

1.1.4 Especie

Exhibe 7 géneros y 195 especies (Stevens, 2001). No hay especies autóctonas en Argentina.

Tabla 1. Especies de *Camellia*

Especies exóticas	Nombre vulgar
<i>Camellia sinensis</i> (Figura 1)	Té
<i>Camellia japónica</i> (Figura 2)	<i>camelia</i>
<i>Gordonia lasianthus</i> (Figura 3)	Loblolly bay (en inglés) y loblolly gordonia, especialmente en el sureste de Estados Unidos,



Figura 1. *Camellia sinensis*



Figura 2. *Camellia japonica*



Figura 3. *Gordonia lasianthus*

1.1.5 Compuestos bioactivos de *Camellia sinensis*

Los polifenoles son los compuestos bioactivos más comunes en el matcha, cuantificados en un intervalo de 169-273mg correspondientes a ácido gálico/g (Kockman et al., 2021). Dentro de los polifenoles se encuentran los flavanoles, flavandioles y ácidos fenólicos, no obstante, las catequinas son significativamente los compuestos fenólicos más comunes en el matcha y otros tipos de té verde.

Las catequinas pueden constituir entre el 5 y el 10% del peso seco del matcha, destacando en las variedades de té verde (5.46-7.44 mg/g) en comparación con el té negro (0-3.47mg/g) (Adnan et al., 2013). Las catequinas principales (Figura 4) que exhiben actividad biológica son (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina, (-)-galocatequina galato, (-)-epicatequina galato y (-)-epigalocatequina galato (EGCG) (Komes et al., 2010; Oz, 2017).

Estas sustancias muestran una alta actividad antioxidante debido a su capacidad para contrarrestar radicales libres e intensificar la actividad de enzimas como el glutatión, la catalasa y la peroxidasa (Kockman et al., 2020). Así pues, las catequinas han evolucionado demostrando beneficios significativos para la salud, incluyendo acciones antibacterianas, antimutagénicas, hipocolesterolémicas, antialérgicas, entre otras. Igualmente, se ha informado en varias investigaciones clínicas que el matcha puede potenciar el uso de ácidos grasos como fuente de energía durante la actividad física (Willems et al., 2021), lo que indica que las catequinas son las principales causantes de este fenómeno.

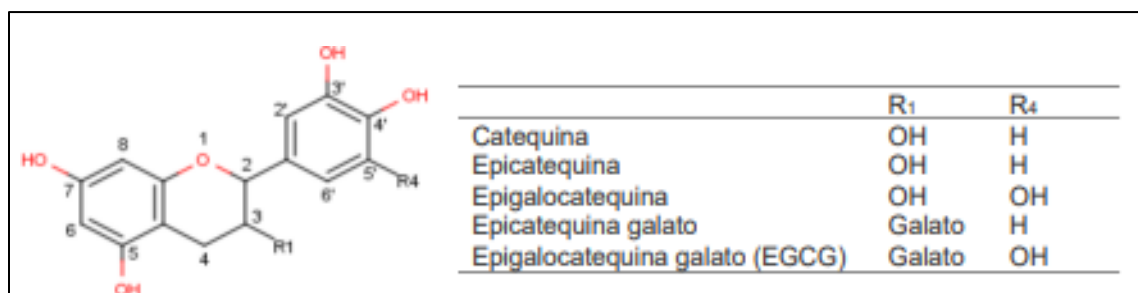


Figura 4. Estructura de las catequinas principales encontradas en el matcha (Phongnarosorn et al., 2018).

La clorofila es otro elemento bioactivo que tiene propiedades antioxidantes y actividad inflamatoria. Las hojas de Tencha contienen más volúmenes de glucosa, el té verde tradicional contiene más clorofila (5,65 mg/g y 4,33 mg/g, respectivamente), (Kockman et al., 2021).

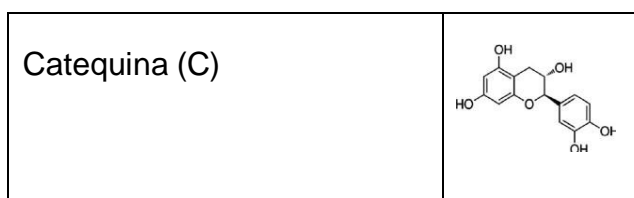
La teanina es el aminoácido más abundante en las hojas de té verde y en el matcha. Se trata de un equivalente del L-glutamato y de un aminoácido que carece de proteínas. El nivel de teanina en el matcha se incrementa debido al sombreado de la planta durante su proceso de cultivo, lo que permite una degradación más lenta de este aminoácido. Se ha evidenciado en modelos animales e investigaciones clínicas que reduce la ansiedad provocada por el estrés psicológico (Unno et al., 2018).

1.1.6 Estructura química de los polifenoles de matcha (*Camellia sinensis*)

Los polifenoles del té verde se clasifican como flavonoides, específicamente con catequinas. El té verde suele contener catequinas como la epicatequina, la galocatequina, la epigalocatequina y la epigalocatequina-galato (EGCg). Esta última se considera el componente más activo y es la composición más estudiada del té verde.

Las catequinas son polifenoles que el organismo humano metaboliza mediante varios metabolitos presentes en el plasma, y tras su ingestión, generan efectos biológicos ventajosos. El grupo catecol O-metilado presente en las catequinas puede influir positivamente en sus propiedades antioxidantes y depurativas. Se ha tratado de comprender los procesos involucrados en los efectos biológicos vinculados a la ingesta de flavonoides. (Belščak y su equipo, 2009).

Tabla 2. Estructura química de las catequinas primarias de *Camellia sinensis* (Belščak, et al., 2009).



Epicatequina (EC)	
Epigallocatequina (EGC)	
Epicatequina-3-galato (ECG)	
Catequina-3-galato (CG)	
Galocatequina-3-galato (GCG)	
Epigallocatequina-3-galato (EGCG)	

1.1.7 Propiedades biológicas de los polifenoles de matcha (*Camellia sinensis*)

- **Actividad anticarcinogénica;** Se está realizando estudios intensivos sobre el efecto anticarcinogénico del té verde en el hígado y otros órganos. La atención científica en este tema se enfoca, entre otros, en el cáncer de mama, próstata, esófago, estómago, páncreas y colon. Probablemente, el efecto protector se debe a una variedad de mecanismos de acción: inhibición de enzimas que activan carcinógenos, captura de estadios intermedios

reactivos de sustancias carcinógenas, inhibición de la creación de nitrosaminas altamente cancerígenas (de nitrato y nitrito), intervención en la transducción de señales, comunicación y proliferación celular, además de inducir la muerte celular (apoptosis) de células cancerígenas.

- **Actividad captadora de radicales libres y antioxidante:** Los polifenoles poseen características antioxidantes sumamente eficaces.
- **Actividad antiviral y antibacteriana:** Impulso de procesos de desintoxicación, especialmente la estimulación o inducción selectiva de enzimas metabólicas de primera y segunda fase que promueven la creación y eliminación de metabolitos liberados de carcinógenos. En múltiples investigaciones, el té verde parece brindar protección al hígado contra una amplia gama de toxinas. Las catequinas, que son potentes antioxidantes, neutralizan la peroxidación lipídica provocada por las hepatotoxinas. Además, las catequinas parecen tener un rol crucial en la preservación del balance redox en la célula. La glucuronidación, la reacción crucial de desintoxicación de la segunda fase en el hígado, parece ocurrir con mayor facilidad después de la administración de té verde.
- **Actuación hepatoprotectora:** Los polifenoles presentes en el té verde (específicamente la EGCG y la epicatequina) poseen características antibacterianas. Se considera que podrían perjudicar las membranas bacterianas. También se utiliza el té (principalmente el té negro) para tratar la diarrea e infecciones como la cólera y el tifus. Además, se ha observado en el té verde un efecto contra protozoos y virus (Parada & Aguilera, 2007).

1.1.8 Aportes benéficos a la salud

Se han registrado algunos beneficios para la salud, al consumir esta bebida con regularidad, entre ellos los efectos de disminución del colesterol, protección contra enfermedades cardiovasculares, cáncer (Jaziri et al., 2009), prevención de enfermedades neurodegenerativas, diabetes, afecciones del hígado, características antimutagénicas, además de actividad anti-obesidad, defensa contra osteoporosis,

mejora del flujo sanguíneo, supresión de toxinas y aumento de la resistencia a enfermedades (Najgebauer *et al.*, 2011).

1.2 Compuestos fenólicos

1.2.1 ¿Qué son los compuestos fenólicos?

Los compuestos fenólicos (CF) son metabolitos secundarios presentes en los alimentos que consumimos regularmente, como las frutas, cereales, semillas, leguminosas y más. Sin embargo, también se ha observado su existencia en ciertas especies de macroalgas y microalgas, además de ciertos hongos y setas (Heleno *et al.*, 2015).

Además de las fuentes previamente citadas, las plantas superiores constituyen una de las fuentes más relevantes e intrigantes de compuestos fenólicos, gracias a su fácil acceso y gran variedad.

Los fenólicos (CF) constituyen un grupo amplio, donde se han reconocido más de 8.000 compuestos con estructuras muy variadas (Cory *et al.*, 2018). Normalmente, este grupo de sustancias se originan de dos rutas de síntesis, la ruta del ácido shiquímico y/o del ácido malónico, y se caracterizan por poseer uno o varios anillos aromáticos en su composición, asociados a uno o varios grupos hidroxilo. Además, suelen aparecer de forma conjugada en la naturaleza, lo que les facilita estar vinculados a una o varias unidades funcionales como ésteres, metilésteres, glicósidos, etc.

1.2.2 Familias de los compuestos fenólicos

Según su esqueleto carbonado, los compuestos fenólicos pueden clasificarse en dos categorías principales: los flavonoideos y los no flavonoideos. La clasificación

de los no flavonoideos abarca aquellos compuestos que contienen un único grupo fenol, creando diferentes estructuras en función de los sustitutos carbonados ubicados en dicho núcleo (Figura 5A). Este conjunto también se segmenta en diversos subgrupos basándose en las cadenas de hidrocarburos laterales, resaltando principalmente dos clases: los compuestos hidroxibenzoicos y los compuestos hidroxicinámicos. Los hidroxibenzoicos, que son los derivados del ácido benzoico (Figura 5B), cuentan con una cadena lateral de un único carbono, tal como sucede con el ácido gálico, ácido vainílico y el ácido protocatéquico. Los hidroxicinámicos, originarios del ácido cinámico (Figura 5C), poseen una cadena lateral de tres átomos de carbono, tales como ácido cumárico y ácido cafeico.

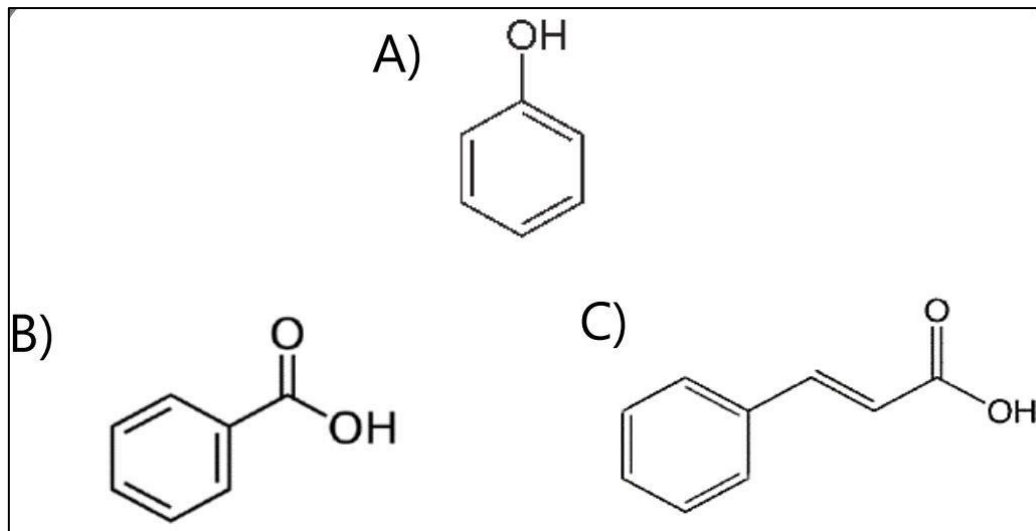


Figura 5. Estructura química del grupo fenol (A), ácido benzoico (B), ácido cinámico (C).

Asimismo, se pueden hallar estos compuestos en forma polimerizada, como los lignanos y los galotaninos (taninos hidrolizables). Asimismo, este conjunto de no flavonoideos comprende a los estilbenos, siendo el transresveratol uno de los más sobresalientes.

Los compuestos fenólicos o flavonoides poseen una estructura química parecida (C6-C3-C6), formada por dos ciclos bencénicos (A y B) unidos por una cadena de

tres átomos de carbono. Normalmente, estos tres átomos de carbono producen un heterociclo de oxígeno (C), como se puede apreciar en la Figura 6. Según el grado de oxidación alcanzado por el anillo heterociclo, mediante la incorporación de grupos funcionales y su posición relativa, los flavonoides pueden clasificarse en 7 subgrupos: flavonas, flavonoles, flavanoles, flavanonas, isoflavonas y antocianos (Pan et al., 2010).

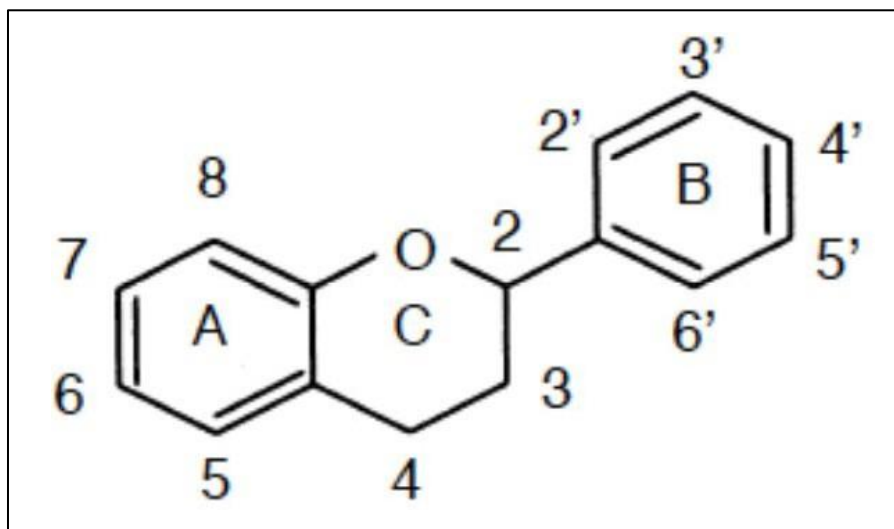


Figura 6. Estructura básica de los flavonoides

- **Catequinas**

Se ha asociado la ingesta del té verde (*Camellia sinensis*) con beneficios para la salud, que han sido principalmente atribuidos al potencial antioxidante de las catequinas. Las catequinas presentes en el té verde (CTV) han demostrado propiedades como antiinflamatorias, cardioprotectoras, termogénicas, hepatoprotectoras, cardioprotectoras, entre otras. Estas pueden interactuar directamente con las especies reactivas de oxígeno (ERO), además de desempeñar funciones de señalización y ejercer efectos indirectos debido a su habilidad para modificar niveles de factores de transcripción y enzimas. Las CTV también han demostrado beneficios en el ámbito de la profilaxis y la terapia del cáncer, gracias a la respuesta citoprotectora antioxidante y su efecto proapoptótico. Las catequinas predominantes en el té verde son la epicatequina galato (ECG), epilocatequina

(EGC), epicatequina (EC) y epigallocatequina galato (EGCG). Por otro lado, la (+)-catequina, la catequina galato, la galatocatequina y la galocatequina galato se encuentran en concentraciones más bajas (Figura 7).

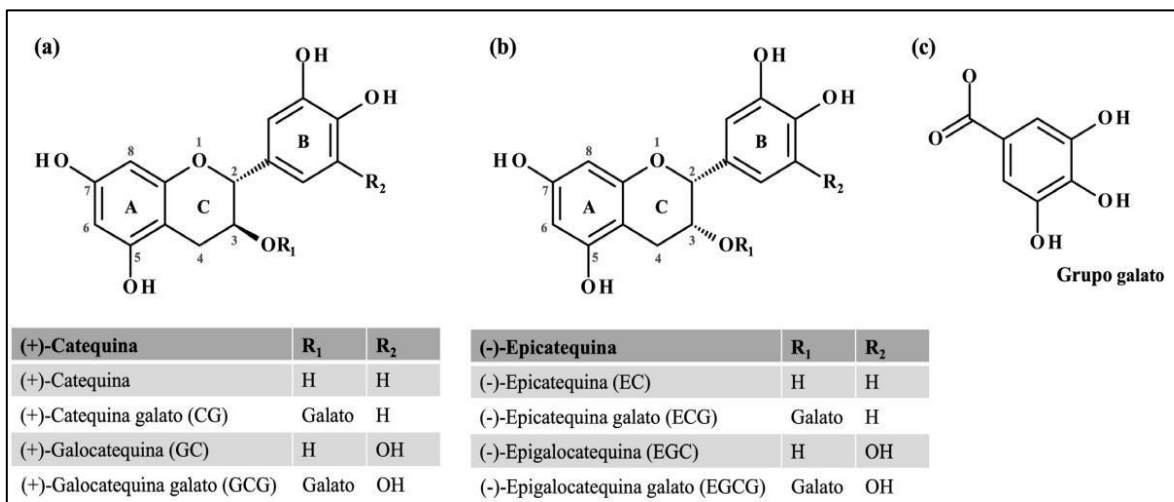


Figura 7. Estructura química de las catequinas del té verde (CTV) en su configuración trans conocidas como catequinas (García-Rodríguez, 2022).

- Antocianinas

Las antocianinas (como antocianina se utiliza frecuentemente para las antocianidinas [aglicona o genina] y sus glucósidos (antocianinas) son compuestos polifenólicos naturales que otorgan color a una diversidad de frutas y flores, e incluso a las verduras (Figura 8). Se han identificado 12 antocianidinas, destacando entre las más destacadas la cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina (Ortíz et al., 2011). Las antocianidinas previamente mencionadas son el esqueleto aglicona de los pigmentos vegetales y son las encargadas de proporcionar las diversas tonalidades de pigmentación que oscilan entre el rojo, el azul y el violeta en flores, frutas y vegetales. Cuando se glicosilan (unión con azúcares como glucosa, ramnosa, galactosa, etc) pasan a llamarse antocianinas, por lo cual, las antocianinas son antocianidinas sin azúcar, es decir alicona de la antocianidina,

La investigación ha señalado que las antocianinas tienen la capacidad funcional de evitar patologías cancerígenas. Esto sucede debido a que tienen el poder de restringir la transformación celular mediante la limitación de proteínas quinasas activadas por mitógenos y la interrupción de la expresión de proteínas activadas. Sin embargo, es importante recordar que pueden reducir la inflamación al bloquear los factores que causan la metástasis e inducir la apoptosis en células malignas (Akagi et al., 2009). Las antocianinas, también conocidas como antocianidinas glicosiladas, son compuestos polifenólicos ya que son metabolitos secundarios de las plantas que cuentan con al menos un anillo aromático vinculado a uno o varios grupos hidroxilo. Diversos compuestos polifenólicos poseen propiedades antimicrobianas, al igual que algunas antocianinas.

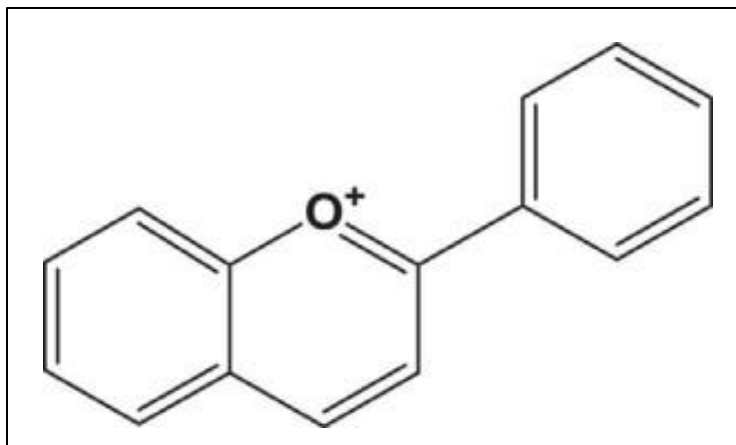


Figura 8. Antocianina: Estructura del ion flavilio (Akagi et al., 2009).

- **Flavonoides**

También se encuentran entre los flavonoides auronas, chalconas y dihidrochalconas. Estas sustancias mantienen la estructura C6-C3-C6, aunque se diferencian de los compuestos previos en que normalmente no tienen el heterociclo de oxígeno, lo que significa que el anillo C se presenta de forma abierta.

Los flavonoides se encuentran extensamente presentes en las plantas superiores, destacando las familias rutáceas, poligonáceas, compuestas y umbelíferas como las más destacadas. Abundan principalmente en los segmentos aéreos más

jóvenes y más luminosos, como hojas, frutos y flores, dado que la luz solar promueve su formación.

Estos componentes son vitales para la planta, al igual que ocurre con la mayoría de metabolitos secundarios. Estos elementos, además de ayudar a colorar numerosas flores, frutos y hojas, colaboran en la polinización atrayendo a los insectos, tienen un efecto antirradicalar, entre otros.

Las sustancias flavonoides son sólidos cristalizados de tonalidad amarilla o blanca. Sus heterósidos poseen la habilidad de disolverse en agua caliente, alcohol y compuestos orgánicos polares, aunque no son capaces de disolverse en compuestos orgánicos apolares. No obstante, cuando se encuentran en estado libre, su solubilidad en agua es limitada, no obstante, pueden ser solubles en disolventes orgánicos con mayor o menor cantidad de oxígeno, en función de su polaridad.

Los flavonoides se clasifican en función de sus propiedades estructurales. Dentro del marco de los flavonoides en general, los más destacados por su importancia terapéutica son los flavonoles, las flavonas, las flavanonas y sus respectivos heterósidos. Además, ciertos isoflavonoides son relevantes debido a su efecto estrogénico y al de los compuestos vinculados directamente con los flavonoides (compuestos que mantienen el sistema C6-C3-C6 pero no poseen carbonilo en la posición 4). Las antocianidinas, las catequinas y las leucoantocianidinas son algunas de las más sobresalientes.

1.3 ¿Qué es la bioaccesibilidad?

El concepto de "bioaccesibilidad" es crucial para determinar la efectividad nutricional del alimento en su estado natural, además de los alimentos preparados para potenciar la salud de las personas. Por lo tanto, se ha definido como el porcentaje de una sustancia que se convierte en adecuada para ser asimilada, al ser liberada en el sistema digestivo a través de los mecanismos específicos pertinentes.

La bioaccesibilidad tiene una estrecha relación y puede fluctuar significativamente con la concentración total en la matriz alimentaria, relacionada con la capacidad de los nutrientes para ser solubilizados y después liberados al medio ambiente (Alminger et al., 2014). De acuerdo con varios autores, existe una correlación entre la bioaccesibilidad y la solubilidad. Así pues, la bioaccesibilidad hace referencia a la correlación entre la dosis de una sustancia que puede ser empleada y asimilada en el intestino (Parada & Aguilera, 2007).

Por lo general, la bioaccesibilidad engloba el conjunto completo de eventos que ocurren durante la transformación de los alimentos en sustancias más básicas, asimilables por el organismo, incluyendo la absorción en los enterocitos y el metabolismo presistémico (intestinal y hepático) (Fernández et al., 2009). Es vital considerar que siempre el contenido bioaccesible es igual o superior al contenido biodisponible.

Además, se ha definido la bioaccesibilidad como el volumen del micronutriente objetivo que se extrae de la matriz alimentaria a través de la digestión regular y se solubiliza en el sistema digestivo, de forma que sea "disponible" para ser asimilado por las células intestinales (Cardoso et al., 2015). Igualmente, los procedimientos de bioaccesibilidad/biodisponibilidad *in vitro* ofrecen un entendimiento detallado de las interacciones entre los nutrientes y sus elementos alimenticios, el impacto del pH y las enzimas, y las técnicas de elaboración y tratamiento de alimentos en la habilidad de asimilación de micronutrientes. Por consiguiente, es crucial tener conocimiento sobre la bioaccesibilidad para determinar la calidad de un nutriente (Thakur et al., 2020).

Además del concepto, se ha establecido que hay elementos que influyen en la bioaccesibilidad, como los componentes estructurales de la matriz alimenticia, tales como paredes celulares, gránulos de almidón y cuerpos proteicos en los granos de cereales. Otros elementos que podrían presentar alguna forma de incidencia incluyen: La estructura química de los minerales y otros nutrientes, dado que pueden situarse en la matriz en su condición química, así como se asimilan o actúan como un precursor que necesita activación o un paso anterior. Además, pueden

surgir interacciones entre la matriz y potenciadores o cofactores, que pueden tener diferentes funciones, manteniendo el nutriente soluble o protegiéndolo de la influencia de los inhibidores; la interacción con inhibidores o supresores puede disminuir la biodisponibilidad de los nutrientes: al hacerlo insoluble y complicar su absorción, o al rivalizar por el mismo camino de uso o al rivalizar por el mismo método de uso (Dima et al., 2020).

1.3.1 ¿Cómo se determina la bioaccesibilidad?

Para establecer la bioaccesibilidad, se disponen de varios modelos metodológicos *in vitro* que facilitan el reconocimiento de la cantidad de micronutrientes que podrían ser absorbidos y, en consecuencia, usados con mayor precisión en algunos casos. En las últimas dos o tres décadas, se han creado diversos procedimientos *in vitro* para replicar las condiciones fisiológicas (temperatura, agitación, pH, enzima y composición química) y los sucesos que suceden en el sistema digestivo humano durante el proceso digestivo. Estos procedimientos conocidos como bioquímicos o estáticos son los más sencillos y por ende más sencillos de reproducir, que comprenden dos o tres etapas de análisis (fase oral, gástrica e intestinal) cuyos productos permanecen inmóviles en un solo biorreactor. (Alegría et al., 2015).

1.4 Digestibilidad *in vitro*

Los procedimientos *in vitro* que imitan procesos digestivos se emplean extensamente para analizar el comportamiento gastrointestinal de alimentos o productos de la industria farmacéutica. Aunque las investigaciones en nutrición en seres humanos continúan siendo el "estándar de referencia" para abordar temas relacionados con la nutrición, los procedimientos *in vitro* se distinguen por su rapidez, menor costo, menos trabajo y no poseen limitaciones éticas. Esto posibilita la medición de un número considerable de muestras en paralelo para propósitos de detección.

Los métodos de digestión simulada usualmente incluyen las fases: Oral, digestivo y, a veces, la fermentación del intestino grueso. Estos procedimientos buscan

replicar las condiciones fisiológicas existentes en el organismo, considerando la existencia de enzimas digestivas y sus niveles, el pH, la duración de la digestión y los niveles de sal, entre otros elementos.

La digestibilidad *in vitro* se fundamenta en los saberes contemporáneos de la fisiología humana sobre el funcionamiento del sistema digestivo, extendidos a las condiciones de laboratorio, con el objetivo de definir protocolos adecuados para llevar a cabo los ensayos. Sin embargo, no todos los eventos que ocurren durante el proceso digestivo pueden ser reproducibles mediante estas pruebas, y uno de los mayores desafíos de este método es que no considera las interrelaciones complejas entre el alimento y el organismo (González, 2016).

Usualmente, los procesos de digestión simulados comprenden las tres fases, tal como se indicó previamente. Se destaca que la mayoría de los modelos registrados en la literatura son estáticos, es decir, modelos que incluyen proporciones constantes de alimento enzimas, sales, ácidos biliares, etc. en cada etapa de la digestión (Minekus et al., 2014).

La comunidad científica ha desarrollado modelos que replican con exactitud el complejo fisicoquímico y las condiciones fisiológicas del sistema digestivo humano, así como modelos *in vivo* (Hur et al., 2011). A continuación, se muestran los métodos utilizados para establecer la cantidad bioaccesible del alimento (Figura 9).

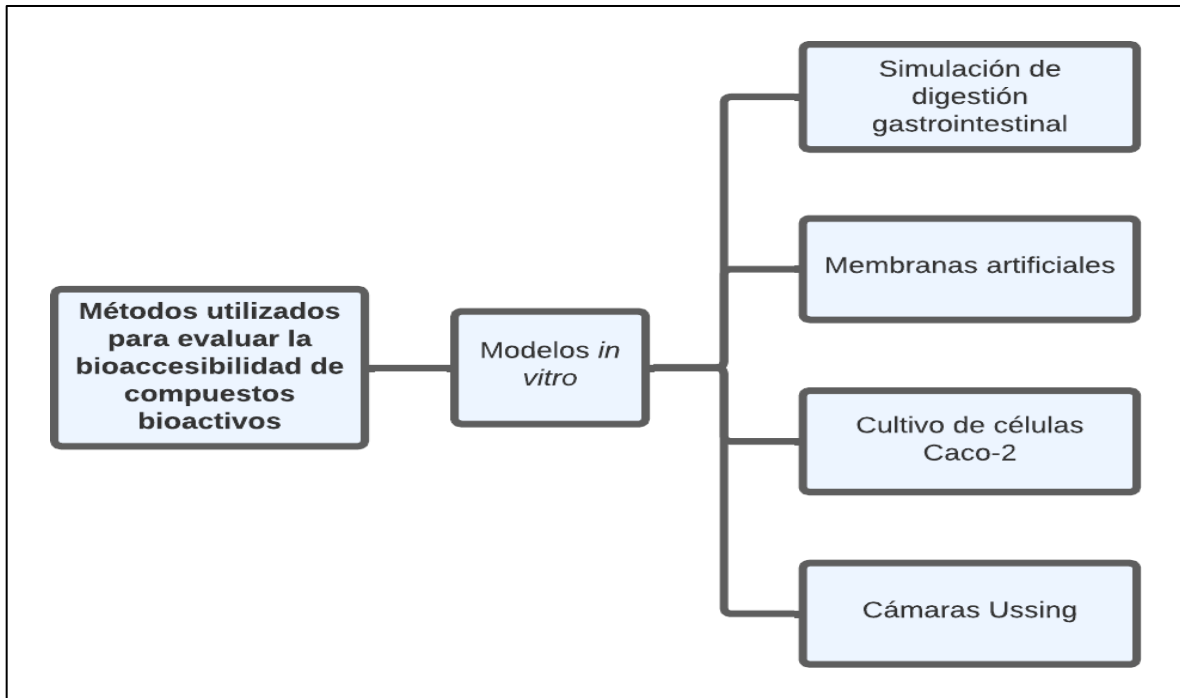


Figura 9. Métodos utilizados para evaluar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos (Carbonell-Capella et al., 2014).

De acuerdo con Hur *et al.*, (2011), los periodos de simulación difieren dependiendo del alimento estudiado, en el que las partículas de menor tamaño requerirán tiempos de digestión más cortos que las de mayor tamaño. Usualmente no toman en cuenta el intestino grueso, dado que la absorción tiene lugar en el intestino delgado, donde se identificará el compuesto relevante y, por ende, se determinará la bioaccesibilidad mediante el uso de enzimas y diversas condiciones de pH (Brandon et al., 2006).

El modelo *in vitro* emplea los siguientes parámetros: temperatura estable a 37°C, pH del estómago alrededor de 2, y pepsina porcina en un baño de agitación durante 2 horas. Adicionalmente, el pH se equilibra para añadir pancreatina porcina y sales biliares durante 2 horas (Gil-Izquierdo et al., 2001).

Otro modelo que simula el tracto gastrointestinal emplea un biorreactor para analizar el paso en el estómago e intestino de una matriz alimentaria, permite la variación

del pH y adaptarlo a los diferentes tiempos de retención. La simulación se realiza en un reactor con agitación, ajustando con soluciones acidas y gástricas (pepsina pancreatina y sales biliares (Sumeri *et al.*, 2008).

La iniciativa COST INFOGEST, conformada por 200 científicos de 32 naciones, ha conseguido establecer condiciones para conseguir un método estandarizado de digestión *in vitro* (Minekus *et al.*, 2014). Su objetivo principal es promover y potenciar la comprensión sobre la digestión de alimentos y la liberación de compuestos beneficiosos que podrían afectar la salud de las personas. (Dupont *et al.*, 2011). El método estandarizado es resumido en la figura 10:

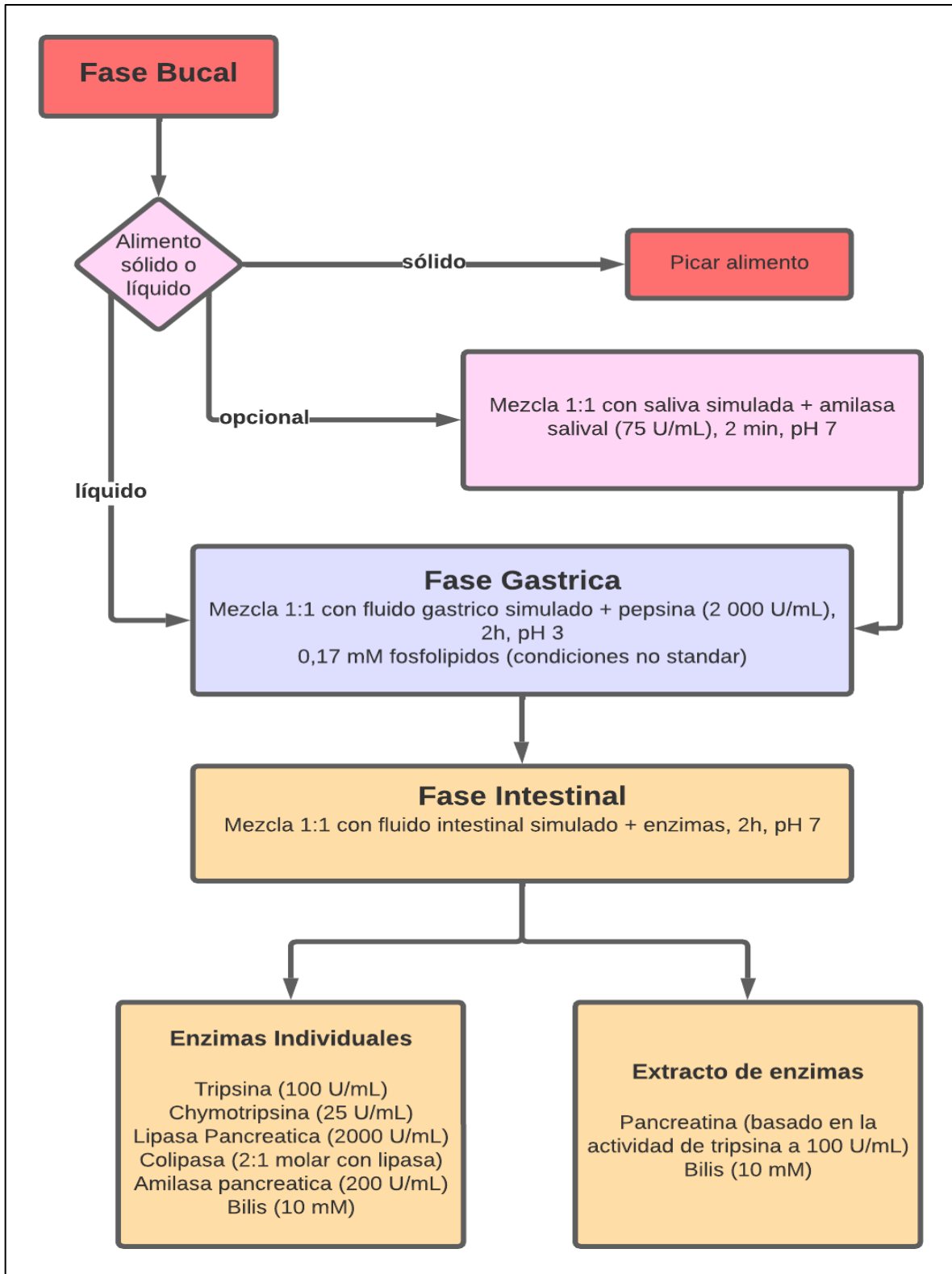


Figura 10. Protocolo estandarizado del método de digestión *in vitro* (Minekus et al., 2014).

1.4.1 El proceso digestivo

Para llevar a cabo los estudios de bioaccesibilidad, resulta esencial emular el proceso de digestión humana, mediante un modelo estático *in vivo*. Por lo tanto, se realiza una breve revisión del proceso citado, con la finalidad de considerar su secuencia dentro del cuerpo. La digestión comienza en el interior del tubo digestivo, y el proceso de tratamiento del alimento tiene lugar a través del tubo digestivo; este proceso conlleva la formación y desintegración del bolo, absorción de los componentes disponibles y la eliminación de los desechos no digeribles (Roa & Meruane, 2012).

El sistema digestivo del ser humano es idóneo para la digestión y asimilación de nutrientes en una variedad de alimentos: lácteos, carnes, frutas, leguminosas, vegetales, cereales, azúcares, almidones complejos, grasas y grasas. Los micronutrientes y macros indispensables para la vida se obtienen de los alimentos ingeridos, a través de los procesos de digestión y absorción mencionados (Mahan et al., 2013). A continuación, se muestra la configuración del sistema digestivo humano (Figura 11).



Figura 11. Esquema del aparato digestivo humano.

Las enzimas desempeñan un papel fundamental en la digestión, denominadas polímeros biológicos que catalizan las reacciones químicas esenciales para la vida. Las enzimas que participan en la digestión, dependiendo de la especificidad de cada una, son las encargadas de la hidrólisis del alimento. Mantener un conjunto constante, equilibrado e integral de enzimas es esencial para el metabolismo de los nutrientes, con la finalidad de proporcionar energía para la movilidad celular, la función neural y la contracción muscular, además de compuestos químicos para la generación de proteínas, DNA, membranas, células y tejidos. Las enzimas que producen la digestión se generan en células especializadas situadas en la boca, el estómago, el páncreas y el intestino grueso. Hay enzimas que se unen a sus sustratos cuando entran en la célula y se hallan en las membranas de lipoproteínas de las células mucosas. Los cofactores como el ácido clorhídrico, la bilis y el bicarbonato de sodio favorecen los procesos de digestión y absorción. A excepción de la fibra y ciertos carbohidratos, la digestión y absorción generalmente se llevan a cabo totalmente en el intestino delgado (Mahan et al., 2013).

1.4.2 Fase oral

El esófago es un tubo muscular de escasa longitud, insertado en el tejido conectivo fino en la parte posterior del mediastino. Es aproximadamente de 25 cm de longitud, segmentándose en tres áreas: el esfínter esofágico superior, el cuerpo y el esfínter esofágico inferior (EEI) o cardíaco. El esófago lleva líquidos y comida desde la zona bucal y la faringe hasta el estómago (Planas & Pérez, 2010).

La saliva contiene una amplia gama de electrolitos, entre los que sobresalen el sodio, el potasio, los fosfatos, el magnesio, el calcio y el bicarbonato. Además, contiene elementos nitrogenados como inmunoglobulinas, enzimas, proteínas, mucinas y elementos nitrogenados como la urea y el amonio. El bicarbonato, la urea y los fosfatos tienen la capacidad de modificar el pH y, en consecuencia, la capacidad de amortiguación de la saliva (Humphrey & Williamson, 2001).

- **Enzimas de la fase oral**

Al comienzo del proceso digestivo, la alfa-amilasa se convierte en la enzima esencial de la saliva: su función consiste en la desintegración oral del almidón que se encuentra en la comida. Coordina la descomposición de los enlaces polimerizantes alfa (1-4), desempeñando una función crucial en la nutrición (Tiana et al., 2012). Para que la α -amilasa salival (ptialina) opere de manera adecuada, se necesita aproximadamente un pH de 6.8. Su operación se limita a la cavidad bucal, donde el pH puede ser alto a causa de la capacidad de amortiguación de los alimentos. Esta enzima reduce su actividad durante la fase gástrica inicial debido al ambiente ácido y la actividad proteolítica en el estómago. Por lo mencionado anteriormente, se considera de menor relevancia en comparación con la α -amilasa pancreática. Las enzimas de la fase oral están relacionadas a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Enzimas en la fase oral en la digestión (Mahan et al., 2013).

Secreción y origen	Enzimas	Sustrato	Acción y productos resultantes
Saliva de las glándulas salivales de la boca	Ptialina (amilasa salival)	Almidón	Hidrólisis para formar dextrinas y oligosacáridos ramificados

1.4.3 Fase gástrica

Respecto a la función del estómago, su principal propósito es proporcionar su contenido de forma regulada al duodeno para realizar la digestión del intestino. En el antro (sección inferior del estómago), la comida se amalgama y se convierte en ácido clorhídrico y enzimas liberadas, que son trituradas por los movimientos antrales y finalmente descartadas en el duodeno (Alegría et al., 2015). Los tejidos primarios generan zimógeno y pepsina, en cambio, los tejidos enteroendocrinos

generan serotonina, gastrina, grelina, somatostatina, endotelina, histamina y enteroglucagón, entre otros productos.

Las células mucosas producen bicarbonato y crean una capa de resguardo en la superficie de la célula (Gelberg, 2014) Mediante las contracciones de la región antral, los alimentos se derraman y se fusionan, generando una formación homogénea de moco y jugo gástrico, lo que se traduce en una sustancia semilíquida llamada quimo. Esta sustancia se expulsa del estómago de manera gradual y gradual, a medida que el píloro se relaja (Planas & Pérez, 2000).

- ***Enzimas de la fase gástrica***

La pepsina es la enzima inicial que tiene un impacto en las proteínas, particularmente en el área central de las cadenas peptídicas, en las conexiones hidrófobas de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina, la tirosina y el triptófano, encontradas en la mayor parte de las proteínas nutritivas. Es la única enzima encargada de generar proteínas en el estómago, y el pepsinógeno es su precursor inactivo que es transformado en pepsina activa por el ácido clorhídrico (Roth, 2007) La concentración de pepsina en el estómago puede fluctuar entre personas, pero su mayor aumento ocurre durante la digestión, evolucionando de 0,26 (30 min) a 0,58 mg/mL (180 min) (Kalantzi et al., 2006).

En cuanto a las grasas, la mayor parte de los ácidos grasos derivados de la dieta se consumen en forma de triglicéridos, y su aplicación se basa en la hidrólisis de los enlaces éster y glicerol. La lipasa gástrica tiene la tarea de catalizar la hidrólisis de los triglicéridos, generando gliceroles, diglicéridos o gliceroles. Al hidrolizar las conexiones entre los esteres triglicéridos, se fomenta la solubilidad de los desechos en un ambiente acuático. La lipasa gástrica posee una elevada especificidad para los triglicéridos presentes en los ácidos grasos de cadena media y corta. A continuación, se relacionan las enzimas de la fase gástrica (Tabla 4).

Tabla 4. Enzimas de la fase gástrica en la digestión (Mahan et al., 2013).

Secreción y origen	Enzimas	Sustrato	Acción y productos resultantes
Jugo gástrico de las glándulas gástricas de la mucosa del estómago	Pepsina	Proteínas (en presencia de ácido clorhídrico)	Hidrólisis de los enlaces peptídicos para formar polipéptidos
	Lipasa gástrica	Grasa, especialmente de cadena corta	Hidrólisis para formar gliceroles

1.4.4 Fase intestinal

La mayor parte de los macronutrientes, oligoelementos, vitaminas, minerales y fluidos son asimilados en toda la superficie del intestino delgado previo a su llegada al colon. El recto y el colon absorben la mayor parte del líquido sobrante del intestino delgado, junto con electrolitos y una mínima cantidad de otros nutrientes. Si se integran las secreciones de saliva, hígado, páncreas, intestino delgado y vesícula biliar, se podrían obtener entre 7 y 9 litros de líquido diariamente, lo que equivale a tres o cuatro veces más líquido del que normalmente se consume por boca. Toda esta cantidad se reabsorbe a excepción de entre 100 y 150 ml del líquido total que ingresa a la luz intestinal delgado (Mahan et al., 2013). Algunos de los nutrientes que el tubo digestivo asimila llegan al hígado mediante la vía porta, donde atraviesan varios caminos, como transformarse en otras moléculas, ser guardados o liberados al flujo sanguíneo.

La fluidez de los (CF) en las células intestinales ocurre mediante dos vías esenciales: la vía paracelular, cuando los compuestos poseen la capacidad de penetrar los espacios acuosos intercelulares (ruta mínima), y la vía paracelular,

cuando los compuestos poseen la capacidad de penetrar los espacios acuosos entre células (ruta mínima) y la vía transcelular, por medio de la membrana celular (ruta mayoritaria). Los mecanismos de mayor relevancia en la absorción se categorizan en función del uso de energía durante su traslado. Por lo tanto, podemos diferenciar una difusión pasiva en beneficio del gradiente de concentración, o mediada por determinados transportadores, usualmente proteínas presentes en la membrana celular. Por otro lado, el sistema de transporte activo se realiza contra el gradiente de concentración y, por lo tanto, requiere un consumo de energía. En esta modalidad de transporte activo, según la dirección de la transmisión, podemos distinguir entre el transporte activo de absorción o influx, y el transporte activo de secreción o efflux. ambos también ilustrados en la Figura 12.

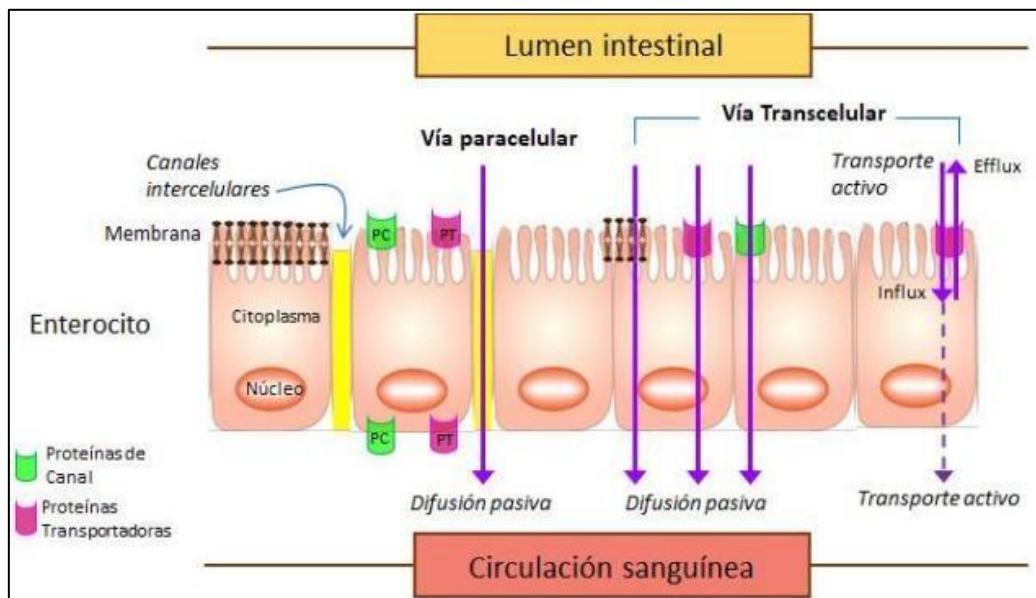


Figura 12. Transporte paracelular y transcelular en las células del tejido intestinal.

- **Enzimas de la fase intestinal**

La verdadera conversión de los alimentos en elementos esenciales adecuados para su asimilación sucede en el intestino delgado. Para lograrlo, es esencial la bilis, que comprende la amilasa, lipasa y tripsina, así como el

jugo intestinal producido por sus células (Boticario & Angosto, 2012). El páncreas genera enzimas encargadas de la digestión de los nutrientes esenciales, mientras que las enzimas del intestino delgado colaboran para finalizar este proceso. Las enzimas presentes en el borde del intestino delgado disminuyen aún más los carbohidratos a monosacáridos, mientras que los péptidos se transforman en aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos (Keller & Layer, 2005). La lipasa pancreática se libera al intestino delgado, donde necesita la activación de otra proteína pancreática, la colipasa. Estos participan en la descomposición de los lípidos, especialmente en los enlaces éster primarios, o sea, enlaces 1 y 3, generando ácidos grasos libres y monoacilglicerol, que son los productos finales de la descomposición de triacilglicerol a nivel de luz (Mahan et al., 2013). En cambio, las enzimas responsables de la digestión de proteínas incluyen: tripsina, quimotripsina, carboxipeptidasa, aminopeptidasa, ribonucleasa y desoxirribonucleasa. Las dos primeras se liberan en sus estados inactivos y son activadas por la enterocinasa o enteropeptidasa, cuando el quimo entra en contacto con la membrana mucosa del intestino. La tripsina es una endopeptidasa que hidroliza las uniones peptídicas del grupo carboxilo de lisina y arginina, produciendo polipéptidos que incluyen grupos argininos terminales y lisina (Roth, 2007). La amilasa pancreática hidroliza grandes cantidades de almidón, formando estructuras que oscilan entre dos y seis azúcares en su totalidad

1.5 Encapsulación de compuestos bioactivos

1.5.1 ¿Qué es la encapsulación?

La encapsulación abarca un proceso en el cual las perlas desarrolladas son rodeadas por un recubrimiento dentro de una matriz polimérica homogénea o heterogénea, obteniendo cápsulas con bioactivos útiles. La encapsulación provee una barrera física entre el compuesto que contiene dentro del núcleo y el medio

ambiente, para así mantener su actividad específica. En el sector alimentario, la encapsulación es un método que facilita el almacenamiento de bioactivos líquidos, sólidos o gaseosos en películas finas de un agente encapsulante de calidad alimentaria. Su contención en los núcleos está gobernada por su afinidad química, solubilidad, polaridad y volatilidad (Zain, 2016).

1.5.2 Ventajas de la encapsulación

Algunos de los objetivos de implementar un método de encapsulación en el sector alimenticio son (Champagne et al., 2007).

- Salvaguardar el compuesto activo frente la degradación generada por el entorno (luz, calor, aire, humedad, etc.)
- Emisión regulada del compuesto activo de la matriz de encapsulado bajo condiciones determinadas ((pH, temperatura, etc.).
- Alterar las propiedades físicas del material original y simplificar su manejo. Por ejemplo, disminuir la higroscopicidad, alterar su densidad, distribuir el material de manera homogénea en una muestra, transformar materiales líquidos en polvo, entre otros aspectos.
- Encubrir sabores incómodos
- Dividir componentes para evitar que reaccionen.

1.5.3 Desventajas de la encapsulación

Estas técnicas se utilizan extensamente en la industria para formar partículas de biopolímeros, aunque poseen ciertas restricciones, como costos altos de equipos, mantenimiento y operación, y problemas para generar partículas con propiedades estructurales claramente establecidas (Araque, 2022).

1.5.4 Diversos métodos de encapsulación

Algunos tipos de microcápsulas, aglomerados o cápsulas pueden ser obtenidos, dependiendo de los componentes y del método de producción (Figura 13).

Los reservorios o sistemas de núcleo a nivel exterior están formados por un interior formado por el material activo y un revestimiento denominado material de cubierta, pared, barrera o encapsulante, que puede estar formado por una o varias capas centrales. El sistema matriz inclusiva está formado por una mezcla homogénea del componente activo y el material que lo encapsula. Es posible encontrar una parte del compuesto activo en la superficie de la cápsula exhibida.

Diversos procedimientos posibilitan la creación de sistemas mixtos, añadiendo una capa adicional a los sistemas previamente mencionados para incrementar la defensa del agente activo o postergar su liberación. Los aglomerados proporcionan una extensa superficie para almacenar compuestos activos, simplificar su manejo y potenciar su capacidad para almacenamiento (López, 2012).

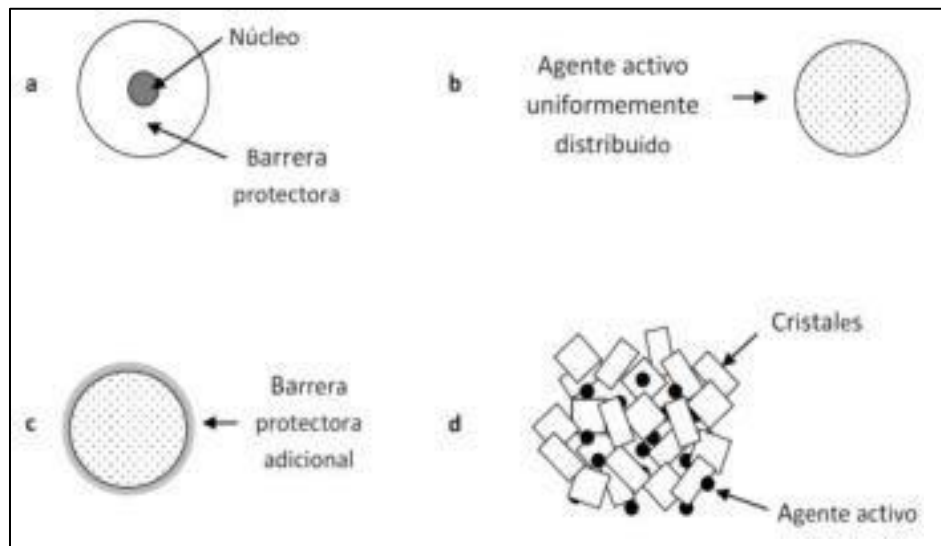


Figura 13. Diversos sistemas de encapsulación A) Reservorio, B) Matriz Inclusiva, C) Mixto y D) Aglomerados

Se han sugerido distintos procedimientos para la fabricación de microcápsulas. Por lo general, estos procedimientos pueden clasificarse en tres categorías (Díaz & Beristain., 2013):

- **Procesos físicos:** Secado por aspersion, extrusión, recubrimiento en lecho fluidizado y liofilización.

- **Procesos químicos:** Polimerización interfacial e inclusión molecular.
- **Procesos fisicoquímicos:** Coacervación simple o compleja, atrapamiento en liposomas, nucleación espontánea y separación de fase orgánica.

La elección del método de encapsulación correcto se basará en diversos factores, como: el tamaño de partícula necesario, las características fisicoquímicas del material encapsulante y el compuesto activo, el propósito del producto encapsulado, el sistema de liberación deseado y el costo (Parzanese, 2012).

- **Gelación iónica**

Proceso empleado para elaborar la cubierta de las microcápsulas, que se realiza a través de una reacción de gelificación iónica entre dos moléculas de carga contraria, usualmente un polisacárido (polianión) y un ión (catión). Las membranas que se forman poseen el atributo de ser insolubles, pero lo suficientemente permeables para liberar el contenido (Velasco, 2016).

En este procedimiento, la formación de la cubierta de las cápsulas ocurre mediante una reacción de gelificación iónica entre un polisacárido y un ion de carga opuesta. Este procedimiento, también conocido como método de goteo con alginato, ha sido ampliamente utilizado debido a su fácil reproducción en laboratorio. El procedimiento se realiza con rapidez y es posible encapsular cualquier tipo de alimento, sin importar si es hidrofóbico, hidrofílico, termosensible, líquido o sólido (Gouin, 2004).

Es un método desarrollado para la inmovilización celular, donde se utiliza principalmente el alginato como componente de la membrana y su mezcla con iones divalentes como el calcio, con el fin de causar la gelificación (Pedroza Islas, 2002). El alginato se compone de dos clases de monosacáridos: ácido manurónico y ácido gulurónico (Figura 14) (Junter et al., 2009).

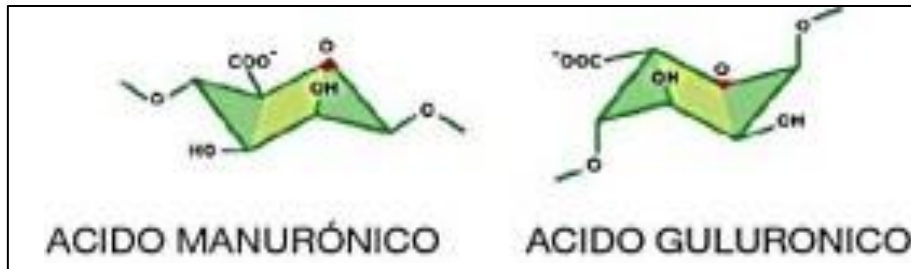


Figura 14. Estructura de monosacáridos que componen el alginato de sodio (Junter et al., 2009)

Para crear un gel, es necesario que los alginatos posean un nivel adecuado de ácido gulurónico (G) que pueda interactuar con el calcio. La reacción con el calcio y su capacidad para gelificar es una función que está directamente relacionada con el promedio de ácido gulurónico presente (Avendaño et al., 2013). En esta interacción se produce una interconexión iónica entre los iones de calcio y las unidades de ácido gulurónico del alginato, resultando en un gel denominado "modelo de caja de huevo" (Pedroza, 2002).

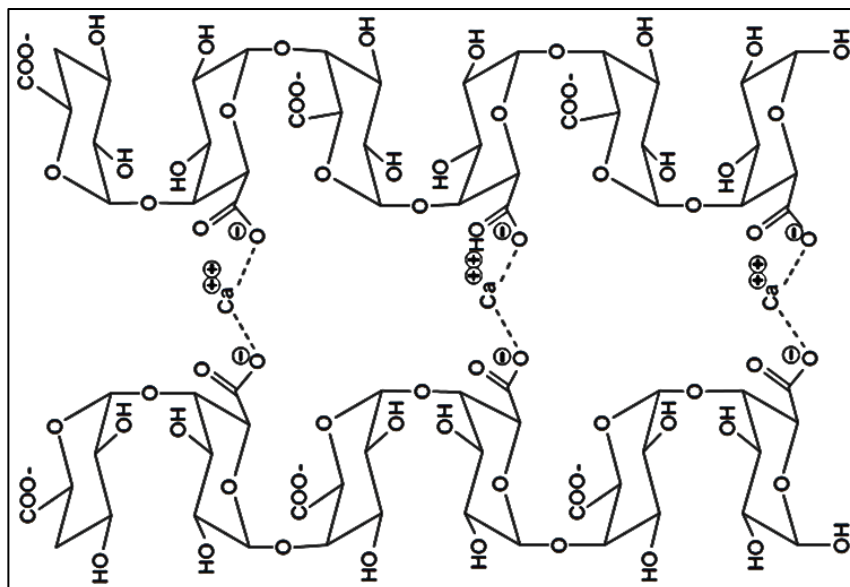
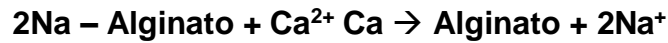


Figura 15. Modelo de Caja de huevo (Avendaño et al., 2009).

El método consiste en encapsular el compuesto a ser suspendido en una solución acuosa de alginato sódico, añadiendo la mezcla, mediante goteo, a una solución

acuosa de CaCl_2 que se agita a una velocidad adecuada. Cuando una gota de alginato sódico interactúa con Ca^{2+} , se produce de inmediato su gelificación, lo que da lugar a una membrana o cubierta de alginato cálcico que no se disuelve en agua, pero es permeable. La reacción que tiene lugar es:



Cuando el alginato entra en contacto con los iones de calcio, genera un gel de inmediato. Los iones continúan difundiendo en el alginato, consiguiendo que el gel se endurezca progresivamente. Es importante destacar que se puede alterar la dureza del gel generado alterando las condiciones de producción (temperatura, pH, concentración de iones, concentración de alginato, etc.) (Pedroza, 2002).

- **Gelación interna**

Se trata de la emisión regulada del ion calcio procedente de una fuente interna de sal de calcio insoluble o parcialmente soluble que se encuentra dispersa en la disolución de alginato de sodio. La liberación del ion calcio puede suceder de dos maneras, si se cuenta con una sal de calcio insoluble a pH neutro pero soluble a pH ácido. Por lo tanto, es imprescindible añadir un ácido orgánico que, al expandirse hasta la sal, propicie la acidificación del medio, logrando así la solubilización de los iones calcio. En esta situación, las sales de calcio que más se utilizan son el carbonato cálcico y el fosfato tricálcico, y en situaciones particulares el fosfato dicálcico y el citrato tricálcico (Pasín, 2012).

- **Gelación externa**

El proceso de gelificación externa sucede cuando el ion calcio se desplaza desde un origen que circunda al hidrocóide hacia una disolución de alginato de pH neutro. El proceso de formación del gel comienza en la interfase y progresa hacia el interior conforme los iones de calcio difunden y reaccionan con alginato en la superficie. Así, el ion sodio que proviene de la sal de alginato es reemplazado por el catión divalente solubilizado en agua. Este interactúa con los G-bloques de diversas moléculas poliméricas, vinculando estas entre ellas. A pesar de que el

CaCl_2 es la fuente más utilizada debido a su alto porcentaje de calcio disponible, hay otras sales que se utilizan con menos frecuencia como el acetato monohidratado y el lactato de calcio (Pasín, 2012).

- **Coacervación**

La encapsulación por coacervación exige la combinación del material a encapsular con el material de pared; la cobertura se aplica sobre el material activo. Normalmente, una alteración en el pH, temperatura o fuerza iónica ocasiona una etapa de separación o coacervación de la cobertura y captura del material activo disperso; al final, la cobertura se solidifica a través de medios térmicos o entrecruzamientos. La etapa de separación acuosa implica la utilización de materiales como la grenetina o combinaciones de grenetina y goma arábica. Se produce una coacervación sencilla cuando solo la grenetina es estimulada para generar microcápsulas. El proceso de coacervación compleja emplea grenetina y un polímero de carga contraria como la goma arábica (Hernández & Ortega, 2011).

Los coacervados, generalmente, se forman cuando dos biopolímeros con carga opuesta que interactúan entre sí a través de la atracción electrostática, pero otras interacciones también pueden ser importantes, como las interacciones hidrofóbicas y por enlace hidrógeno. Se puede hacer que los biopolímeros precipiten alrededor de un núcleo de ingrediente activo, para lograr su encapsulación (Araque, 2022).

Es un procedimiento fisicoquímico que se fundamenta en la distinción de fases, compuesto por tres fases:

- Creación de un sistema de tres fases químicamente inmiscibles (una fase líquida o continua, un material para revestir y un material para cubrir o de pared)
- Aplicación del líquido polimérico que constituirá la cubierta sobre el material a proteger.

- Fortalecimiento de la cubierta: Con este método, es posible lograr microcápsulas esféricas de gran tamaño, de hasta 4 μm de longitud y con una carga de material a encapsular cercana al 90%.

Además, proporcionan una buena protección contra las pérdidas por volatilización y contra la oxidación.

La encapsulación por coacervación es un método más costoso pero eficiente, Saravanan y Panduranga (2010) crearon encapsulados con pectina y grenetina mediante el método de coacervación con alginato. La grenetina posee la habilidad de generar hidrogeles sólidos en un amplio espectro de pH y puede interactuar con los polifenoles creando una matriz compleja. Es probable que los polifenoles funcionen como vínculos y la concentración de la solución de cloruro de calcio establezca la rigidez del gel de alginato, un procedimiento que se conoce como gelificación ionotrópica. La duración de la inmersión tiene un impacto directo en la rigidez y en la porosidad del alginato (Zhang, 2011).

Se puede clasificar en coacervación compleja y simple; la primera se fundamenta en la unión de dos polímeros contrarios que constituyen una capa o matriz polimérica sólida; en la coacervación simple, el polímero inicialmente soluble se precipita al modificar el pH o la temperatura (Dias et al., 2015). Este estudio abordó la coacervación compleja utilizada para la encapsulación de compuestos fenólicos (Figura 16).

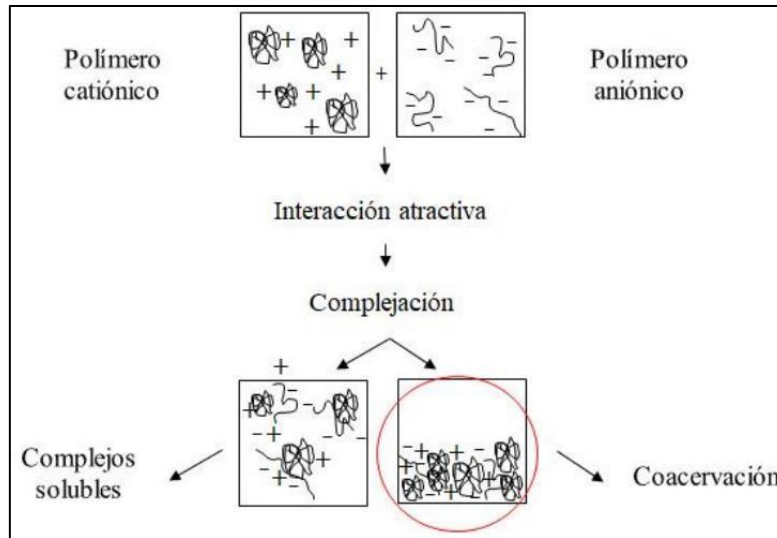


Figura 16. Representación del fenómeno de coacervación compleja.

- **Secado por aspersión**

La encapsulación a través del secado por aspersión ha sido un asunto de estudio durante décadas y ha evidenciado una innovación incesante, convirtiéndose en una de las tendencias más destacadas para las industrias de alimentos, cosméticos, farmacéutica, textil, entre otras. El procedimiento de secado por aspersión utilizado en la microencapsulación se fundamenta en:

- El suministro a la matriz o torre de secado, compuesta por el compuesto a encapsular y un material protector o encapsulante, que se homogeniza hasta generar una dispersión o emulsión, en función de la característica del compuesto y su vínculo químico con el encapsulante. Este suministro se efectúa de forma constante y a presión a través de un sistema de boquilla o disco rotatorio.
- Cuando la matriz es introducida en la torre de secado, se encuentra en contacto con una corriente de aire caliente que puede estar en contraflujo o co-corriente, dando inicio a la rápida eliminación de la humedad de la matriz. Esta se transforma en pequeñas partículas de

forma esférica, no porosas, recubiertas por una fina capa o película del encapsulante, que poseen una fase interna claramente establecida.

- Las microcápsulas formadas al salir de la cámara de secado atraviesan un ciclón y se depositan en el colector donde pueden ser recogidas.

El método de microencapsulación mediante secado por aspersion se distingue por sus costos reducidos en comparación con otros procedimientos de secado utilizados, lo que permite una amplia gama de aplicaciones, incluyendo la encapsulación de esencias, bebidas en polvo, sabores, probióticos, tintes, entre otros. Como se puede apreciar, gracias a su extensa variedad de usos, la microencapsulación funcionará como un sistema de resguardo, acorde a la composición química, polaridad, solubilidad, y características físicas y funcionales de cada matriz (Ríos & Gil, 2021).

- **Emulsión**

Se ha descrito el método de encapsulación en emulsión como el procedimiento de dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible, en el que la fase dispersa se compone de la matriz que alberga el componente a encapsular. La incorporación de una tensioactiva optimiza la creación y estabilidad de la emulsión, además de la repartición de tamaño de las gotas. En este contexto, se puede realizar la elaboración de microcápsulas mediante emulsificación utilizando el método de gelificación externa o interna.

En el primer escenario, la gelificación externa en emulsión implica la dispersión de una mezcla solución de alginato en una fase continua no acuosa. Luego, se añade una fuente de calcio que, al difundirse a la fase dispersa, comience la gelificación, facilitando la encapsulación y, simultáneamente, desestabilizando la emulsión para separar las cápsulas obtenidas. Por otro lado, el procedimiento de emulsión por

gelificación interna implica la liberación del ion calcio de un complejo que puede ser insoluble o parcialmente soluble. En este escenario, se incorpora un agente secuestrante, que se encuentra en una solución de alginato-componente que se dispersa en una fase continua no acuosa, generando una emulsión de agua en aceite (W/O). El ion calcio se libera al añadir un ácido orgánico soluble en la fase continua, que al difundirse reduce el pH del medio, solubilizando la sal y generando la gelificación (Pasin et al., 2012).

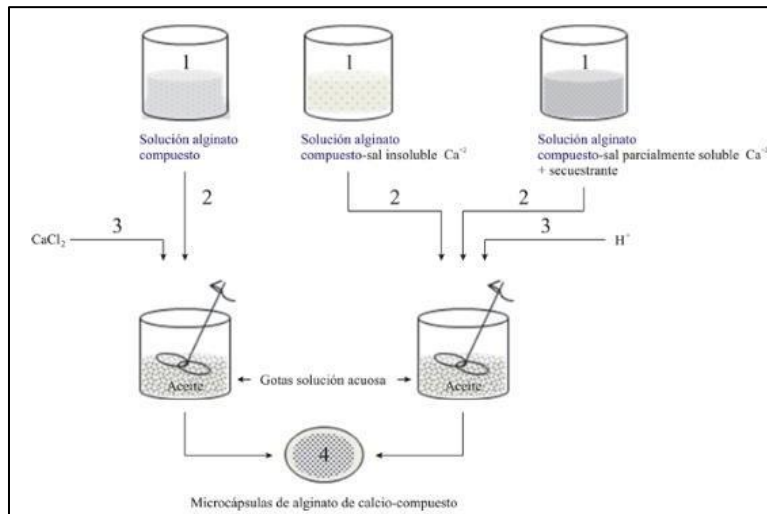


Figura 17. Técnica de encapsulación en emulsión (Pasin et al., 2012).

- Extrusión

El método implica la creación de gotas de la solución de alginato que alberga el componente a encapsular, mediante el paso de esta solución por un aparato extrusor con control de tamaño y velocidad de goteo. Estas gotas se depositan en un baño que alberga la fuente del ion divalente, que provoca la gelificación mediante el proceso externo. El principal obstáculo que ha planteado este método ha sido el enorme tamaño de las microcápsulas, que se determina por el diámetro de la boquilla del aparato extrusor. Entre otras limitaciones, se encuentra el desafío de producción a gran escala, ya que la creación de las microcápsulas se consigue una a una, lo que resulta en largos periodos de gelificación.

Además, se deben tener en cuenta factores que afectan su forma esférica y tamaño, tales como la distancia entre la boquilla y el baño, el impacto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que provoca la gelificación. A pesar de todos estos elementos, el método de microencapsulación por extrusión se ha utilizado tradicionalmente al posibilitar la creación de microcápsulas de tamaños homogéneos (Pasin et al., 2012).

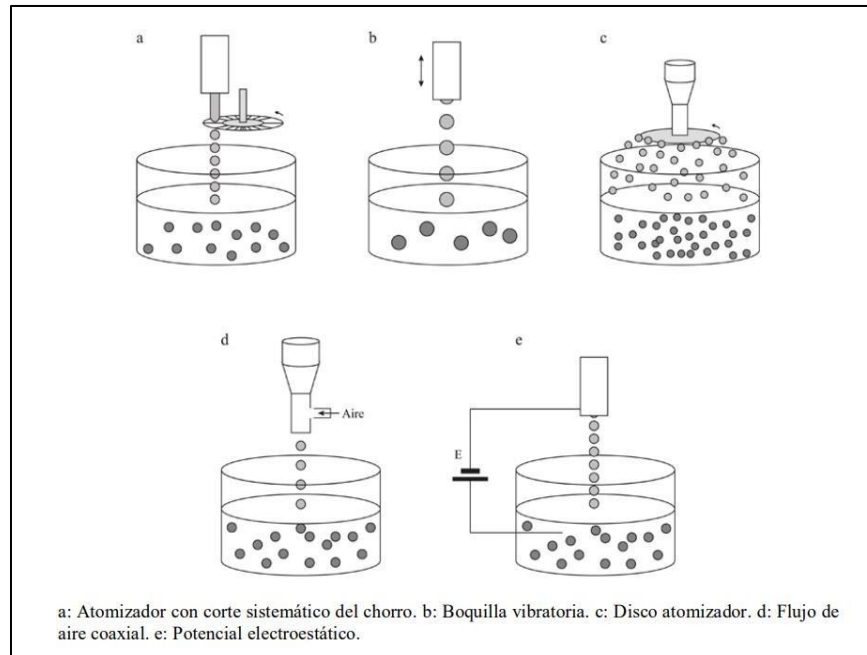


Figura 18. Tipos de dispositivos extrusores (Pasin et al., 2012).

- Liofilización

El procedimiento de encapsulación puede realizarse a través de la liofilización de una suspensión del material central de un material de muro. La liofilización, también conocida como freeze-drying, es un procedimiento para deshidratar materiales congelados mediante el proceso de sublimación en alto vacío. Esto significa que el agua se extrae de los alimentos sin exponerlos a temperaturas elevadas, habituales en los procesos de deshidratación (80-90°C) (Martins, 2000). Estos tipos de alimentos tienen sabores y colores sutiles, y tienen características como textura y aspecto que no se mantienen adecuadamente preservadas por cualquier procedimiento de secado (Fellows, 2006). La liofilización minimiza los cambios que

normalmente ocurren durante el secado, así como el uso de bajas temperaturas, los alimentos congelados tienen pocas posibilidades de romper o deformar su estructura cuando pierde su humedad (Potter & Hotchkiss, 1998).

La liofilización es un método apropiado para encapsular microorganismos termosensibles, que a través de la congelación del producto y después de aplicar vacío, el agua se extrae por sublimación, resultando en una pasta seca que promueve la conservación del producto durante un largo periodo. La tecnología de liofilización facilita la encapsulación de sustancias biológicas al disminuir la rapidez de las reacciones químicas y el deterioro por calor. Se han identificado diversos factores que contribuyen a la supervivencia de las bacterias durante y tras el liofilizado, incluyendo la especie bacteriana, el estado fisiológico, la densidad celular, el efecto de defensa, grados de congelación y otros parámetros del proceso, además de la rehidratación. Estos parámetros pueden provocar daño celular, disminución de la viabilidad y actividad microbiana en diversos niveles, provocando alteraciones en la condición física de la membrana lipídica y la estructura de las proteínas (Rodríguez et al., 2016).

1.6 Encapsulación por gelación iónica con matrices mixtas

1.6.1 Agentes encapsulantes

El material de encapsulado o pared debe tener características específicas como impulsar la formación de la película de interés (propiedad emulsionante), tener una viscosidad baja (menos espesa), tener una baja higroscopicidad (capacidad para absorber humedad) y un alto contenido de sólidos, además de ser económico y de fácil obtención. En un intento de lograr un material de pared con estas propiedades, se ha empleado la mezcla de diversos materiales para elaborar el material "ideal".

Usualmente se emplean hidrocoloides como compuestos encapsulantes, como la gelatina, las gomas de origen vegetal, los almidones modificados y las proteínas. Los carbohidratos y sus derivados, como almidones, maltodextrinas, jarabes de maíz y gomas de acacia, poseen la capacidad de fusionar sabores, lo que se

potencia con su diversidad, coste bajo y aplicación amplia en la nutrición (Pasin, 2012).

Alginato de sodio

- **Temperatura:** A temperaturas elevadas, no se forma un gel debido a que las cadenas poseen una energía excesiva y no se alinean para formar un gel.
- **pH:** A un pH ácido, la viscosidad se aumenta y en función del número de iones de calcio existentes, puede solidificarse a un pH 5. La reducción del pH mejora la efectividad de alginato, dado que se requiere menos calcio libre en el medio para conseguir su efecto. A pH entre 3,0 y 3,2 el alginato es insoluble y precipita en forma de ácido algínico (Cuatzo, 2010).
- **Azúcares:** Los niveles elevados de azúcares solubles reducen la solidez del gel.
- **Presencia de proteínas:** A temperatura y pH ácidos, los alginatos tienen la capacidad de alterar el carácter natural de proteínas (Cuatzo, 2010).

Es necesario garantizar el correcto estado de los productos destinados al consumo humano, a través de un control apropiado de los aditivos que participan en su producción (FAO y OMS, 2006).

Grenetina

La grenetina es una especie de coloide de color blanco, frágil y casi transparente, producida por la hidrólisis parcial del colágeno, la proteína esencial del tejido conectivo (huesos, piel desmineralizada, cartílago y cuero), (Gómez-Guillén et al., 2011).

Al carecer de un aminoácido esencial (triptófano), la grenetina no puede ser utilizada por el organismo para la generación de proteínas. Por ende, desde un punto de vista nutricional, se considera una proteína de escaso valor biológico. Sin embargo, tiene otras propiedades que confirman totalmente su uso en la nutrición humana, ya que

aporta textura y, en algunos casos, un aspecto atractivo a diversas preparaciones y productos alimenticios, gracias a sus propiedades gelificantes e incluso a su capacidad para retener agua. (Closa et al., 1992).

Se emplea para encapsular elementos alimenticios, ya que es un material asequible, disponible en el mercado y libre de toxicidad (Shahidi & Han1993). Igualmente, se ha utilizado para encapsular probióticos, tanto de manera individual como en combinación con otros compuestos (Huerta, 2012); por ejemplo, se ha utilizado como revestimiento de microesferas de alginato para encapsular al probiótico *Bifidobacterium adolescentis* 15703T, con el objetivo de aumentar la supervivencia durante la exposición a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal (Annan et al., 2008).

Maltodextrina

La maltodextrina se produce a través de la hidrólisis ácida del almidón o enzimática del almidón, y generalmente muestra una alta solubilidad en agua, un gusto neutro, un costo reducido, una baja viscosidad en altas concentraciones y la capacidad de proteger el material encapsulado frente a la oxidación. Su capacidad restringida para emulsionar puede ser sobrepasada mediante el uso de almidones modificados o gomas. El octenil succinato sódico es un almidón modificado químicamente que contiene un componente lipofílico que realza su característica anfifílica y, por ende, su capacidad para emulsionar. Las maltodextrinas se han empleado extensamente en la microencapsulación de alimentos gracias a su coste reducido, elevada solubilidad y baja viscosidad a concentraciones elevadas. No obstante, el mayor inconveniente de este agente de encapsulación radica en su ausencia de características emulsificantes debido a su resistencia restringida a los componentes hidrófobos. Así pues, la combinación de goma arábiga con maltodextrina puede proporcionar un óptimo balance entre precio y eficacia, tal como se muestra a continuación (Özbek, 2020).

1.6.2 Materiales de pared o recubrimiento

El primer paso al diseñar un proceso de microencapsulación es seleccionar correctamente el material de revestimiento. En la tabla 5 se detallan las coberturas específicas utilizadas para revestir la encapsulación:

Tabla 5. Sustancias empleadas en el recubrimiento de la microencapsulación (Villena et al., 2009).

Tipo de cobertura	Cobertura específica
Gomas	Agar, alginato de sodio, carragenina, goma arábica.
Carbohidratos	Almidón, dextranos, sacarosa, jarabes de maíz, dextrina.
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa.
Proteínas	Gluten, caseínas, albúmina
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos.
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos

Este aspecto será esencial para valorar la liberación de la sustancia encapsulada, ya que se fundamentará en la permeabilidad del recocado. La elección se efectúa basándose en una amplia variedad de polímeros, ya sean sintéticos o naturales, que pueden fusionarse para obtener propiedades de barrera y mecanismos de liberación específicos. Además, el recubrimiento debe tener determinadas propiedades que varían dependiendo del tipo de sustancia a encapsular, el tipo de proceso de microencapsulación al que será sometido y el destino final de las microcápsulas adquiridas. Se pueden citar algunas características que debería poseer un material óptimo, diseñado para ser utilizado como revestimiento en un proceso de microencapsulación en alimentos:

- Baja viscosidad a elevadas concentraciones.
- Baja capacidad para absorber de la humedad atmosférica con el objetivo de evitar su aglomeración y simplificar su manejo.
- Capacidad de estabilizar el material en una emulsión.

- No reaccionar con el material central y ser insoluble en el material central.
- Será soluble en la matriz donde finalmente se añadirá.
- Brindar máxima protección a la sustancia o principio activo que encierra.
- Permitir la liberación total de solventes u otros materiales utilizados durante el proceso de encapsulación (Parzanese, 2012).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MATERIALES

La matcha (*Camellia sinensis*) de marca comercial fue adquirida en la tienda “Super Naturista”, Toluca, México. Las enzimas utilizadas para los ensayos de digestibilidad *in vitro* en la fase estomacal e intestinal (pepsina y pancreatina) adquiridos de Sigma-Aldrich Química S de RL de CV, Toluca, México. El cloruro de calcio y alginato de sodio fueron adquiridos de Deiman S.A. de C.V., Cd. de México. Los reactivos utilizados fueron de grado analítico y el agua destilada para la preparación de soluciones fue adquirida en la Botica “La Moderna”, Toluca, México.

2.2 MÉTODOS

El proyecto se desarrolló mediante la técnica de gelación iónica; A continuación, se detalla la metodología de manera general y en los capítulos siguientes se describe a profundidad.

2.2.1 Extracción acuosa del concentrado de matcha (*Camellia sinensis*)

El concentrado de matcha (10 g) se sometió en 100mL de agua y se colocó en un matraz Erlenmeyer en agitación constante durante 30 a 40 minutos manteniendo a una temperatura de 45°C en una parrilla de calentamiento con agitador, posteriormente el extracto fue filtrado con papel Whatman N° 1 y el producto concentrado se almacenó en botellas de vidrio ámbar en refrigeración (4°C) hasta su análisis (24-48 h).

2.2.2 Caracterización del extracto de matcha (*Camellia sinensis*)

La matcha (*Camellia sinensis*) fue obtenida en tienda “Super Naturista”, llegando al laboratorio 1 de la Facultad de Química, Campus el Cerrillo Piedras Blancas, donde

se determinó pH, sólidos solubles totales, contenido de compuestos fenólicos totales y azúcares reductores mencionado a continuación.

- **pH**

Para la determinación de pH se basó de acuerdo con la NMX-F-317-S-1978 determinación de pH en alimentos. Se calibró el electrodo del potenciómetro de la marca con soluciones buffer de pH 4,7 y 10. Consecutivamente se sumergió el electrodo en una muestra de 20mL de matcha (*Camelia sinensis*) tomando una lectura del valor de pH.

- **Sólidos solubles totales (AOAC 932.12,2005)**

Para la determinación de sólidos solubles totales se adaptó del método AOAC 932.12,2005 se midieron inmediatamente tras la extracción utilizando un refractómetro de tipo Generic modelo K13979.

El extracto acuoso fue preparado a una concentración del 10% p/p, pesando 10 g de polvo de matcha y se transfirieron en un vaso de precipitado agregando 100mL de agua destilada caliente a una temperatura de 80-90°C, posteriormente se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos.

Se calibro el refractómetro con agua destilada y se colocaron unas gotas del extracto filtrado sobre la superficie de refractómetro, se leyó el valor de sólidos solubles totales expresados en (°Brix), se realizó un análisis por triplicado de la muestra y se reportó el promedio de las mediciones.

- **Determinación de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu**

La cuantificación de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo utilizando el método de Folin-Ciocalteu Kingwater et al., (2015). Para la preparación del reactivo el Folin-Ciocalteu fue diluido en una proporción 1:10 con agua destilada antes de su

uso. La solución de NaHCO_3 al 6% (p/v) fue preparada disolviendo 6 g de NaHCO_3 en 100 mL de agua destilada.

En frascos ámbar se mezclaron 10 μL del extracto de matcha (*Camelia sinensis*) con 750 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu al 10%. Se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente (TA). Posteriormente se añadieron 750 μL de NaHCO_3 al 6% y se dejó reaccionar por 90 minutos en oscuridad (TA). Para la preparación de la solución del blanco se preparó con 100 μL de agua destilada más 750 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 750 μL de NaHCO_3 a las mismas concentraciones.

Transcurrido el tiempo de reacción, la absorbancia fue leída con un espectrofotómetro UV-Vis (UNC-S-2150UV) a una $\lambda_{\text{máx}} = 750 \text{ nm}$, la determinación de las muestras se prepararon por triplicado.

La concentración de compuestos fenólicos totales fue determinada utilizando una curva de calibración construida a partir de soluciones de ácido gálico. Los resultados son expresados como miligramos de equivalentes de ácido gálico/ por cada g de extracto (mg GAE/g).

- **Determinación de Azúcares Reductores mediante el método de Fehling**

Preparación del reactivo de Fehling

-Solución de Fehling A ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): Se disolvió 35 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y se completa el volumen a 1000mL

-Solución de Fehling B: Se disolvieron 173 g de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle) y 50 g de hidróxido de sodio (NaOH) en agua destilada, completando el volumen a 1000 mL.

Solución de azul de metileno al 1%

Procedimiento para la determinación de azúcares reductores

Se pesaron 0.5 g de matcha (*Camellia sinensis*), alginato de sodio y grenetina (grado alimenticio) aforando a 25 mL cada muestra y posteriormente se mezclaron en partes iguales la solución de Fehling A (500 µL) y solución de Fehling B (500 µL).

Se agregaron 5mL de agua destilada con 3 perlas de ebullición en un vaso de precipitado de 20 mL y se vació la mezcla de solución de Fehling A y B. La mezcla se calienta en un baño maría hasta alcanzar la ebullición, se agregan 20 µL de azul de metileno al 1% como indicador redox.

Manteniendo la solución en ebullición suave, se titula con la solución estándar de cada muestra aforada desde una bureta, añadiendo lentamente hasta que el color azul se diluya presentando un precipitado rojo en la superficie, indicando el punto final de la reacción (Se realizó el mismo procedimiento con cada muestra por duplicado).

El contenido de azúcares reductores se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Azúcares reductores (\%)} = \frac{(FF)(V)}{(g)(m)} \times 100$$

Donde:

FF = Factor de Fehling (mL en la titulación x 0.01)

V = Volumen al que se afora

g = mL de solución de muestra empleada en la titulación

m = Peso de la muestra en gramos

2.2.3 Encapsulación de matcha (*Camellia sinensis*) por gelación iónica

- Preparación de la solución de alginato de sodio

Se disolvió alginato de sodio en agua destilada para obtener una solución al 1% p/v. (0.2 g de alginato/20 mL). Se agito la solución durante 30 minutos a temperatura

ambiente para asegurar una completa hidratación del polímero, posteriormente se dejó reposar la solución 15 minutos para eliminar las burbujas de aire.

- **Preparación de la dispersión de matcha**

Se agregaron 20 mL de matcha (*Camellia sinensis*) al 10% (10 g de matcha/100 mL) en la solución de alginato preparada en el paso anterior, se mezcló la dispersión utilizando una parrilla de calentamiento con agitación a 500 rpm durante 5 minutos para asegurar una distribución uniforme.

- **Preparación de la solución de Cloruro de Calcio (CaCl_2)**

Se preparó una solución de 50 mL CaCl_2 al 0.2 M (0.4439 g de CaCl_2 /50 mL) y se mantuvo en agitación constante para asegurar la homogeneidad.

- **Preparación de la grenetina**

Se preparó una solución de grenetina al 1% hidratando 1 g de grenetina 300° Bloom en 10 mL de agua, posteriormente se colocaron 90 mL de agua a 80°C y se añadió la grenetina agitando hasta la total disolución, según la metodología adaptada de (DeMars y Ziegler, 2001).

- **Formación del encapsulado por gelación iónica**

Como agente de encapsulación utilizado fue una solución acuosa de alginato de sodio (NaOH) al 1% y matcha (*Camellia sinensis*) al 10% y grenetina al 1%. Los encapsulados se elaboraron empleando la técnica de gelación iónica por el método de goteo utilizando una jeringa con aguja de calibre 21 para extruir la dispersión de matcha-alginato-grenetina en gotas uniformes sobre la solución de CaCl_2 al 0.2 M. Manteniendo una altura de goteo de aproximadamente 15 cm para obtener una forma esférica.

Posteriormente se dejaron reposar las esferas en la solución de CaCl_2 al 0.2 M durante 15 y 30 minutos para permitir la gelificación completa y obtener dos variables de resultados.

Se recolectaron los encapsulados utilizando un colador y se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de cloruro de calcio.

Se almacenaron los encapsulados en frascos ámbar a temperatura ambiente agregando 10 mL de agua destilada para evitar deshidratación del mismo hasta su uso.

2.2.4 Caracterización de los encapsulados de matcha (*Camellia sinensis*)

Una vez obtenidos los encapsulados de matcha (*Camellia sinensis*) es fundamental llevar a cabo su caracterización fisicoquímica con el fin de evaluar la calidad del sistema de encapsulación. Entre las principales propiedades que se analizan se encuentran la forma de partícula, tamaño de partícula y eficiencia de encapsulamiento, debido a que estas influyen directamente en la liberación, estabilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos contenidos.

- Forma de partícula

La morfología superficial de las partículas encapsuladas fue evaluada mediante microscopía básica, técnica que permite obtener imágenes para observar la forma y estructura externa de las micropartículas. En este análisis se consideraron características como rugosidad de superficie, presencia de colapsos o grietas estructurales y esfericidad.

Es un parámetro importante ya que influye en la solubilidad, protección del principio activo, estabilidad durante el almacenamiento y comportamiento en medios biológicos.

- Tamaño de partícula

El tamaño de partícula fue determinado manualmente utilizando un calibrador vernier digital (Marca Steren). Se seleccionaron aleatoriamente varios encapsulados individuales, las cuales fueron medidas cuidadosamente para obtener un diámetro promedio. El tamaño promedio se registró de acuerdo a los tiempos de 15 y 30 minutos en CaCl_2 obteniendo un rango de variación entre 1.5 y 2.0 mm. El tamaño de partícula es un parámetro clave que puede afectar la velocidad de disolución, liberación del compuesto activo y la apariencia del producto final.

2.2.5 Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*

Para la experimentación de la digestión *in vitro* se verificó el material y soluciones a utilizar, posteriormente se llevó a cabo en vasos de 50 mL, en baño maría a 37°C sobre una parrilla eléctrica en agitación constante 330 rpm simulando la actividad gástrica. Se preparó una solución de Simulación del Fluido Salivar (SSF), una solución de Simulación del Fluido Gástrico (SGF) y una solución de Simulación de Fluido Intestinal (SIF) con las concentraciones indicadas en el cuadro X.

De acuerdo en las recomendaciones de Minekus, 2014

Tabla 6.. Composición de los fluidos digestivos para la simulación *in vitro*.

Componente	Stock (mol/L)	SSF	SGF	SIF
		pH 7	pH 3	pH 7
		SSF (mmol/L)	SGF (mmol/L)	SIF (mmol/L)
KCl	0.5	15.1	6.9	6.8
KH_2PO_4	0.5	3.7	0.9	0.8
NaHCO_3	1	13.6	25	85
NaCl	2	-	47.2	38.4
$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	0.15	0.15	0.1	0.33
$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	0.5	0.06	0.5	-

Para ajustar el pH				
NaOH	1	-	-	-
HCl	6	1.1	15.6	8.4
El CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ no es añadido a los fluidos de simulación digestiva.				
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3	1.5 (0.75)	0.15 (0.075)	0.6 (0.3)

* Este cuadro corresponde a un stock 1.25x

- **Evaluación *in vitro* de la proteólisis de los materiales de pared: fase gástrica**

La simulación de la fase gástrica se realizó con base en protocolos estandarizados para digestión gastrointestinal estática, adaptados del método INFOGEST (Minekus et al., 2014), con modificaciones para su aplicación a matrices ricas en compuestos fenólicos como el matcha (*Camellia sinensis*).

Se pesaron 0.375 g de cápsulas, se rehidrataron con 2.5 mL de agua a pH 3 y se colocaron en un baño maría a 37°C en 2 mL de solución stock de SSF (sin amilasa) y 3.75 mL de solución stock de SGF, titular con HCl 0.05N para mantener el pH a 3 y se adicionaron 2.5 µL de CaCl₂(H₂O)₂ 0.3 M y 0.05 g de pepsina porcina (EC 3.4.23.1) hidratada en 2.5 mL de agua a pH 3 a las concentraciones finales indicadas en el cuadro X, alcanzando un volumen final de 10 mL. La digestión se llevó a cabo por dos horas, a 37°C en baño maría y agitación, debido a que este es el tiempo aproximado de digestión gástrica *in vivo*. Se prepararon por duplicado muestras independientes para los tiempos de digestión de 15, 45 y 120 minutos respectivamente. Deteniendo la reacción con choque térmico a -78°C con hielo seco.

El grado de hidrólisis a pH ácido *in vitro* para la fase gástrica se calculó con la ecuación 2.

$$GH = 100x \frac{V \times N}{m \times h_{tot}} x \frac{1}{1 - \alpha_{COOH}} \quad (2)$$

Donde **V** es el volumen gastado de HCl 0.05 N (mL), **N** la normalidad del ácido (meq/mL), **m** la masa de la proteína (g), **h_{tot}** los enlaces peptídicos por gramo de

proteína (cte. 8.8) y α_{COOH} el grado de disociación promedio calculado a partir de la ecuación 3.

$$\alpha_{COOH} = \frac{10^{pH-pK_A(COOH)}}{1+10^{pH-pK_A(COOH)}} \quad (3)$$

Dónde **pH** es la concentración de iones hidrógeno y **pK_A** es el logaritmo negativo de la constante de disociación ácida.

- **Evaluación *in vitro* de la proteólisis de los materiales de pared: fase intestinal**

La fase intestinal simulada se llevó a cabo con el objetivo de replicar las condiciones del intestino delgado y evaluar la liberación del matcha (*Camellia sinensis*) tras la digestión gástrica. Esta etapa es clave para estimar la fracción absorbible de los compuestos bioactivos.

Al finalizar la fase gástrica, se agregaron 5mL del dirigido de la fase gástrica posteriormente se incorporaron 3.375 del fluido intestinal simulado (SIF, por sus siglas en ingles), 0.01mL de CaCl₂ 0.3 M y 500 µL de agua destilada, después se adiciono la cantidad necesaria de NaOH 0.1 N para neutralizar a pH 7. Se hidrataron 0.048 g de pancreatina con 1.25 mL de SIF, obteniendo en total un volumen de 10mL, posteriormente después de 75 minutos se detuvo la reacción por inmersión en hielo seco.

El grado de proteólisis a pH básico *in vitro* se calculó con la ecuación 3

$$GH = 100 \times \frac{V \times N}{m \times h_{tot}} \times \frac{1}{\alpha_{NH_2}} \quad (3)$$

Donde **V** es el volumen gastado de NaOH 0.1 N (mL), **N** la normalidad de la base (meq/mL), **m** la masa de la proteína (g), **h_{tot}** los enlaces peptídicos por gramo de proteína (cte. 8.8) y α_{NH_2} el grado de disociación promedio calculado a partir de la ecuación 4.

$$\alpha_{NH_2} = \frac{10^{pH-pK_A(NH_2)}}{1+10^{pH-pK_A(NH_2)}} \quad (4)$$

Dónde **pH** es la concentración de iones hidrógeno y **pK_A** es el logaritmo negativo de la constante de disociación básica.

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización fisicoquímica del extracto de matcha (*Camellia sinensis*)

Durante el proceso de encapsulación del extracto de matcha (*Camellia sinensis*) mediante gelación iónica, se obtuvieron esferas homogéneas empleando una solución de grenetina y alginato de sodio al 1% p/v como matriz de encapsulación y cloruro de calcio (CaCl_2) al 0.2 M como agente reticulante. La formación de encapsulados se llevó a cabo bajo condiciones controladas, evaluando dos periodos de gelificación distintos (15 y 30 minutos) con el fin de analizar la influencia del tiempo en la estabilidad mecánica, la eficiencia de encapsulación y la cinética de liberación de los compuestos bioactivos provenientes del matcha. Una vez finalizada la gelación, los encapsulados fueron lavados con agua destilada para eliminar residuos del cloruro de calcio y posteriormente almacenados en frascos ámbar bajo refrigeración (4 °C), las cuales son condiciones que minimizan la degradación de los polifenoles y preservan la integridad estructural de las microcápsulas. En la tabla 7 se muestra la caracterización fisicoquímica del extracto de matcha:

Tabla 7. Caracterización fisicoquímica del extracto de matcha (*Camellia sinensis*)

Extracto de matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	
Parámetros	Resultado
Compuestos fenólicos totales (TPC)	252.7 mg GAE/g
pH	5.8
°Brix	6% SST

El análisis fisicoquímico del extracto de matcha reveló características notables que sustentan su potencial como fuente de compuestos bioactivos. El contenido de compuestos fenólicos totales, cuantificado mediante el método Folín-Ciocalte

utilizando ácido gálico como estándar, mostró un valor significativo de 252.7 mg GAE/g. Este elevado contenido fenólico se encuentra dentro del rango reportado para matcha de alta calidad (150-300 mg GAE/g) y es indicativo de su capacidad antioxidante. La curva de calibración empleada para esta determinación, construida con concentraciones conocidas de ácido gálico, presentó un excelente coeficiente de correlación ($R^2 > 0.99$), validando la confiabilidad de los resultados obtenidos.

El análisis del pH arrojó un valor de 5.8, el cual es característico de los extractos de té verde (matcha), que resulta favorable para la estabilidad de los compuestos fenólicos. Este pH ligeramente ácido crea un ambiente que minimiza la degradación oxidativa de las catequinas y otros polifenoles durante el procesamiento y almacenamiento. Por otro lado, la medición de sólidos solubles totales (% SST) mediante refractometría indicó un valor del 6%, reflejando una concentración adecuada de componentes solubles como aminoácidos, azúcares reductores y compuestos fenólicos. Este parámetro es particularmente relevante ya que influye directamente en las propiedades organolépticas y la viscosidad del extracto, los cuales son factores clave para los procesos posteriores de encapsulación.

Adicionalmente, se registró un pH de 5.8 (típico de té verdes) y 6% SST (sólidos solubles totales), indicando una adecuada concentración de aminoácidos y polifenoles. Estos parámetros son críticos para la estabilidad y funcionalidad del extracto durante la encapsulación.

3.2 Determinación de azúcares reductores mediante el método de Fehling

En la tabla 8 se presentan los porcentajes obtenidos de azúcares reductores determinados por el método de Fehling de las materias primas utilizadas en el proceso de encapsulación:

Tabla 8. Azúcares reductores por el método de Fehling

Materia prima	% Azúcares reductores
Matcha (<i>Camellia sinensis</i>)	0.2%
Grenetina	<0.1%
Alginato de sodio	<0.1%

El matcha (*Camellia sinensis*) presentó un contenido de azúcares del 0.2%, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura para productos derivados de extractos de té verde, aunque el matcha no es una fuente rica en carbohidratos simples, si puede contener trazas de azúcares naturales como glucosa y fructosa, estos azúcares pueden estar presentes en la fracción soluble del polvo y son responsables del valor positivo detectado por el reactivo de Fehling. En caso contrario, la grenetina y el alginato de sodio mostraron contenidos inferiores al 0.1%, valores que se consideran no significativos en términos analíticos. Estos resultados eran esperados ya que ambos son biopolímeros de naturaleza no reductora, la grenetina se forma por cadenas peptídicas derivadas del colágeno (proteínas), mientras que el alginato de sodio es un polisacárido estructural sin extremos aldehídicos accesibles en su forma nativa.

3.3 Caracterización de los encapsulados de matcha (*Camellia sinensis*)

El proceso de encapsulación mediante gelación iónica permitió obtener encapsulados con características físicas y de eficiencia de encapsulación directamente relacionadas con el tiempo de gelificación. Los resultados demostraron que al incrementar el tiempo de exposición a la solución de CaCl_2 de 15 a 30 minutos, se logró una mejora sustancial en la eficiencia de encapsulación,

pasando de 75% a 82%. Este incremento puede atribuirse a una mayor formación de puentes iónicos entre las cadenas de alginato y los iones calcio, generando una matriz polimérica más densa y estable capaz de retener mayor cantidad de compuestos bioactivos.

En la figura 19 se muestran imágenes obtenidas del análisis microscópico representativas de las cápsulas obtenidas por gelificación iónica en una solución de CaCl_2 con tiempos de 15 y 30 minutos, se observó que a los 15 minutos de reposo las cápsulas presentaban superficies ligeramente rugosas en algunas estructuras, podría estar asociado a un proceso de gelificación incompleto, donde el calcio no ha penetrado de manera homogénea en toda la matriz, generando zonas menos estructurales.

En contraste, las cápsulas observadas tras 30 minutos de reposo en el CaCl_2 muestran una superficie lisa y homogénea, este resultado es consistente con una gelificación más completa, en la que los iones de calcio han alcanzado un mayor grado de reticulación, proporcionando mayor estabilidad estructural, sin embargo; en ambos periodos de tiempo las cápsulas mantuvieron una forma esférica bien definida. Estas observaciones indican que el mayor tiempo de gelificación no solo afecta el tamaño de las cápsulas, sino también su morfología superficial.

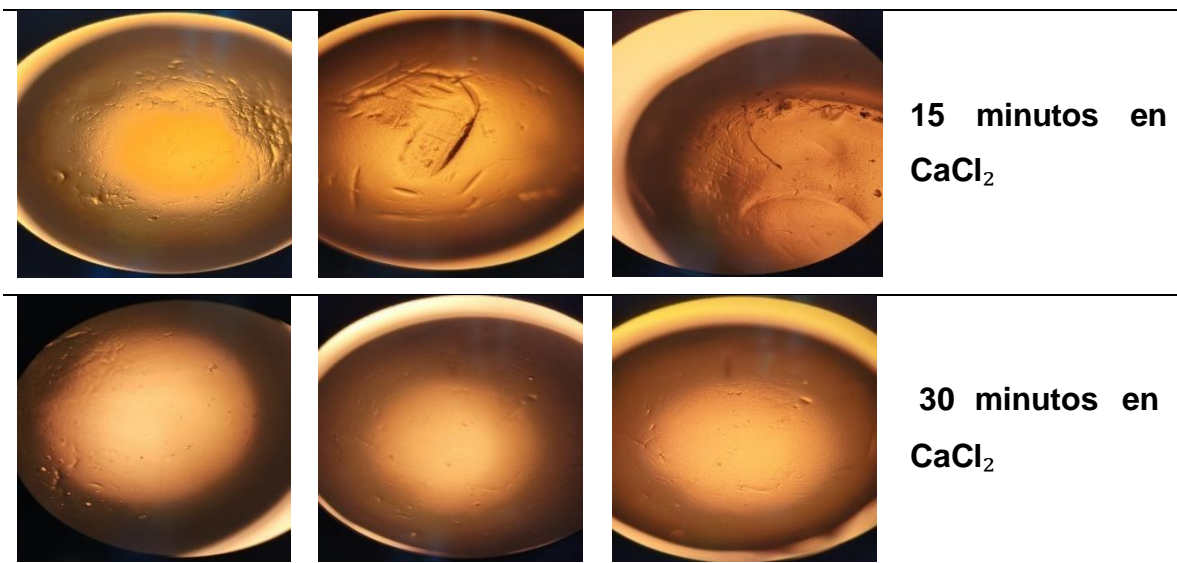
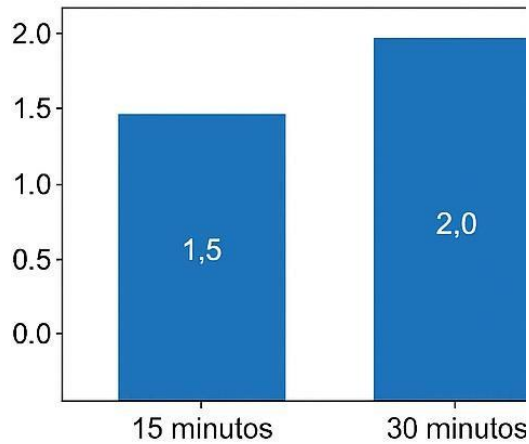


Figura 19. Análisis microscópico de cápsulas obtenidas por gelificación iónica a 15 y 30 minutos de reposo en CaCl_2

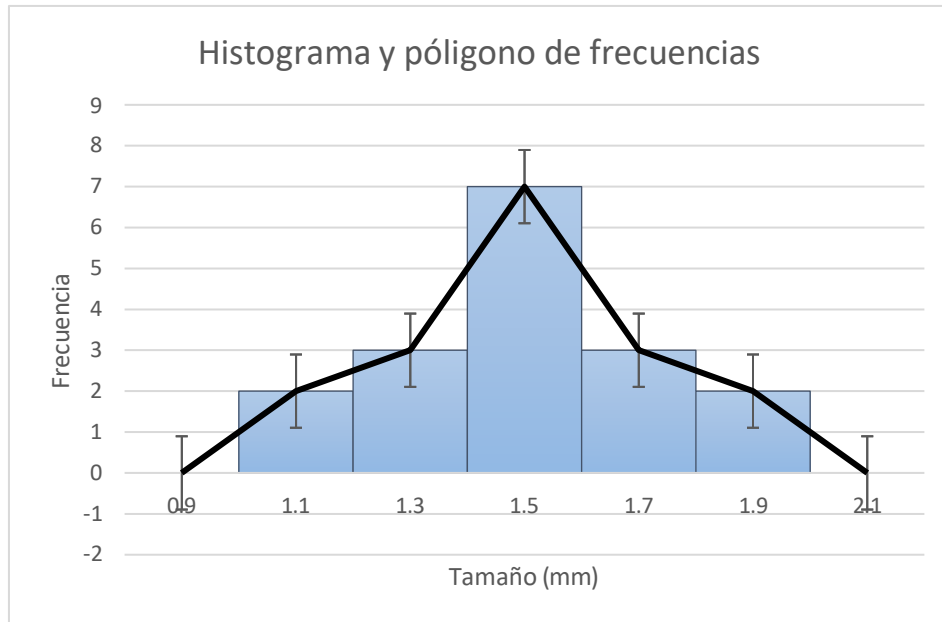
En la gráfica 1, se representa el tamaño promedio de las partículas formadas durante los tratamientos de gelificación (15 y 30 minutos) dando como resultado una variación importante en función del tiempo de gelificación.



Gráfica 1: Tamaño promedio de partícula según el tiempo de gelificación

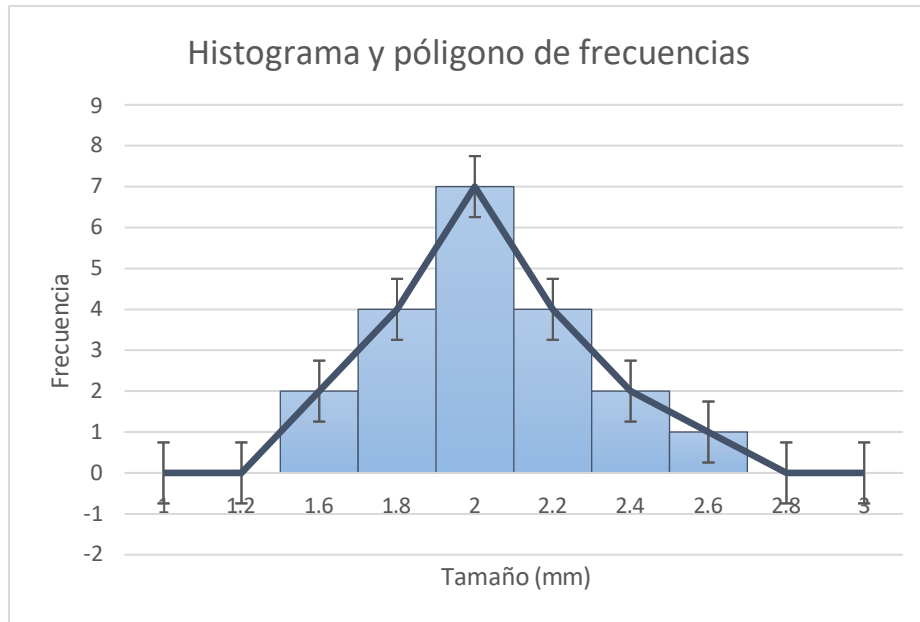
Los resultados revelaron que las esferas gelificadas por 30 minutos fueron más grandes (2.0 mm) que las de 15 minutos (1.5 mm), lo que sugiere una matriz más densa y estable. Estos hallazgos coinciden con estudios previos que vinculan tiempos de gelificación prolongados con una mejor retención de bioactivos en matrices de hidrogel con estructura porosa tridimensional (por ejemplo, Guo et al., 2024).

En la gráfica 2 correspondiente a las cápsulas sometidas a 15 minutos de gelificación, se aprecia una distribución normal, la mayoría de encapsulados se encuentran en un rango estrecho de tamaños, alcanzando la mayor frecuencia en un diámetro promedio de 1.5 mm, esto indica una buena uniformidad en el proceso de encapsulación bajo este tiempo de gelificación.



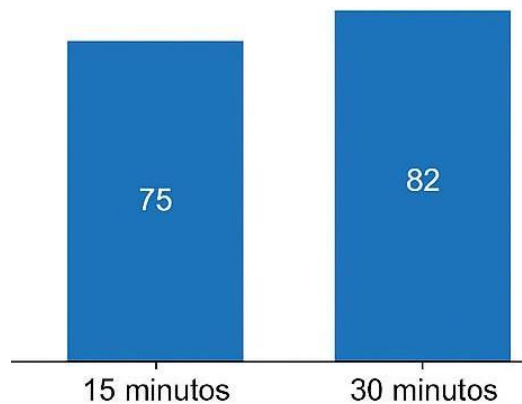
Gráfica 2. Distribución de tamaño de los encapsulados (15 minutos en gelificación)

Por el contrario, en la gráfica 3, que representa los resultados obtenidos de los encapsulados expuestos durante 30 minutos de gelificación en CaCl_2 , evidencia una mayor dispersión en el tamaño de los encapsulados alcanzando un promedio de tamaño de 2.0 mm. Este aumento en el tamaño podría explicarse por una mayor hidratación de la matriz polimérica durante el tiempo extendido de reticulación. Es importante destacar que en ambos casos se presentó una superficie ligeramente rugosa, pero sin fracturas visibles, lo que sugiere una adecuada integridad estructural de los encapsulados.



Gráfica 3. Distribución de tamaño de los encapsulados (30 minutos en gelificación)

Respecto a la eficiencia de encapsulación, cuantificada mediante la determinación del extracto de matcha, se registraron valores superiores al 75% en ambos tratamientos, con un incremento marginal (pero consistente) en las muestras gelificadas durante 30 minutos. Este comportamiento podría atribuirse a una mayor estabilización de la red de alginato en periodos prolongados de reticulación, favoreciendo la retención de los compuestos activos.



Gráfica 4: Eficiencia de encapsulación según el tiempo de gelificación

La gráfica de barras sobre la eficiencia de encapsulación revela una relación directa entre el tiempo de gelificación y la eficacia con la que se encapsulan los compuestos bioactivos. Al incrementar el tiempo de gelificación de 15 a 30 minutos, la eficiencia de encapsulación aumenta de un 75 % a un 82 %. Este incremento de siete puntos porcentuales sugiere que un tiempo más prolongado permite una formación más completa de la matriz polimérica encargada de retener los compuestos fenólicos. La estructura de la cápsula se ve beneficiada por un mayor tiempo de reticulación entre los polímeros, lo cual favorece la formación de una barrera más densa y cohesiva que reduce la pérdida de compuestos durante el proceso. Este comportamiento concuerda con los hallazgos de López et al. (2012), quienes observaron que con tiempos más prolongados de reticulación en solución de CaCl_2 , la eficiencia de encapsulación aumenta significativamente en sistemas de alginato ($\text{EE} > 85\%$); con el estudio de Norcino et al. (2022), donde mezclas de alginato-pectina aumentaron la retención de fenoles hasta 83 % gracias a una matriz más cohesionada, y con los resultados de Henao-Ardila et al. (2020), quienes mostraron que aumentar los tiempos de reticulación en sistemas alginato mejoró la eficiencia de encapsulación de compuestos fenólicos hasta un 82 %. Estos resultados tienen implicaciones importantes en la optimización del proceso, ya que una mejora en la eficiencia significa una mayor estabilidad del compuesto encapsulado, menor descarte de insumos y, en términos económicos, un mejor aprovechamiento de los recursos.

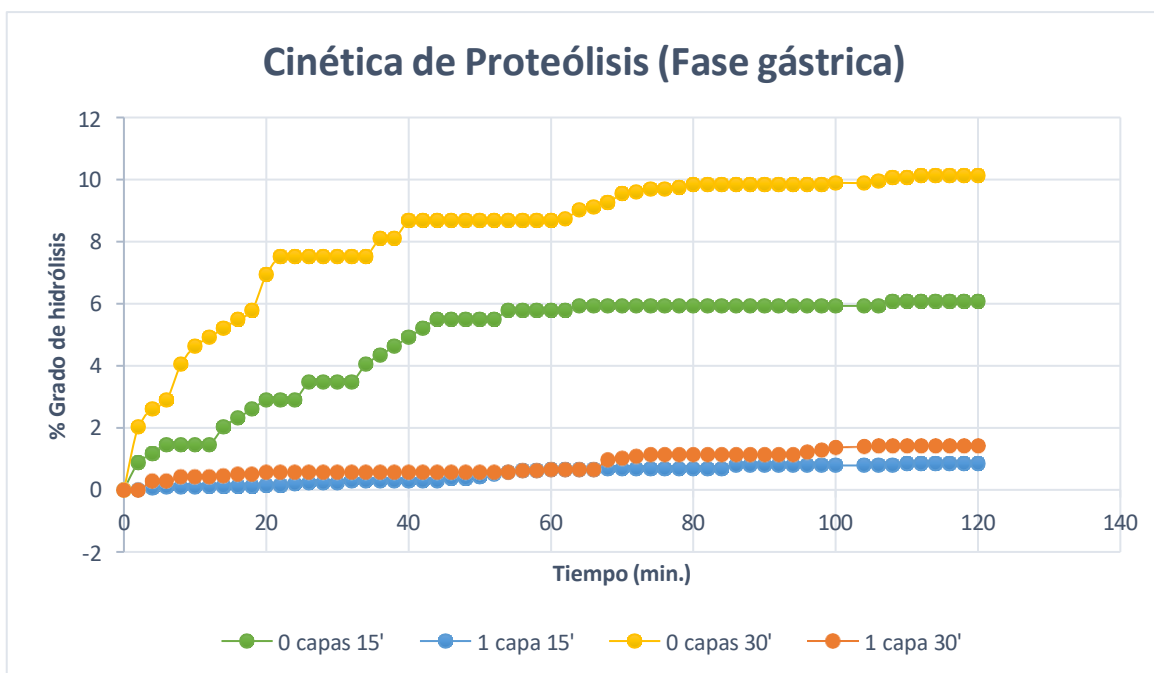
Los resultados experimentales evidenciaron una correlación directa entre el tiempo de gelificación y la eficiencia de encapsulación, confirmando los principios teóricos que rigen la interacción del alginato con iones calcio. Estudios previos han documentado que la formación de la matriz de alginato- Ca^{2+} sigue el mecanismo de “caja de huevos”, donde los iones divalentes actúan como puentes entre las cadenas de ácido gulurónico, generando una red polimérica más densa y estable conforme se prolonga el tiempo de reticulación.

Este modelo ha sido revisitado con métodos espectroscópicos avanzados que confirman la asociación cadena a cadena de los bloques de guluronato (Braccini &

Pérez, 2001; Morris et al., 1973). Además, se ha demostrado que optimizar el tiempo y las condiciones de gelificación mejora la uniformidad del gel y sus propiedades mecánicas, favoreciendo una reticulación más completa y una mayor retención de compuestos encapsulados (Larobina & Cipelletti, 2013; Larobina & Cipelletti, 2013). Esta propiedad explica el incremento en la eficiencia de encapsulación observado en las esferas sometidas a 30 minutos de gelificación, las cuales presentaron una estructura más rígida y homogénea en comparación con aquellas expuestas solo por 15 minutos.

3.4 Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*

La evaluación del comportamiento de los encapsulados bajo condiciones simuladas de digestión gastrointestinal proporcionó información valiosa sobre su potencial como sistemas de liberación controlada. En la gráfica 5 se presenta la cinética de proteólisis de la fase gástrica. Se evaluaron los encapsulados con tiempos de gelificación en CaCl_2 de 15 y 30 minutos, con un recubrimiento de alginato de sodio y otros encapsulados sin capa adicional.



Gráfica 5: Grado de hidrólisis *in vitro* en fase gástrica de los encapsulados

Durante la fase gástrica (pH 3), los datos indicaron que los encapsulados sin capa adicional con 15 minutos de exposición en CaCl_2 liberaron el 4.7% de los compuestos fenólicos totales, mientras que aquellos con 30 minutos liberaron el 8.2%. Esta diferencia, aunque aparentemente modesta, sugiere una influencia directa del tiempo de exposición al CaCl_2 sobre la estructura y permeabilidad de la matriz polimérica. Por un lado, el mayor tiempo de gelificación produce cápsulas más grandes y densas debido a una mayor reticulación del alginato, lo que podría derivar en una red más rígida pero también con posibles zonas de porosidad o microfracturas que faciliten una leve permeación de compuestos en condiciones ácidas. Por otro lado, es posible que esta estructura más ordenada no permita una liberación abrupta, sino un inicio controlado del proceso de difusión, lo cual resulta deseable desde una perspectiva funcional, ya que se evita la pérdida prematura de polifenoles sensibles al pH gástrico.

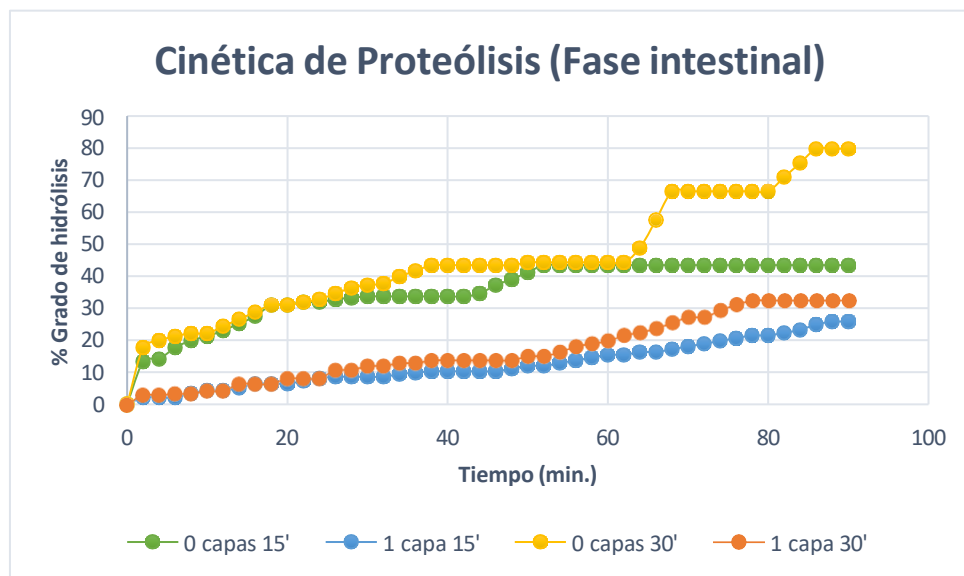
La baja liberación gástrica es fundamental para proteger los compuestos bioactivos de la degradación en el ambiente ácido del estómago, particularmente importante para catequinas como el epigallocatequina-3-galato (EGCG) que son sensibles a pH bajos.

Los encapsulados con una capa adicional de alginato mostraron un comportamiento notablemente diferente, con una liberación gástrica prácticamente nula (0.5-0.8%) y una liberación intestinal significativamente reducida (12.3-16.4%) en comparación con sus contrapartes sin capa adicional. Estos resultados sugieren que mientras la capa extra proporciona una mayor protección en el estómago, puede limitar excesivamente la biodisponibilidad de los compuestos al dificultar su liberación en el intestino. Este hallazgo tiene importantes implicaciones para el diseño de sistemas de encapsulación, indicando que debe buscarse un equilibrio óptimo entre protección y liberación efectiva.

Mientras que aquellos con 1 capa presentaron una liberación mínima (0.5–0.8%), evidenciando su capacidad protectora en condiciones gástricas adversas. En la fase

intestinal (pH alcalino), la liberación aumentó significativamente. Los encapsulados 0 capas/30 min alcanzaron 44.9% de liberación.

En la gráfica 6 muestra la cinética de proteólisis de las proteínas en la fase intestinal (pH 7), en la cual se observó un patrón de liberación sostenida significativamente mayor. Los encapsulados sin capa adicional y con 30 minutos de gelificación presentaron la mayor liberación (44.9%), seguidos por aquellos con 15 minutos de gelificación (35%). Este comportamiento diferencial confirma que el tiempo de gelificación no solo afecta las propiedades físicas de los encapsulados, sino también su desempeño funcional durante la digestión. La mayor liberación intestinal de los encapsulados con mayor tiempo de gelificación podría deberse a una estructura de matriz más organizada que permite una disolución más controlada en medio alcalino.



Gráfica 6: Grado de hidrólisis *in vitro* en fase intestinal de los encapsulados

En la fase intestinal, se evidenció un aumento marcado en la liberación de los compuestos, lo que confirma el comportamiento dependiente del pH de los encapsulados. Este resultado sugiere que la estructura más reticulada obtenida con tiempos prolongados de gelificación permite una disolución más progresiva y eficaz

en el intestino, donde las condiciones favorecen el intercambio iónico y la descomposición parcial de la matriz por la acción de las sales biliares y enzimas pancreáticas (proteolíticas y aminolíticas). La diferencia entre ambos tratamientos, aunque reducida respecto a la fase gástrica, continúa siendo relevante para el diseño de estrategias de liberación controlada.

En contraste, los encapsulados con una capa adicional de alginato mostraron una liberación gástrica prácticamente nula (0.5–0.8%), lo que confirma su alta capacidad protectora frente a condiciones extremadamente ácidas. Sin embargo, esta protección excesiva también se tradujo en una liberación intestinal limitada, con valores de 12.3% a 16.4%, significativamente menores que los observados en las formulaciones sin recubrimiento. Esta situación plantea una disyuntiva relevante: si bien la presencia de una capa adicional fortalece la barrera en la fase gástrica, también puede dificultar la biodisponibilidad efectiva del compuesto en la fase intestinal, lo que reduce el aprovechamiento del principio activo.

Este perfil de liberación observado en los tratamientos sin capa adicional, en particular aquel con 30 minutos de gelificación, representa un comportamiento altamente deseable en sistemas de liberación funcional, al ofrecer protección en la fase gástrica y liberación controlada y eficiente en el intestino. Dicho comportamiento se alinea con las necesidades de formulaciones nutracéuticas orientadas a compuestos bioactivos sensibles como los polifenoles del matcha, conocidos por su acción antioxidante, antiinflamatoria y su potencial quimiopreventivo. El hecho de que la matriz alginato, cuando se encuentra adecuadamente estructurada, pueda preservar estos compuestos en el entorno ácido del estómago y facilitar su liberación en el sitio principal de absorción intestinal, destaca su valor como vehículo bioactivo.

Asimismo, la resistencia mecánica observada cualitativamente mediante pruebas de compresión respalda estos hallazgos: las microesferas con mayor tiempo de gelificación presentaron menor deformabilidad, lo que implica una mayor integridad estructural que no solo favorece la retención del extracto durante el almacenamiento, sino que también regula la cinética de liberación en condiciones

digestivas simuladas. La sinergia entre estabilidad estructural y adaptabilidad funcional del encapsulado sugiere que pequeñas modificaciones en el tiempo de gelificación pueden modular de forma efectiva la liberación de los compuestos encapsulados.

Las enzimas digestivas son proteínas especializadas que catalizan la descomposición de los alimentos en nutrientes absorbibles. En el tracto digestivo humano, estas enzimas se activan en diferentes fases:

Fase Estomacal: En el estómago, el pH ácido activa la pepsina, una proteasa que inicia la digestión de proteínas al hidrolizar enlaces peptídicos. Además, la lipasa lingual, secretada en la boca, continúa su acción en el estómago, descomponiendo triglicéridos en ácidos grasos y monoacilglicéridos.

Fase Intestinal: Al llegar al intestino delgado, el pH más elevado activa las enzimas pancreáticas, como la amilasa pancreática, que descompone almidones en azúcares simples; la lipasa pancreática, que emulsiona y descompone grasas; y las proteasas, como la tripsina y la quimotripsina, que continúan la digestión de proteínas.

La encapsulación de compuestos bioactivos busca protegerlos de condiciones adversas y liberar su contenido en sitios específicos del tracto digestivo. Dos materiales comúnmente utilizados son el alginato y la gretina:

- Alginato de sodio: Forma un gel en presencia de cationes divalentes como el calcio. Este gel es estable en ambientes ácidos, como el estómago, pero se disuelve en pH más altos, como en el intestino delgado, permitiendo una liberación controlada del contenido encapsulado.
- Gnetina: Se disuelve en ambientes ácidos y básicos, liberando rápidamente el contenido encapsulado tanto en el estómago como en el intestino delgado.

La interacción entre las enzimas digestivas y los materiales de encapsulación influye en la liberación de los compuestos bioactivos:

- Alginato: Su gelificación en presencia de calcio lo hace resistente a la acción de las enzimas en el estómago, protegiendo el contenido encapsulado. Sin embargo, en el intestino delgado, donde el pH es más alto, el gel se disuelve, permitiendo la acción de las enzimas pancreáticas y la liberación del contenido.
- Grenetina: Al disolverse rápidamente tanto en el estómago como en el intestino delgado, permite una liberación inmediata del contenido, lo que puede ser beneficioso para compuestos que requieren una acción rápida, pero también puede exponerlos a condiciones adversas del tracto digestivo.

Estos resultados subrayan la necesidad de optimizar los parámetros del proceso de encapsulación, como el tiempo de gelificación y la aplicación de capas adicionales, para alcanzar un equilibrio entre protección gástrica y liberación intestinal. Desde un enfoque tecnológico, el uso de gelación iónica se presenta como una técnica viable, de bajo costo, sencilla y escalable, capaz de adaptarse a diferentes principios activos más allá de los extractos de matcha. No obstante, se debe considerar que estos resultados derivan de modelos *in vitro* en un sistema estático y, por tanto, futuras investigaciones deberán incluir validaciones de sistemas dinámicos (simulando movimientos peristálticos) o bien sistemas *in vivo* para establecer la biodisponibilidad real y el impacto fisiológico de las formulaciones desarrolladas.

4. CONCLUSIÓN

La encapsulación del extracto de matcha (*Camellia sinensis*) mediante gelación iónica se consolidó como una estrategia tecnológicamente viable y científicamente fundamentada para la protección y liberación controlada de compuestos fenólicos bajo condiciones simuladas de digestión gastrointestinal. Los datos experimentales demostraron que el tiempo de gelificación es un factor clave en el desempeño del sistema encapsulante, al influir significativamente tanto en la eficiencia de encapsulación como en la estabilidad estructural y el perfil de liberación de los compuestos bioactivos.

En términos morfológicos, se detectó un incremento en el tamaño promedio de las microesferas, de 1.5 mm a 2.0 mm, conforme aumentó el tiempo de gelificación. Este cambio en la dimensión de partícula se relacionó con una mayor integridad estructural sin presencia de fracturas, lo que refuerza la capacidad de los encapsulados para resistir el estrés del tránsito gástrico y mantener su funcionalidad hasta la fase intestinal. Tales características son deseables en la formulación de alimentos funcionales o suplementos, donde la forma, tamaño y comportamiento de liberación influyen en la aceptabilidad, eficacia y viabilidad tecnológica del producto. Esta característica puede tener importantes implicaciones en el desarrollo de alimentos funcionales o suplementos nutraceúticos, ya que el tamaño de las partículas puede influir en la liberación selectiva, la aceptabilidad sensorial del producto final y la eficacia en la entrega del compuesto bioactivo. Así, los hallazgos del presente estudio refuerzan la hipótesis de que la modulación de variables operativas, como el tiempo de gelificación, es una herramienta valiosa para diseñar sistemas de encapsulación adaptados a distintos fines tecnológicos y nutricionales.

Se observó que un tiempo de gelificación prolongado (30 minutos) favoreció una mayor eficiencia de encapsulación, alcanzando un 82%, en comparación con el 75% logrado con 15 minutos. Esta diferencia se atribuye a la mayor formación de enlaces iónicos entre el alginato y el calcio, que dio lugar a una matriz más densa y estable.

Al mismo tiempo, este tratamiento permitió un perfil de liberación más eficiente en la fase intestinal, con un 44.9% de liberación frente al 35% registrado con menor tiempo de gelificación. Esta liberación sostenida es especialmente relevante para compuestos fenólicos como el epigallocatequina-3-galato (EGCG), cuya estabilidad en el medio gástrico es limitada, por lo que resulta esencial su protección hasta el entorno intestinal, donde puede ser absorbido con mayor eficacia.

Los encapsulados con capa adicional de alginato mostraron una liberación gástrica prácticamente nula, lo que evidencia su efectividad como barrera protectora. Esto resalta la necesidad de encontrar un equilibrio entre protección y liberación efectiva en el diseño de sistemas encapsulantes.

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que la técnica de encapsulación por gelación iónica representa un método eficiente para la protección y liberación controlada de compuestos bioactivos termolábiles, particularmente en el caso de los polifenoles presentes en el extracto de matcha. La evidencia experimental demuestra que el tiempo de gelificación actúa como un factor crítico que determina no solo las propiedades físicas de las cápsulas, sino también su desempeño funcional.

Los hallazgos de esta investigación respaldan la aplicabilidad de la gelación iónica como técnica económica, reproducible y adaptable para encapsular compuestos bioactivos sensibles, como los presentes en el matcha. La modulación del tiempo de gelificación se presenta como una herramienta estratégica para ajustar la funcionalidad del sistema a diferentes requerimientos tecnológicos y nutricionales. Este trabajo aporta al desarrollo de matrices funcionales capaces de mejorar la estabilidad, liberación y potencial bioactivo de los compuestos encapsulados, abriendo nuevas oportunidades para el diseño de productos con beneficios reales para la salud humana.

Se sugiere continuar con estudios a escala piloto e industrial, así como con evaluaciones de biodisponibilidad *in vivo*, que permitan validar estos resultados en contextos fisiológicos más complejos y con matrices alimentarias reales.

REFERENCIAS

- Akagi, T., Ikegami, A., Tsujimoto, T., Kobayashi, S., Sato, A., Kono, A., & Yonemori, K. (2009). DkMyb4 is a Myb transcription factor involved in proanthocyanidin biosynthesis in persimmon fruit. *Plant Physiology*, 151(4), 2028-2045.
- Alegría, A., Garcia-Llatas, G., & Cilla, A. (2015). Static digestion models: General introduction. *The impact of food bioactives on health: In vitro and ex vivo models*, 3-12.
- Alminger, M., Aura, A. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., & Santos, C. N. (2014). *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413-436.
- Annan, N. T., Borza, A. D., & Hansen, L. T. (2008). Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food research international*, 41(2), pp: 184-193.
- Araque Ruiz, V. (2022). Encapsulación del ácido fólico en matriz de alginato de sodio/alcohol polivinílico para su posible integración en productos nutracéuticos.
- Armand, M. (2007). Lipases and lipolysis in the human digestive tract: where do we stand. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 10(2), 156-164.
- Avendaño-Romero, G. C., López-Malo, A., & Paolu, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 87-96.
- Belščak, A., Komes, D., Horžić, D., Ganić, K. K., & Karlović, D. (2009). Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. *Food Research International*, 42(5-6), 707-716.

- Bora, AFM, Ma, S., Li, X. y Liu, L. (2018). Aplicación de la microencapsulación para la administración segura de polifenoles del té verde en sistemas alimentarios: Revisión y avances recientes. *Food Research International*, 105, 241-249.
- Boticario, C. B., & Angosto, M. C. (2012). *Digestión y metabolismo energético de los nutrientes*. UNED, Centro de Plasencia.
- Braccini, I. (2001). Fundamentos de gelación iónica en matrices de alginato [Libro]. Editorial Técnica.
- Brandon, E. F., Oomen, A. G., Rompelberg, C. J., Versantvoort, C. H., van Engelen, J. G., & Sips, A. J. (2006). Consumer product *in vitro* digestion model: bioaccessibility of contaminants and its application in risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44(2), 161-171.
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 155-171.
- Cardoso, C., Afonso, C., Lourenço, H., Costa, S., & Nunes, M. L. (2015). Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk–benefit evaluation of food. *Trends in Food Science & Technology*, 41(1), 5-23.
- Champagne, C. P., & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), 184-190.
- Closa, S. J., Sambucetti, M. E., & de Portela, M. L. P. (1992). El mito de la gelatina. *Medicina (B. Aires)*, pp: 378-9.
- Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A mini-review. *Frontiers in nutrition*, 5, 87.

- Cuatzo L. (2010). "Efecto de las condiciones de proceso en la conservación de alimentos encapsulados por el método de gelificación iónica". (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional).
- Cuesta, M. A., Weijs, T. J., Bleys, R. L., van Hillegersberg, R., van Berge Henegouwen, M. I., Gisbertz, S. S., & van der Peet, D. L. (2015). A new concept of the anatomy of the thoracic oesophagus: the meso-oesophagus. Observational study during thoracoscopic esophagectomy. *Surgical endoscopy*, 29, 2576-2582.
- Cutrim, CS, Alvim, ID & Cortez, MAS (2019). Microencapsulación de polifenoles de té verde mediante gelificación iónica y enfriamiento por aspersion. *Journal of Food Science and Technology* , 56 , 3561-3570.
- Díaz, D., Jiménez, M. & Beristain, C. (2013). Encapsulación del jugo de zarzamora (*Rubus fruticosus*), utilizando diferentes materiales de pared mediante secado por aspersion. Modalidad tesis. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Veracruz, México.
- Dima, C., Assadpour, E., Dima, S., & Jafari, S. M. (2020). Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 2862- 2884.
- Dupont, D., Bordoni, A., Brodkorb, A., Capozzi, F., Cirkovic Velickovic, T., Corredig, M., & Wickham, M. (2011). An international network for improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process. *Food Digestion*, 2, 23-25.
- FAO y OMS. (2006) Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias.
- Fellows, P. J. (2018). *Tecnologia do Processamento de Alimentos-: Princípios e Prática*. Artmed Editora.

- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research*, 29(11), 751-760.
- García-Rodríguez, M. D. C., Hernández-Cortés, L. M., & Arenas-Huertero, F. (2022). Catequinas del té verde: efectos antígenotóxicos y genotóxicos. Revisión sistemática. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 72(3), 205-217.
- Gelberg, H. B. (2014). Comparative anatomy, physiology, and mechanisms of disease production of the esophagus, stomach, and small intestine. *Toxicologic pathology*, 42(1), 54-66.
- Gil-Izquierdo, A., Gil, M. I., Ferreres, F., & Tomás-Barberán, F. A. (2001). *In vitro* availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 1035-1041.
- González, R. L. (2016). Digestión de alimentos: Tendencias en los modelos de digestión *in vitro*. *Revista Doctorado UMH*, 2(2), p5-p5.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, 15(7-8), 330-347.
- Guo, X. (2024). Evaluación de la digestibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos del matcha encapsulados en matriz mixta por gelación iónica [Libro]. Editorial Académica.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., & Ferreira, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173, 501-513.
- Henao Ardulls, M. (2020). Digestibilidad y degradabilidad *in vitro* de matcha en matrices encapsulantes [Libro]. Editorial Universitaria.
- Hernández González, S., & Ortega Cardenas, J. (2011). *Obtención de nanotubos a partir de alfa-lactoalbumina para el encapsulamiento de aceite de arenque (clupea harengus harengus) que contribuyan a retrasar el proceso de oxidación de los*

ácidos grasos docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) (Doctoral dissertation, Universidad de Cartagena).

Huerta Vera, K. (2012). *Deshidratación-impregnación de placas de gelatina enriquecidas con probióticos* (Doctoral dissertation). Tesis Profesional. Universidad Veracruzana (Facultad de Ciencias Químicas), México.

Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*, 85(2), 162-169.

Hur, S. J., Park, S. J., & Jeong, C. H. (2011). Effect of buckwheat extract on the antioxidant activity of lipid in mouse brain and its structural change during *in vitro* human digestion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(19), 10699-10704.

Islas, R. P. (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. *Avances en Nutrición Acuicola*.

Jaziri, I., Slama, M. B., Mhadhbi, H., Urdaci, M. C., & Hamdi, M. (2009). Effect of green and black teas (*Camellia sinensis* L.) on the characteristic microflora of yogurt during fermentation and refrigerated storage. *Food Chemistry*, 112(3), pp: 614-620.

Junter, G. A., & Vinet, F. (2009). Compressive properties of yeast cell-loaded Ca-alginate hydrogel layers: Comparison with alginate–CaCO₃ microparticle composite gel structures. *Chemical Engineering Journal*, 145(3), 514-521.

Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, J. B., & Reppas, C. (2006). Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharmaceutical research*, 23, 165-176.

Keller, J., & Layer, P. (2005). Human pancreatic exocrine response to nutrients in health and disease. *Gut*, 54(suppl 6), 1-28.

- Komes, D., Horžić, D., Belščak, A., Ganić, K. K., & Vulić, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food research international*, 43(1), 167-176.
- Larobina, L. (2013). Encapsulación de compuestos fenólicos: técnicas y digestibilidad *in vitro* [Libro]. Editorial Científica.
- Li, Q., Duan, M., Hou, D., Chen, X., Shi, J. y Zhou, W. (2021). Fabricación y caracterización de microesferas de alginato de calcio (II) combinadas con diferentes polisacáridos como vehículos para la administración, liberación y almacenamiento de polifenoles del té. *Food Hydrocolloids* , 112 , 106274.
- Liang, J., Yan, H., Puligundla, P., Gao, X., Zhou, Y. y Wan, X. (2017). Aplicaciones de nanopartículas de quitosano para mejorar la absorción y biodisponibilidad de los polifenoles del té: Una revisión. *Food Hydrocolloids* , 69 , 286-292.
- López Córdoba, A. F. (2012). *Desarrollo de sistemas de encapsulación compuestos para la protección de extractos antioxidantes de yerba mate* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Mahan, L. K., Escott-Stump, S., & Raymond, J. L. (2013). *Krause dietoterapia*. Amsterdam: Elsevier.
- Martinović, J., Lukinac, J., Jukić, M., Ambrus, R., Planinić, M., Šelo, G., ... y Bucić-Kojić, A. (2023). Evaluación de bioaccesibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos del extracto de orujo de uva encapsulado mediante gelificación iónica. *Moléculas*, 28 (13), 5285.
- Martins, B. (2000). Tecnología de secagem preservam as características dos alimentos. *Revista Engenharia de Alimentos*, 6(30), pp: 40-42.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., & Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124.

- Mondal, T. K., Bhattacharya, A., Laxmikumaran, M., & Singh Ahuja, P. (2004). Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(3), pp:195-254.
- Munin, A., & Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulación de compuestos polifenólicos naturales: una revisión. *Pharmaceutics*, 3 (4), 793-829.
- Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(8), pp: 568-574.
- Norcino, A. (2022). Encapsulación iónica de polifenoles de matcha: estudio de digestibilidad *in vitro* [Libro]. Editorial Científica.
- Ortíz, M. A., Vargas, M. D. C. R., Madinaveitia, R. G. C., & Velázquez, J. A. M. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia*, 13(2), 16-22.
- Oz, H. S. (2017). Chronic inflammatory diseases and green tea polyphenols. *Nutrients*, 9(6), 561.
- Pan, M. H., Lai, C. S., & Ho, C. T. (2010). Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food & function*, 1(1), 15-31.
- Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of food science*, 72(2), R21-R32.
- Parks, C. R. (2005). *Collected species of the genus Camellia, an illustrated outline*. Bright Sparks.
- Parzanese, M. (2012). Tecnologías para la industria alimentaria: Microencapsulación. Alimentos Argentinos, ficha # 20, pp: 1-12.
- Pasin, B. L., Azón, C. G., & Garriga, A. M. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, pp: 130-151.

- Planas, M., & Pérez-Portabella, C. (2000). *Fisiopatología aplicada a la nutrición*. Ediciones Mayo.
- Potter, N. N., & Hotchkiss, J. H. (2012). *Food science*. Springer Science & Business Media. pp: 1608.
- Rios-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. *TecnoLógicas*, 24(51), pp: 206-229.
- Roa, I., & Meruane, M. (2012). Desarrollo del aparato digestivo. *International Journal of Morphology*, 30(4), 1285-1294.
- Rodríguez-Barona, S., Giraldo, G. I., & Montes, L. M. (2016). Encapsulación de alimentos probióticos mediante liofilización en presencia de prebióticos. *Información tecnológica*, 27(6), pp: 135-144.
- Roth, R. (2007). Nutrición y dietoterapia. In *Nutrición y dietoterapia* (pp. 538-p).
- Saravanan, M. & Panduranga Rao, K. (2010). Pectin-gelatin and alginate-gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, 80, 808–816.
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6), pp: 501-547.
- Stevens, P.F. (2001). En adelante. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Consulta: octubre de 2023.
- Sumeri, I., Arike, L., Adamberg, K., & Paalme, T. (2008). Single bioreactor gastrointestinal tract simulator for study of survival of probiotic bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 80, 317-324.

- Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M. K., & Dutt, S. (2020). Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 366-380.
- Unno, K., Furushima, D., Hamamoto, S., Iguchi, K., Yamada, H., Morita, A., & Nakamura, Y. (2018). Stress-reducing function of matcha green tea in animal experiments and clinical trials. *Nutrients*, 10(10), 1468.
- Velasco Romero, E. N. (2016). *Microencapsulación de Quercetina mediante Gelificación Iónica* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Villena, M. M., Hernández, M. M., Lara, V. G., & Martínez, M. R. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 50(1), pp: 43 -50.
- Willems, M. E., Fry, H. L., Belding, M. A., & Kaviani, M. (2021). Three weeks daily intake of matcha green tea powder affects substrate oxidation during moderate-intensity exercise in females. *Journal of Dietary Supplements*, 18(5), 566-576.
- Zain, S. R. (2016). “*Evaluación de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y sensoriales de micro encapsulados de cacao obtenidos por spray drying*”. (Doctoral dissertation, Tesis de posgrado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia), pp:12
- Zhang, Z.-Q., Pan, C.-H. & Chung, D. (2011). Tannic acid crosslinked gelatin–gum arabic coacervate microspheres for sustained release of allyl isothiocyanate: characterization and *in vitro* release study. *Food Research International*, 44, 1000–1007.