

**INFORME DE RESIDENCIA PROFESIONAL:**  
**“MICROENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS  
METANÓLICOS DE *Crotalaria longirostrata*”**

**QUE PRESENTA:**  
**KARINA DEL CARMEN DOMÍNGUEZ GONZÁLEZ**

**NÚMERO DE CONTROL:**  
**13270722**

**CARRERA:**  
**INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

**ASESORA:**  
**M.C. LUCÍA MARÍA CRISTINA VENTURA CANSECO**

## RESUMEN

El presente trabajo se enfoca a la obtención y caracterización de agentes encapsulantes no convencionales, tal es el caso de la pectina de harina de cacao (*Theobroma cacao*), concentrado de proteína y goma de la harina de *Cajanus cajan*, así como su efecto en el rendimiento y la eficiencia durante la microencapsulación de extractos metanólicos de hojas de *Crotalaria longirostrata*, mediante la técnica de secado por aspersión. Se elaboró un tratamiento con relación agua: sólidos (10:1.8), se preparó una emulsión de maltodextrina: pectina: extracto (8.35:1.1:0.55). El secado se realizó en un Büchi Mini Spray Dryer B-290, las condiciones de secado fueron: temperatura de entrada de 120 °C, temperatura de salida de 65-69 °C, alimentación de flujo de aspersión de 3 mL/min, el tratamiento fue realizado por duplicado.

Se determinó el contenido fenólico en las microcápsulas por el método Folin-Ciocalteu, hallando un contenido fenólico de 2.4 mg de GAE (Equivalente de Ácido Gálico) por cada gramo de microencapsulado. Se evaluó la actividad antioxidante por el método de radical libre de DPPH, obteniendo un IC50 comprendiendo entre las concentraciones de 10 y 15 mg/mL, es decir, que se requieren concentraciones entre 10 y 15 mg de polvo encapsulado para inhibir el 50% de los radicales libres del DPPH. Se obtuvo un rendimiento de 46.32%  $\pm$  3.5 con una eficiencia de microencapsulación de 75.42%  $\pm$  2.57.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	7
<b>II. DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA</b> .....	9
<b>III. PROBLEMAS A RESOLVER</b> .....	11
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	12
<b>V. JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>VI. MARCO TEÓRICO</b> .....	14
6.1 Microencapsulación .....	14
6.1.1 Concepto .....	14
6.1.2 Aplicaciones de la microencapsulación en alimentos .....	14
6.2 Técnicas de encapsulación.....	15
6.2.1 Técnicas químicas .....	16
6.2.2 Técnicas físicas .....	17
6.3 Agentes empleados en la encapsulación.....	20
6.3.1 Polisacáridos .....	21
6.3.2 Lípidos .....	21
6.3.4 Gomas .....	22
6.3.5 Proteínas .....	23
6.3.6 Fuentes de obtención de agentes encapsulantes.....	23
6.3.7. <i>Cajanus cajan</i> .....	25
6.4 Aplicaciones de la microencapsulación.....	26
6.4.1 Encapsulación de microorganismos .....	26

6.4.2 Encapsulación de saborizantes .....	27
6.4.4 Encapsulación de principios activos vegetales .....	28
6.5. <i>Crotalaria longirostrata</i> .....	29
Fracción comestible .....	30
0,46 %.....	30
<b>VII. METODOLOGIA</b> .....	<b>31</b>
7.1 Concentrado de proteína de semillas de <i>Cajanus cajan</i> .....	31
7.2 Extracción de goma de semillas de <i>Cajanus cajan</i> .....	31
7.3 Extracción de pectina de cáscaras de cacao .....	32
7.4 Análisis fisicoquímicos de la harina de gandul, harina de cacao, aislado de proteína y goma de guandúl y pectina de harina de cacao.....	32
7.4.1 Determinación de cenizas.....	32
7.4.2 Determinación de humedad según la NMX-F-083-1986.....	32
7.4.3 Determinación de extracto etéreo .....	33
7.4.4 Determinación de proteína.....	33
7.4.5 Determinación de fibra cruda.....	34
7.4.6 Determinación de pH .....	35
7.5 Determinación de contenidos fenólicos por el método Folin-Ciocalteau .....	35
7.5.1 Cuantificación de compuestos bioactivos totales (fenoles totales).....	35
7.5.2 Cuantificación de compuestos bioactivos sobre la superficie .....	36
7.6 Evaluación de actividad antioxidante por el método de radical libre de DPPH	36
7.7 Eficiencia de microencapsulación y rendimiento del secado .....	37

7.8 Índice de solubilidad, absorción de agua y capacidad de hinchazón de las microcápsulas .....	37
7.9 Densidad aparente.....	38
7.10 Elaboración de los agentes encapsulantes, preparación de las emulsiones y condiciones del secado.....	38
<b>VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>40</b>
8.1 Extracción de agentes encapsulantes.....	40
8.2 Análisis proximales de agentes encapsulantes.....	41
8.3 Cuantificación de polifenoles, actividad antioxidante y eficiencia del microencapsulado .....	42
8.3.1. Extracto.....	42
8.3.2 Microencapsulado.....	43
8.4 Eficiencia de la microencapsulación y rendimiento .....	43
8.5 Índice de solubilidad, absorción de agua y capacidad de hinchazón de las microcápsulas .....	44
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
9.1 Conclusiones de proyecto .....	45
9.2 Recomendaciones y experiencia personal profesional adquirida. ....	45
9.3 Competencias desarrolladas.....	47
<b>X.FUENTES DE INFORMACIÓN.....</b>	<b>48</b>
<b>XI. ANEXOS.....</b>	<b>54</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Operación típica de secado por aspersion que consiste en un secado con cámara equipada con un atomizador, calentador de aire, ventilador y ciclón para recuperación del producto.-----	19
Figura 1.2 Semillas de <i>Cajanus cajan</i> -----	25
Figura 1.3. Arbusto de <i>Crotalaria longirostrata</i> y hojas en estado fresco.-----	29
Figura 1.4 Insolubilización de la pectina en etanol-----	41

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición química del chipilín en hoja y punta.-----	30
Tabla 1.2 Análisis proximales de la harina de cajanus cajan, aislado de proteína, goma y pectina -----	42

## I. INTRODUCCIÓN

La microencapsulación es una técnica de conservación de compuestos bioactivos dentro de una pared que brinda protección contra factores ambientales como el oxígeno, luz, humedad, temperatura entre otros, que pueden llegar a inhibir o desestabilizar el potencial del material encapsulado, además de enmascarar sabores indeseables que tienen ciertos compuestos bioactivos..

La microencapsulación se puede aplicar exitosamente para cubrir compuestos naturales tales como aceites esenciales y extractos vegetales que contienen polifenoles (Nazzaro et. al, 2012).

En la dieta humana se incluyen compuestos fenólicos los cuales se pueden encontrar en el reino vegetal. La clasificación de estos compuestos se comprende en fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, los cuales son un grupo de sustancias químicas que se estiman como metabolitos secundarios de las plantas las cuales presentan estructuras químicas y propiedades diferentes (Porrás, Loaiza & López, 2009).

Los polifenoles presentes en compuestos vegetales presentan una actividad antioxidante mayor que las vitaminas C y E, las cuales representan un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas como desórdenes cardiovasculares y neurodegenerativos, antitumorales, antimutagénicos (Zapata et. al, 2014)

Los polifenoles son estructuras complejas, debido a su estructura química, los compuestos fenólicos son considerados como antioxidantes. El interés de estos compuestos químicos se debe a sus propiedades antioxidantes lo que repercute a favor de la salud humana ya que son los antioxidantes de mayor consumo. (Zapata et. al, 2014; Valadez et. al, 2017). Para controlar el deterioro oxidativo y actividad microbiana se han incorporado agentes antioxidantes y antimicrobianos sintéticos los cuales no están aprobados en algunos países, por lo que el uso de productos naturales seguros y efectivos es una demanda de los consumidores y productores de alimentos (Ortega et. al, 2014).

El extracto metanólico de hojas de chipilín contiene sustancias antioxidantes, pero tiene una consistencia pegajosa y es altamente higroscópica, se oscurece fácilmente y tiene un sabor desagradable para algunas personas y un olor característico, al encapsular estos compuestos es posible proteger el extracto metanólico del chipilín, también se cubre el sabor que llega a ser desagradable y se logra un polvo seco que facilite su manipulación para futuros procesados, además de facilitar su transporte.



## **II. DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA**

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG); es una institución de educación superior, ubicada en la Ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Es una Institución educativa pública de educación superior, que forma parte del Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos de México. El Instituto también está afiliado a la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES), zona Sur-Sureste

Valores

El Ser Humano

El Espíritu de Servicio

El Liderazgo

El Trabajo en Equipo

La Calidad

El Alto Desempeño

Respeto al Medio Ambiente

Misión

Formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos.

Visión

Ser una Institución de Excelencia en la Educación Superior Tecnológica del Sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región.

## Política de Calidad

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez establece el compromiso de implementar y orientar todos sus Procesos Estratégicos y actividades del Proceso Educativo, hacia la Calidad del Servicio Educativo y respeto al medio ambiente, dando cumplimiento a los requisitos del estudiante y partes interesadas, mediante un Sistema de Gestión de la Calidad conforme a la Norma ISO 9001:2015/NMX-CC-9001-IIMNC-2015.

### **Ubicación del laboratorio donde se realizó el proyecto.**

Laboratorio de Investigación, edificio D1 del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

Directora de proyecto: M.C. Lucía María Cristina Ventura Canseco

Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050, Apartado Postal: 599, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

### **III. PROBLEMAS A RESOLVER**

La mayoría de los vegetales son fuente importante de compuestos antioxidantes, entre estos vegetales encontramos a *Crotalaria longirostrata*, el cual tiene un sabor muy desagradable para algunas personas y con un olor muy intenso y característico de la planta. Por lo antes mencionado en este proyecto se busca:

1. Enmascarar el sabor desagradable y el olor penetrante mediante la encapsulación
2. Buscar nuevas alternativas en material encapsulante sin comprometer las fuentes de obtención comunes.
3. Facilitar la manipulación de los compuestos metanólicos al obtener un polvo seco el cual será más fácil de transportar y de hacer más práctico su empleo.

## **IV.OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el empleo de agentes encapsulantes no convencionales sobre la eficiencia y estabilidad de extractos metanólicos de *Crotalaria longirostrata* microencapsulado mediante secado por aspersión.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Obtener y caracterizar pectina a partir de la harina de cascara de cacao (*T. cacao*), goma y concentrado de proteína a partir de las semillas de *Cajanus cajan*.

Obtener y caracterizar pectina de cáscara de cacao (*T. cacao*).

Evaluar las características fisicoquímicas de los agentes encapsulantes

Evaluar las características fisicoquímicas de los agentes encapsulantes

Evaluar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles presentes en el microencapsulado obtenido por secado por aspersión para obtener su rendimiento y eficiencia.

## V. JUSTIFICACIÓN

Según Castaneda (2017) *C. longirostrata* se puede catalogar como un alimento funcional; ya que se ha demostrado que no solo es nutritivo; al tener un gran aporte de proteínas y fibra dietética y un bajo aporte calórico y de grasas; sino que también contiene moléculas bioactivas que generan beneficios a la salud, como el ácido  $\alpha$ -linolénico, vitamina E, ácido cutárico y ácido quínico y, habiéndose determinado la actividad antioxidante y ausencia de citotoxicidad mediante la decocción. En México el chipilín (*Crotalaria longirostrata*) crece en los estados de Chiapas, Veracruz, Tabasco y Oaxaca (Laguna Gonzalez, 2016) y en Centroamérica.

La importancia de encapsular los extractos metanólicos del chipilín se basa en la inestabilidad del extracto por su misma naturaleza, ya que se degrada o reduce su efecto al exponerse a la luz, oxígeno, temperatura entre otros factores ambientales, además es importante para enmascarar el sabor y olor que para algunas personas resulta desagradable, lo que evita el uso en las industrias de interés. En este trabajo también se propone el uso de agentes encapsulantes diferentes a los comúnmente usados en la industria, obteniéndolos de fuentes poco comunes como lo es la semilla de guandúl (*Cajanus cajan*) y harina de cascara de cacao (*T. cacao*).

## **VI. MARCO TEÓRICO**

### **6.1 Microencapsulación**

#### **6.1.1 Concepto**

La microencapsulación es el empaqueo de una sustancia activa, que puede ser degradada o reducir su efecto por cambios de pH, temperatura, luz, oxígeno u otros factores ambientales, manteniéndola intacta hasta llegar a su destino y ser degradada por condiciones específicas.

Araneda y Valenzuela (2009) definen la encapsulación como una técnica en donde gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, son cubiertas con una película polimérica porosa conteniendo una sustancia activa. Otra definición de microencapsulación según Gharsallaoui (2007), es descrita como una técnica en donde un compuesto bioactivo es encapsulado por un polímero protegiéndolo del oxígeno, agua, luz u otras condiciones para mejorar su estabilidad y también para cambiar de solución líquida a polvo para facilitar su manejo. (Robert & Gorena, 2010).

El desarrollo exitoso de estos sistemas de encapsulación es basado en el conocimiento sobre la estabilidad del componente que se desea encapsular como microorganismos, aceites esenciales, enzimas y antioxidantes, etc., así como las características de los materiales para la encapsulación, el método para la formación de las capsulas y el alimento el cual se desea incorporar (Nazzaro *et al.*, 2011).

#### **6.1.2 Aplicaciones de la microencapsulación en alimentos**

Sandoval & Martínez (2004) hacen mención de los propósitos de la microencapsulación en un alimento, entre estos está la conservación, fortificación y liberación controlada en el tiempo de nutrientes, disminución de la higroscopicidad, transformación de sabores líquidos a polvos, estabilidad durante el almacenamiento, mejoramiento de cualidades organolépticas y funcionales de productos alimenticios, etc.

Las aplicaciones de la microencapsulación han ido en aumento gracias a la protección de los materiales encapsulados de factores como calor y humedad, lo que permite mantener su estabilidad y viabilidad. Las microcápsulas permiten la resistencia de las condiciones de procesamiento y empaquetado de los productos alimenticios, al mismo tiempo que mejora el sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos (Yañez & Salazar, 2002; Montes, De Paula y Ortega, 2007).

La liberación de las capsulas se llevan a cabo por disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla, temperaturas, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica, esta liberación del componentes puede controlarse por difusión de la pared de la capsula o por una membrana que cubre la pared. (Parra, 2010).

## **6.2 Técnicas de encapsulación**

Existen dos métodos de microencapsulación: físicos y químicos. Entre los procesos químicos encontramos la coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento en liposomas, inclusión molecular. Los procesos físicos son secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento, extrusión, siendo el secado por aspersión el proceso más utilizado debido a la disponibilidad de equipos, costo bajo de los proceso, buena retención de volátiles, buena estabilidad del producto final y producción a gran escala en modo continuo. (Parra, 2010)

La selección del método de encapsulación dependerá del tamaño medio de la partícula requerida, de las propiedades físicas del agente encapsulante, de la sustancia a encapsular, de las aplicaciones del material encapsulado propuesto, del mecanismo de liberación deseado y del coste. (Martin & Morales, 2009).

## **6.2.1 Técnicas químicas**

### **6.2.1.1 Coacervación**

Según Villamizar & Martinez (2008) la microencapsulación por coacervación consiste en el recubrimiento de micropartículas con una película polimérica, la cual se obtiene por precipitación del material polimérico disuelto en el medio dispersante. Así mismo menciona que las estrategias para incitar la coacervación dependen principalmente de las características fisicoquímicas del polímero y del núcleo a recubrir. La coacervación puede ser inducida por la adición de un no-solvente; método en el cual, la separación de fases es inducida por la adición lenta de un “no-solvente” sobre una solución del polímero formador de cubierta, la cual contiene suspendido el material que va a encapsularse.

### **6.2.1.2 Co-cristalización**

Astolfi-Filho (2005) menciona que la co-cristalización es un proceso de encapsulación donde un segundo ingrediente es incorporado en un conglomerado poroso de microcristales de sacarosa formados por cristalización espontánea. El proceso es realizado con jarabe de sacarosa con concentraciones saturadas, seguido de la agregación del material a encapsular, esto se logra con una agitación intensa y constante, lo que permite la nucleación y aglomeración del producto.

La co-cristalización es una alternativa flexible y económica por ser un procedimiento relativamente simple; numerosos productos pueden ser encapsulados como jugos de frutas, aceites esenciales, saborizantes, aromatizantes y azúcar morena (sacarosa) etc. (Parra, 2010)



## **6.2.2 Técnicas físicas**

### **6.2.2.1 Secado por congelamiento**

La técnica de aspersión por enfriamiento y congelamiento introducen dispersión de ingredientes solubles en agua en una grasa fundida o cera; esta dispersión se realiza a través de inyectores con calefacción dentro de una cámara a temperatura ambiente o temperatura de refrigeración. (Parra, 2010)

El secado por congelación es una tecnología económica y efectiva, sin embargo causa una alta tasa de mortandad que resulta de deshidratación simultánea, térmica y estrés por oxígeno impuesto a la bacteria durante el proceso de secado (Anal & Singh, 2007).

### **6.2.2.2 Secado por aspersión**

Pedroza Islas (2002) define al secado por aspersión como la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es en general menor a 100  $\mu\text{m}$ , dependiendo de las condiciones de proceso.

Comparando el secado por aspersión con otros métodos, este proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta. Asimismo López y Gómez (2008) encontraron que la mayor eficiencia de encapsulación que se alcanza con el secado por aspersión, se encuentra entre 96 y 100%, valores superiores en comparación con otros métodos. (Parra, 2010)

Los agentes encapsulantes más usados para secado por aspersión han sido: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados), gomas (arábica, mezquite, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína). El tipo de material del agente tiene dominio en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades de flujo,

en las mecánicas y en la vida útil del material deshidratado (Pedroza-Islas & Vernon, 1999)

Parámetros importantes para el secado por aspersión.

Esquivel, Ochoa & Rutiaga (2015) señalan que existen 3 parámetros importantes para el secado por aspersión como lo son:

Temperatura de alimentación: la temperatura de alimentación modifica la viscosidad de la emulsión a secar. Al aumentar la temperatura de alimentación la viscosidad y tamaño de gota decrecen, pero las altas temperaturas pueden provocar una volatilización o degradación de algunos ingredientes sensibles al calor.

Temperatura de aire de entrada: de la temperatura de entrada depende que se lleve a cabo el secado sin que el producto presente daño alguno o crear riesgos en la operación. La temperatura de aire de entrada es directamente proporcional a la velocidad de secado de las microcápsulas y al contenido de agua final.

Temperatura de aire de salida: esta temperatura depende de la temperatura de entrada.

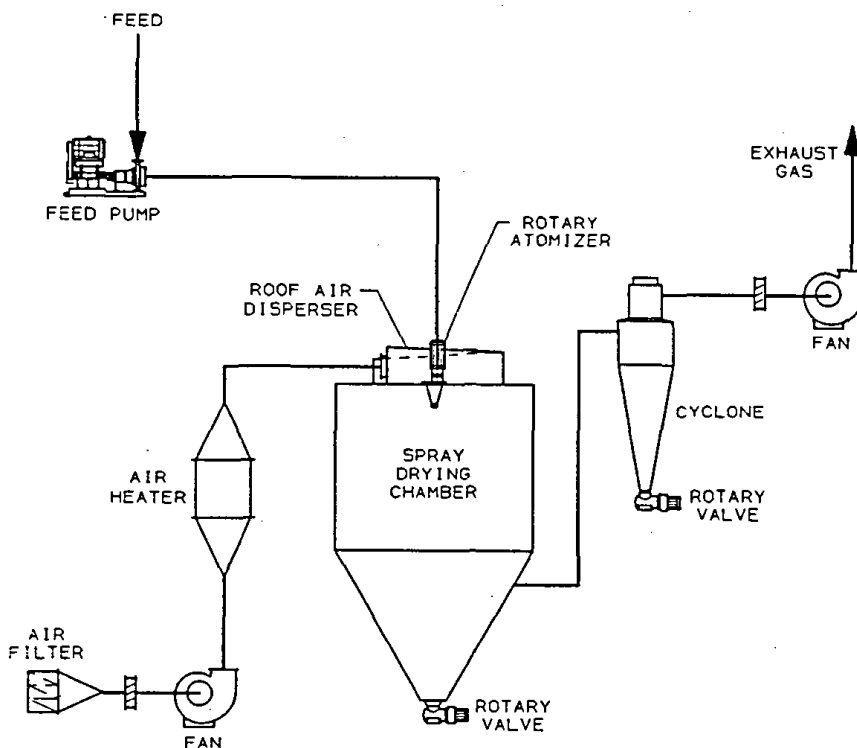
Fases del secado por aspersión: en la figura 6.1 se observa la operación llevada a cabo en un secador por aspersión.

Shaidi & Han (1993) mencionan 4 etapas del secado por aspersión los cuales son:

1. Preparación de la emulsión. El primer paso es seleccionar la material encapsulante, el cual debe tener buenas propiedades de emulsificación, formar buenas películas tener baja viscosidad a altas concentraciones (<500 cps al >45% de concentración de sólidos), mostrar baja higroscopicidad, ser bajo en costo, insípido, estable en la alimentación,
2. Homogenización de la dispersión. A continuación de la adición de un emulsificador, la dispersión calentada frecuentemente se homogeniza antes del secado por aspersión. Las soluciones solubles en aceite y en agua pueden encapsularse mediante el tratamiento de homogeneización. Parece ventajoso

el homogeneizar las emulsiones que alimentan el secador. El producto consiste en una matriz homogéneamente combinada del polímero que atrapa el núcleo.

3. Atomización de la emulsión de alimentación. Los parámetros de atomización tienen un efecto importante en la distribución del tamaño de la partícula resultante, sin embargo algunos autores como Reineccius, & Coulter (1969) muestran que no tiene efecto el tamaño de partícula en la encapsulación de sabores, mientras que Chang, Scire & Jacobs (1988) indica que hay un tamaño óptimo para la retención de sabores. Las partículas pequeñas frecuentemente son difíciles de dispersar y flotar en la superficie del líquido.
4. Deshidratación de las partículas atomizadas. A medida que las partículas atomizadas se ponen en contacto con el medio gaseoso estas reciben una forma esférica.



**Figura 1.1.** Operación típica de secado por aspersión que consiste en un secado con cámara equipada con un atomizador, calentador de aire, ventilador y ciclón para recuperación del producto. Fuente Shaidi & Han (1993)

### **6.3 Agentes empleados en la encapsulación**

Los materiales más usados para encapsular son maltodextrina, aislado de proteína de soya, aislado de proteína de lactosuero, goma arábica, gelatina, grasas, aceites, ceras, alginato de calcio, almidones, nylon, ciclodextrina. (Robert & Gorena, 2010; Parra, 2010). Nedovic (2011) menciona que los agentes encapsulantes deben ser de grado alimenticio, biodegradables y capaces de formar una barrera interna entre la fase y su entorno, también señalan que la mayoría de los materiales usados en la encapsulación en el rango de alimentos, son biomoléculas.

La retención del núcleo en la capsula es dirigido por factores vinculados a la naturaleza química del mismo, incluyendo peso molecular, funcionalidad química, polaridad y relativa volatilidad a los atributos del material encapsulante y a la clase y al criterio del proceso de encapsulación (Madene et al., 2006)

El agente encapsulante debe reunir ciertas propiedades que van a depender en gran medida de las características químicas del material que se pretende encapsular, su empleo, la naturaleza de almacenamiento y proceso al que se someterá. Entre tales características destacan: baja viscosidad a altas concentraciones, baja higroscopicidad para proporcionar una fácil manipulación y eludir el apilamiento del encapsulado, capacidad de dispersar el material activo y estabilizar la emulsión producida, insoluble e incapaz de reaccionar con el componente bioactivo, el encapsulante debe ser soluble en el producto alimenticio final, tener la capacidad de proteger el componente bioactivo de condiciones ambientales (oxígeno, pH, luz, humedad e ingredientes reactivos), capacidad de mantener los componentes bioactivos dentro de la capsula durante el procesamiento o diversas condiciones de almacenamiento, sabor insípido, poseer bajo costo y permitir la liberación completa de los materiales usados en la encapsulación. (García & López, 2012; Kashappa & Hyun, 2007; Sandoval & Rodríguez, 2004).

### **6.3.1 Polisacáridos**

Nedovic (2011) alude que los agentes encapsulantes que utilizan ampliamente en el rango de alimentos son los polisacáridos, como son el almidón y sus derivados maltodextrina, povidexrosa, amilopectina., jarabes, entre otros.

Yañez & Salazar (2002) mencionan que los almidones modificados, las Maltodextrinas y las gomas son empleados como materiales pared en los recubrimientos.

La temperatura de transición vítrea (Tg) son propiedades de varios polímeros, Champagne & Fustier (2007) consideran que la Tg es esencial en la estabilidad de los productos entre ellos los polisacáridos, por lo mismo recomiendan las matrices vítreas amorfas por su mayor estabilidad gracias a la baja movilidad de agua de las matrices debido a que frena la difusión de oxígeno causante de alterar la estabilidad de componentes bioactivos.

Sandoval & Cañetas (2016) consideran a los polisacáridos como una coraza adecuada durante procesos de alta temperatura gracias a su estabilidad a la temperatura comparando con agentes encapsulantes elaborados a partir de lípidos o proteínas que llegan a derretirse o desnaturalizarse.

Estos materiales para encapsulación son empleados frecuentemente debido a sus propiedades favorables de emulsificación, son capaces de formar películas, son solubles en agua, presentan baja viscosidad en altas concentraciones, son biodegradables y tienen bajo costo. (Villacrez & Carriazo, 2013).

### **6.3.2 Lípidos**

Los lípidos empleados en el proceso de microencapsulación son ceras, parafinas, tristearina, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, aceites y grasas)

Las ceras se utilizan frecuentemente en la encapsulación para productos alimenticios, particularmente en ingredientes solubles en agua, las ceras comestibles

son más resistentes a la conducción de humedad que otros materiales de recubrimiento lipídicos como no lipídicos. . Los monoglicéridos acetilados muestran un comportamiento similar a la cera, como un sólido flexible, las propiedades de barrera de este material aumentan cuando crece el grado de acetilación, debido a que se eliminan grupos hidroxilos libres responsables de relacionarse directamente con la migración de agua u otras moléculas polares pequeñas. Por otro lado, la lecitina ha sido usada en la encapsulación de alimentos sensibles al calor debido a que la formación de capsulas de lecitina pueden realizarse a temperaturas relativamente bajas. La combinación de lecitina con otros materiales encapsulantes puede cambiar la estructura de la microcápsula formada (Shahidi & Han, 2009).

#### **6.3.4 Gomas**

Las gomas son generalmente insípidas, aunque llegan a destacar en el gusto y sabor de alimentos, son solubles, de baja viscosidad, poseen características de emulsificación y son muy versátiles para la mayoría de los métodos de encapsulación (Madene, Scher y Desobry, 2006; Murúa, Beristain y Martínez, 2009). Entre las características deseadas de las gomas para emplearlas como recubrimiento, destacan: capacidad de estabilizar la emulsión, retener compuestos volátiles y protegen la capsula contra la oxidación (Sandoval & Rodríguez, 2004).

Pasquel (2001) define a una goma como cualquier polisacárido que se solubiliza en agua, que se extrae a partir de vegetales terrestres o marinos o de microorganismos, las cuales son capaces de incrementar su viscosidad cuando están involucradas en una solución y/o forman geles.

Sandoval & Cañetas (2016) citan que la producción de gomas en México es limitada. Aunque se tienen concesiones para la producción de alginato las empresas encargadas de dicho proceso, solo utilizan una mínima parte de las algas para emplearlas como alimento de abulón sin explotar la extracción de alginato.

### **6.3.5 Proteínas**

Acerca de las proteínas Ariyaratna & Karunaratne (2015) mencionan que el empleo de proteínas para recubrimiento es un tema interesante debido a su biodegradabilidad, ausencia de toxicidad y reacciones colaterales lo que los hace biocompatibles, tiene ventajas nutricionales, además son reconocidos como seguros en aplicaciones de alimentos.

Existen diferentes fuentes para obtención de proteína tanto de origen animal como origen vegetal (garbanzo, soya, chicharos y maíz) y lácteas, lo que ha involucrado en el estudio para la formación de microcápsulas. Las aplicaciones de las proteínas en la industria de los alimentos generalmente se limitan a proteínas de soya. (Ariyaratna & Karunaratne, 2015)

Shahidi & Han (2013) menciona que proteínas como la gelatina son buenas formadoras de películas, forman geles térmicamente reversibles cuando las suspensiones acuosas calientes se enfrían, por otro lado Favaro & Santana (2010) mencionan que también tienen buenas propiedades emulsificantes, son solubles en agua, comestibles y biodegradables.

### **6.3.6 Fuentes de obtención de agentes encapsulantes**

Encontrar nuevas alternativas en materiales para encapsulación es importante ya que con ello se pueden reducir costos así como se pueden encontrar materiales con características fisicoquímicas de acorde al material a encapsular.

Se sabe que las maltodextrinas y los sólidos de jarabe de maíz se distinguen por no estabilizar emulsiones con los sabores, por lo que conserva en bajas proporciones los compuestos volátiles, en este caso el almidón modificado tiende a corregir las cualidades de emulsificación, la desventaja es que tiene baja protección contra la oxidación durante el almacenamiento. Sin embargo la goma acacia mejora esas propiedades al estabilizar la emulsión, retener compuestos volátiles y protege las

cápsulas contra la oxidación y si se trabaja en conjunto como mezcla goma y maltodextrinas se reducen costos (Sandoval & Rodríguez, 2004)

Se considera un área de investigación de materiales encapsulantes alternativos y de bajo costo para encapsular sabores que pueden tener la misma eficiencia de la goma arábica, como es la goma de mezquite que se atribuye como un buen agente encapsulante. Beristain y Vernon (1995) encontraron una eficiencia del 93.5% de encapsulado de aceite de cascara de naranja con una mezcla de 60% goma arábica y 40% goma de mezquite (Kashappa & Hyun, 2005).

Betancur & Aguirre (2011) llevaron a cabo la encapsulación de papaína con goma arábica de flamboyán empleando el método de gelificación iónica. Sandoval (2015) encapsuló fracciones polipeptídicas y como material protector empleó goma nativa de *Salvia hispánica* (chía) con alginato de sodio. Los atributos de usar estos materiales es que provienen de fuentes que se pueden obtener de manera sencilla y bajo costo si se compara con las gomas comerciales, además de que se usa en un gran variedad de materiales a encapsular (Ramírez, 2017).

Nazzarro et al. (2012) indica que el desarrollo de un sistema de encapsulación exitosa para su aplicación está basado en la necesidad de un buen conocimiento sobre la estabilidad de los componentes o biomoléculas a ser encapsuladas (núcleo), las propiedades de los materiales usados para encapsulación (matriz) y lo favorecedor del sistema encapsulante.

Por otro lado Nedovic (2011) detalla que los criterios más importantes para la selección de un agente encapsulante son las funciones que el encapsulado debe proporcionar al producto final, la aptitud frente a las restricciones del material de recubrimiento, la concentración de los encapsulados, el método de liberación y los costos.

Entre las fuentes de obtención de agentes encapsulantes se encuentra la soya, obteniendo aislado de proteína (Robert, Gorena, 2010), almidón modificado a partir de maíz ceroso, garbanzo obteniendo aislado de proteína, yema de huevo y semilla de soya para extraer lecitina, flamboyán para extraer goma carboximetilada, chia



para la obtención de goma, pectinas y aislados proteicos provenientes de la semilla de soya (Ramírez, 2017). Nazzarro (2012) indica que las Maltodextrinas más comunes empleadas en microencapsulación se obtienen por hidrólisis ácida de varios almidones como maíz, papa, entre otros.

### **6.3.7. *Cajanus cajan***

El guandul (*Cajanus cajan*) es una planta leguminosa, se da anualmente, es resistente, muy adaptable, resiste las temperaturas altas más que otros cultivos, es de rápido crecimiento. (Akande & Abubakar, 2010). En la figura 1.2 se muestra la semilla de la planta *Cajanus cajan*. El guandul es usado en alimentos, piensos y combustible. Singh (1990) reporta que esta semilla contiene un perfil de aminoácidos similar al de soya.



**Figura 1.2** Semillas de *Cajanus cajan*

Akanke & Adegbola (2010) evaluaron la semilla de guandul y reportaron que contiene materia seca (95.89-96.34%), proteína cruda (21.03-21.07%), extracto etéreo (4.43-5.96%), fibra cruda (7.16-7.52%) y ceniza (3.76-4.02). Por otro lado Salunkhe et al., 1986 reportan que el guandul es una rica fuente de proteína, carbohidratos y minerales. El contenido de proteína en los granos cultivados de guandul está en el rango de 17.9 y 24.3 g/100 g por cada muestra de grano (Akande & Abubakar, 2010).

Por lo tanto la semilla se vuelve atractiva para extracción de proteína, y también de goma por su alto contenido en carbohidratos.

#### **6.4 Aplicaciones de la microencapsulación**

Ramírez Ortiz (2017) señala que la encapsulación hace más fácil la transportación de moléculas bioactivas o nutraceuticos (antioxidantes, minerales, vitaminas, fitosteroles, luteínas, ácidos grasos, licopeno, etc.), así como de células vivas (probióticos). (Ramírez, 2017)

Dubey et al., (2009) señala que la microencapsulación protege distintos nutrientes y conserva compuestos bioactivos o antioxidantes en frutas y vegetales, por lo que se han realizado numerosos estudios donde utilizan esta técnica para la conservación de los compuestos mencionados.

##### **6.4.1 Encapsulación de microorganismos**

La FAO 2001 define los probióticos como microorganismos vivos, que en cantidades idóneas, aportan beneficios a la salud del consumidor. El manejo de la microflora intestinal con productos probióticos aseguran enfoques que apoyen la inmunología humana, la digestión, la absorción de nutrientes, la producción de vitaminas, así como la reducción de toxinas, de mismo modo para prevenir enfermedades relacionadas con el intestino, cardiovasculares, entre otros. (Shinde, Sun & Brooks, 2013).

Los probióticos son muy sensibles a la variación de estrés mecánico, pH, medio de transporte así como a las enzimas digestivas en el estómago, es por ello que la microencapsulación es un medio ideal para la conservación de los microorganismos ya que estos tienen que sobrevivir al proceso alimenticio, almacenamiento y llegar al destino final como es el tracto digestivo, por ello el encapsulamiento proporciona protección a los ingredientes activos, como estabilidad en el producto final y durante el proceso al que se va a someter (Nedovic et al., 2011).

El quitosano se usa en la encapsulación de probióticos que se mezclan con otros polisacáridos. Se encapsuló *Escherichia coli* DH5 con una mezcla de alginato-quitosano y se ha alcanzado una estabilidad mecánica y química de las cápsulas al simular el camino por el tracto intestinal (García & López, 2012).

Se encapsularon esporas de *Penicillium roqueforti* con una matriz recubrimiento de grasa de leche, el microentorno creado por las microcápsulas favoreció la producción de metil cetona por enzimas de esporas (Shahidi & Han, 2009).

Se ha encapsulado *L. acidophilus* empleando como material de recubrimiento alginato, inulina y goma xantana, la encapsulación mantuvo la viabilidad del prebiótico en jugo de zanahoria por 8 semanas de almacenamiento a 4°C, por si fuera poco el microorganismo se mantuvo viable a la simulación del paso por el tracto digestivo (García & López, 2012).

#### **6.4.2 Encapsulación de saborizantes**

En la producción y desarrollo de sabores, en general los compuestos utilizados en la industria son en su mayoría líquidos a temperatura ambiente. Estos compuestos del sabor suelen ser sensibles al aire, luz, irradiación y temperaturas elevadas. La microencapsulación de sabores proporciona un sólido, quien reduce la volatilidad y disminuye la oxidación y facilita su manipulación en la incorporación en alimentos secos (Shahidi & Han, 2009).

Shahidi & Han (2009) menciona que algunos sabores encapsulados comúnmente son aceites cítricos, aceites de menta, cebolla y ajo, oleorresinas de especias y especias enteras. Los aceites cítricos son muy susceptibles a oxidación, este deterioro provoca sabores desagradables. Es por ello que se encapsulan, por ejemplo en una matriz de maltodextrina que proporciona mayor estabilidad al aceite cítrico. Por otro lado Niebla (2009) expone que los extractos de soya, hierbas amargas y aceites omega 3 son conocidos por sus aromas y sabores desagradables,

razón por la cual los consumidores se alejan de estos alimentos y entra en proceso la microencapsulación para revestir sabores y aromas desagradables.

Los materiales usados en saborizantes pueden ser carbohidratos o lípidos, esto va a depender de la aplicación que se le dé al producto final, algunos sabores son más estables en carbohidratos que se solubilizan en agua, mientras que otros son más estables en cubiertas elaboradas con lípidos. De esto depende el tipo de liberación que se desea, sea una liberación paulatina o una liberación repentina (Niebla, 2009)

#### **6.4.4 Encapsulación de principios activos vegetales**

Villacrez et al. (2013) encapsuló por secado por aspersión a la fruta de la mora (*Rubus glaucus* Benth), esta fruta tropical tiene un alto contenido de antocianinas y agradable aroma. La encapsulación ayudó a preservar las características sensoriales como el color, olor y sabor del fruto fresco. En esta investigación utilizaron como agentes encapsulantes maltodextrina, goma arábiga, almidón de maíz, almidón de yuca, Capsul TA® y Hi-Cap™ 100, así como la combinación entre 3 agentes.

Robert et al., (2010) encapsuló polifenoles y antocianinas del jugo de granada (*Punica granatum*) así como extractos etanólicos, como agente encapsulante emplearon maltodextrina o aislado de proteína de soya por secador por aspersion. Se probó la estabilidad para cada sistema, los cuales fueron sometidos a 60 °C en estufa por 56 días. El resultado de este estudio mostro que los polifenoles encapsulados fueron significativamente mejores en matriz de aislado de proteína de soya como fue en antocianinas comparada con matriz de maltodextrina.

Los polifenoles son de suma importancia en la calidad y seguridad de los alimentos, así como para la salud humana. En la ciencia de los alimentos su estabilidad puede mejorarse usando la encapsulación y secado por aspersion, que promete su protección contra el oxígeno, el agua o cualquier factor que afecte su estabilidad (Nazarro et al., 2012). Nedovic et al., (2011) menciona otro beneficio de la microencapsulación en compuestos fenólicos como es el enmascarar las

sensaciones desagradables que se perciben durante su consumo así como su sabor y astringencia.

Los alimentos tienden a ser empleados como medio de transporte ideal para la entrega de compuestos bioactivos y micronutrientes, dentro de los cuales de mucha importancia encontramos los antioxidantes, omega 3, fibra, probióticos, vitaminas, minerales (López, 2012).

### **6.5. *Crotalaria longirostrata***

El “chipilín”, corresponde a la especie *Crotalaria longirostrata* (fig.6.3), perteneciente a la familia de las Fabáceas, arbusto con origen en el sur de México y Centroamérica. *C. longirostrata* es considerado un alimento funcional, ya que además de ser nutritivo se le ha determinado actividad antioxidante, tiene gran aporte de proteínas y fibra dietética, dicha actividad antioxidante se debe a compuestos bioactivos que son de mucho beneficio a la salud (Castaneda, 2017).



**Figura 1.3.** De lado izquierdo se observa el arbusto de *Crotalaria longirostrata*, de lado derecho las hojas en estado fresco.

Menchù & Mendez (2007) presentan en la tabla 6.1 donde describe la composición química del chipilín, en hoja y punta.

**Tabla 1.1.** Composición química del chipilín en hoja y punta. Menchù & Mendez (2007)

<i>Crotalaria longirostrata</i> hojas y puntas		
Agua	81,60 %	Jimenez et al., (2015) reportan los componentes fen
Energía/kcal	56	
Proteína	7,00 g	
Grasa Total	0,80 g	
Carbohidratos	9,10 g	
Fibra dietética total	3,24 g	
Ceniza	1,5 g	
Calcio	287 mg	
Fosforo	72 mg	
Hierro	4,70 mg	
Tiamina	0,33 mg	
Riboflavina	0,49 mg	
Niacina	2,00 mg	
Vitamina C	100 mg	
Vitamina A equiv. a Retinol	667 mg	
Fracción comestible	0,46 %	

ólidos de *Crotalaria longirostrata* con un valor de 3.38 mg de GAE/gFW y de flavonoides con 164.53 µg CE/g FW. FW como peso fresco.

## VII. METODOLOGIA

El extracto de chipilín fue suministrado por el laboratorio de biotecnología del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Las hojas de *Crotalaria longirostrata* fueron secadas, molidas y sometidas a extracción metanólica, evaporación en rotavapor, resuspensión en agua y liofilizado.

### 7.1 Concentrado de proteína de semillas de *Cajanus cajan*

La extracción de proteína se hizo según la metodología por Robles Flores (2017). Se desengrasó la harina en éter etílico con una relación (3:1) éter: harina, en agitación constante durante 8 horas. Posteriormente la harina desengrasada se puso a evaporar el éter y secar. Se preparó una solución de  $H_3BO_3$  al 5% en relación 1:15 (ácido: harina), se homogenizó la mezcla y seguido se subió el pH a 10.5 con NaOH 2M y se mantuvo en agitación por 30 minutos a temperatura ambiente. Se decantó la solución y se reservó el precipitado. Rápidamente se disminuyó el pH al sobrenadante hasta 4.5 con  $H_2SO_4$  (0.5%) y se dejó en agitación por 15 minutos. La solución se centrifugó a 3,000 rpm a 4 °C por 15 minutos. El precipitado obtenido se congeló con nitrógeno líquido y se liofilizó a -41 °C y 0.025 mbar.

### 7.2 Extracción de goma de semillas de *Cajanus cajan*

La extracción de goma se hizo conforme al método propuesto por Robles (2017). El precipitado obtenido durante el aislado de proteína se secó a una temperatura de 60°C por 6 horas. Una vez seco, se trituró en una licuadora marca Osterizer. Se diluyó en una solución harina-agua acidificada (pH 3.5) con relación (1:15), se calentó a 70 °C por dos horas en agitación constante. La solución se dejó sedimentar por dos horas aproximadamente, el sobrenadante se diluyó en alcohol etílico 96° en una proporción de alcohol-sobrenadante (2:1). Se recuperó la goma de manera manual, se congeló con nitrógeno líquido y se liofilizó a -41°C y 0.025 mbar.

### **7.3 Extracción de pectina de cáscaras de cacao**

La harina de cascara de cacao fue suministrada por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). Se trabajó con relación 1:50 (harina: solución ácido cítrico), ácido cítrico 0.1 N con pH 2.2, sometido a calentamiento y manteniendo la temperatura a 90° C por 90 min y agitación constante. Posteriormente se centrifugó en una centrifuga refrigerada marca ThermoScientific SL40R a 4500 rpm por 15 min a 4°C. Al sobrenadante le fue agregado etanol al 96% en relación 1:1 y reposado por 16 horas en una cámara de frio. Pasadas las 16 horas se centrifugó por 20 min a 4500 rpm a 4° C, se filtró y se recuperó el precipitado, seguido de tres lavados manuales con etanol al 96%. Se procedió a secar a 45° C por 48 horas en un horno de usos múltiples marca HERA therm.

### **7.4 Análisis fisicoquímicos de la harina de gandul, harina de cacao, aislado de proteína y goma de guandúl y pectina de harina de cacao**

#### **7.4.1 Determinación de cenizas**

La determinación de cenizas a los cinco productos fue realizada según la NMX-F-066-S-1978.

#### **7.4.2 Determinación de humedad según la NMX-F-083-1986.**

La determinación de humedad fue realizada según la NMX-F-083-1986 con algunas modificaciones. Con capsulas de aluminio, con 2 g de muestra, registrado con el peso de la cápsula. El secado se llevó a cabo por medio de una estufa de secado marca NOVATECH puestas por 4 horas a 105° C, posteriormente se llevó a un desecador por 1 hora, y se pesó. Se obtuvieron los resultados mediante la ecuación

$$7.1: \quad \% \text{ Humedad} = \frac{(P_1 - P_2)}{W} \times 100 \quad \text{Ecuación 7.1}$$



En donde

$P_1$  = Peso del recipiente de la muestra húmeda, en gramos.

$P_2$  = Peso del recipiente con la muestra seca, en gramos.

$W$  = Peso de la muestra, en gramos.

#### 7.4.3 Determinación de extracto etéreo

Se determinó extracto etéreo por medio del sistema de extracción Soxhlet, con base en la NMX-F-089-S-1978, considerando algunas modificaciones. Previamente se puso a peso constante el matraz con cuerpos de ebullición, se prepararon sobres de papel filtro para colocar dos gramos de muestra, se utilizó como solvente 160 mL de éter etílico, y se mantuvo por 4 horas en reflujo. Se evaporó el éter del matraz en un rotavapor marca BÜCHI y se metió al horno a peso constante. Los resultados de extracto etéreo se obtuvieron por medio de la ecuación 7.2:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{(P-p)}{M} * 100 \quad \text{Ecuación 7.2}$$

En donde

$P$  = Peso del matraz con grasa, en gramos.

$p$  = Peso del matraz sin grasa, en gramos.

$M$  = Peso de la muestra, en gramos.

#### 7.4.4 Determinación de proteína

Se determinó proteína cruda por el método Kjeldahl con la unidad de digestión automática y unidad de destilación marca Velp Científica. La digestión con se basó en el calentamiento del tubo Kjendahl con  $H_2SO_4$  concentrado, pastillas catalizadoras y 0.5 g de muestra a 420° C por 60 min, seguido de un enfriamiento hasta 55° C y el agregado de 75 mL agua. El destilado fue con 50 mL de NaOH al

40% y la titulación con  $H_3BO_3$  con indicadores y HCl 0.2 N. La proteína total se obtuvo mediante las ecuaciones 7.3 y 7.4:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V * N * 0.014}{m} * 100 \quad \text{Ecuación 7.3}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} * Fc \quad \text{Ecuación 7.4}$$

Donde

$V$  = Volumen de HCl gastado

$N$  = Normalidad de HCl

$m$  = Peso de la muestra, en gramos

Fc= Factor de conversión= 6.25 para vegetales según el manual de la unidad de destilación marca Velp Scientifica

#### 7.4.5 Determinación de fibra cruda

Se determinó fibra cruda por medio del equipo FT122/121 Fibertec<sup>TM</sup> marca FOSS. Se prepararon los crisoles con filtro marca FOSS con la celita por medio de la calcinación a 525 °C por 3 horas. Se pesó 0.5 g de muestra en el crisol preparado a peso constante. La reacción se llevó a cabo con 150 mL de  $H_2SO_4$  y NaOH al 1.25% en columna por 30 min en ebullición cada solución por separado, usando propanol como antiespumante, realizando lavados con agua caliente al finalizar la reacción. Se llevó a la estufa por 5 horas a 105 °C, se pesó cada crisol. Posteriormente se calcinó la muestra en mufla marca FELISA por 3 horas a 525° C y se pesó. Se determinó la cantidad de fibra cruda mediante las ecuaciones 7.5 y 7.6:

$$\%FC = \frac{(crisol + celita + residuo) - (crisol + celite + cenizas de residuo) + blanco}{masa de la muestra} * 100 \quad \text{Ecuación 7.5}$$

$$\text{Blanco} = (\text{crisol} + \text{celite} + \text{residuo de reactivos}) - (\text{crisol} + \text{celite} + \text{ceniza de residuo de reactivos})$$

**Ecuación 7.6**

#### **7.4.6 Determinación de pH**

Se determinó pH con el equipo potenciómetro marca HANNA con dilución 1:5 muestra-agua libre de  $CO_2$ .

#### **7.5 Determinación de contenidos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu**

Se empleó la metodología descrita por Singleton et al, (1999) con algunas modificaciones. Para la elaboración de la curva patrón empleada durante la cuantificación de polifenoles se prepararon soluciones estándar en concentraciones comprendidas entre 0.1 y 0.8 mg/mL, disueltas en agua, utilizando ácido gálico como estándar. Para la cuantificación de fenoles en el extracto liofilizado de chipilín y pectina de harina de cacao con una concentración de 20 mg/mL y 2.5mg/mL, respectivamente, se tomaron 40  $\mu$ L de cada solución, se depositó en su respectivo tubo y se agregaron 3 mL de agua más 200  $\mu$ L de Folin Ciocalteu, se agitó en vórtex y se dejó reposar por 5 minutos, posteriormente a cada tubo se le agregaron 600  $\mu$ L de carbonato de sodio al 20%, seguida de otra agitación en vórtex, se reposó por dos horas en completa oscuridad. El blanco fue preparado de la misma manera, cambiando únicamente la solución estándar por agua. Se procedió a leer la absorbancia en espectrofotómetro marca BECKMAN COULTER® DU 730 con una longitud de onda de 765 nm.

#### **7.5.1 Cuantificación de compuestos bioactivos totales (fenoles totales)**

Para la cuantificación de compuestos bioactivos en el microencapsulado se siguió la metodología descrita por Robert et al., (2010). Se pesaron 200 mg de microencapsulado y fue añadida a 2 mL de una solución de metanol: ácido acético:

agua (50:8:42) v/v/v. Posteriormente fue agitada en vórtex por 1 min y sometido al sonicador dos veces por 20 min. La suspensión fue centrifugada por 5 min a 4 500 rpm. Se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de fenoles siguiendo la metodología descrita anteriormente.

### **7.5.2 Cuantificación de compuestos bioactivos sobre la superficie**

Para la cuantificación de compuestos bioactivos sobre la superficie se siguió la metodología descrita por Robert et al., (2010). 200 mg de microencapsulado fueron añadidos a 2 mL de una solución etanol: metanol (1:1). La suspensión fue agitada en vórtex por un minuto y centrifugada por 5 min a 4500 rpm. Se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de fenoles siguiendo la metodología descrita anteriormente.

### **7.6 Evaluación de actividad antioxidante por el método de radical libre de DPPH**

Se realizó la evaluación de actividad antioxidante del extracto metanólico de chipilín por 2,2 - difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH), siguiendo la metodología descrita por Shekhar & Anju (2014) Se preparó una solución de DPPH 0.1 mM en metanol. Se trabajó a concentraciones de 0.11-0.27 mg/mL y 1-20 mg/ mL en extracto metanólico de chipilín y en polvo microencapsulado, respectivamente, preparadas en metanol. De estas soluciones se tomaron 3 mL de cada una y se agregó 1 mL de DPPH, para la preparación del control negativo se tomaron 3 mL de metanol y 1 mL de DPPH, se agitó en vórtex y se incubó por 30 min para posteriormente leer con una longitud de onda de 517 nm. Para evaluar la concentración requerida de polvo microencapsulado para inhibir el 50% del radical libre de DPPH (Guija et al. 2015) se graficó usando una curva logarítmica de inhibición. Se trabajó en condiciones de poca luz. La absorbancia menor representa una alta actividad del radical libre de DPPH (Shekhar & Anju, 2014). El porcentaje de inhibición fue obtenido por medio de la ecuación 7.7

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = \frac{\text{abs control negativo} - \text{abs de la muestra}}{\text{abs control negativo}} * 100$$

**Ecuación 7.7**

### 7.7 Eficiencia de microencapsulación y rendimiento del secado

El porcentaje de compuestos bioactivos sobre la superficie y la eficiencia de microencapsulación de compuestos bioactivos microencapsulados fueron calculados siguiendo las ecuaciones 7.6 y 7.7 empleadas por Robert et al. (2010) de la siguiente manera:

$$SB(\%) = \frac{\text{Compuestos biactivos sobre la superficie}}{\text{total teorico de compuestos biactivos}} * 100 \quad \text{Ecuación 7.8}$$

$$ME\% = 100 - SB(\%) \quad \text{Ecuación 7.9}$$

El rendimiento de secado se obtiene empleando la ecuación 7.8

$$\text{Rendimiento } (\%) = \frac{\text{g de polvo obtenido}}{\text{g de polvo encapsulado}} * 100 \quad \text{Ecuación 7.10}$$

### 7.8 Índice de solubilidad, absorción de agua y capacidad de hinchazón de las microcápsulas

Se determinaron índice de solubilidad, absorción de agua y capacidad de hinchazón de las microcápsulas según Paini et. al., (2015) con algunas modificaciones. Se pesó 1 g del microencapsulado en tubos falcon cónicos de 50 mL de capacidad. Se adicionaron 12 mL de agua, cada tubo se agitó vigorosamente en un vórtex hasta homogeneizar y se dejó en baño María a 30° C por 30 minutos. Seguido se llevó a centrifugar a 3500 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se colocó en una caja Petri puesta previamente a peso constante y se mantuvo a 105 °C durante toda la noche, para posteriormente obtener el peso seco del sobrenadante por diferencia de peso. Por otro lado se obtuvo el peso del precipitado fresco por diferencia de peso para los posteriores cálculos. Las ecuaciones que se emplearon para obtener los resultados son las siguientes:

Índice de solubilidad en agua

$$WSI = \frac{\text{Peso seco sobrenadante}}{\text{Peso inicial microcapsulas}} * 100$$

**Ecuación 7.11**

Capacidad de hinchazón

$$\text{Capacidad de hinchazòn} = \frac{\text{Peso seco sobrenadante}}{(\text{Peso inicial microcapsulas})(100 - WSI)}$$

**Ecuación 7.12**

Índice de absorción de agua

$$WAI = \frac{\text{Peso fresco sedimento}}{\text{Peso inicial microcapsulas}}$$

**Ecuación 7.13**

## **7.9 Densidad aparente**

Se determinó densidad aparente como describe Fazaeli et al. (2012) con 1 gramo de microencapsulado. En tubos de ensaye graduados, se le agregó 1 gramo de la muestra en polvo y se agitó en vórtex por un minuto. La relación masa-volumen es igual a la densidad aparente, la cual se calculó mediante la ecuación 7.13:

$$\rho = \frac{\text{masa del microencapsulado}}{\text{volumen ocupado por el microencapsulado}}$$

**Ecuación 7.14**

## **7.10 Elaboración de los agentes encapsulantes, preparación de las emulsiones y condiciones del secado.**

Se formuló una emulsión conteniendo 18% de sólidos, los cuales corresponden a maltodextrina, pectina de harina de cacao y extracto metanólico de chipilín, 83.34%, 11.1% y 5.55%, respectivamente. Para preparar una emulsión de 200 mL: en 130 mL de agua fueron disueltos 4 g de pectina, en 50 mL de agua fueron disueltos 30 g de

maltodextrina harina de cacao y en 20 mL de una solución metanol: agua con relación (1:1) fue disuelto 1 g de extracto metanólico de chipilín. Se agregó la solución de maltodextrina a la solución de pectina, seguido se adicionó la solución de extracto metanólico y se mantuvo en agitación en un turrax a 10 000 rpm por 5 min.

Para tener una referencia se preparó un polvo libre de extracto de chipilín. Para la preparación de la emulsión del blanco se agregaron 4 g de pectina en 139 mL de agua y 30 g de maltodextrina en 50 mL de agua.

Las emulsiones fueron secadas en un Büchi Mini Spray Dryer B-290. Las condiciones de secado se llevaron a cabo como describen algunos autores (Sansone et al. 2011; Robert et al. 2010; Favaro 2010) con una temperatura de entrada de 120 °C y temperatura de salida de 65-69 °C, con una alimentación de flujo de aspersion de 3 mL/min, el tratamiento se realizó por duplicado.

El microencapsulado en polvo fue recolectado del fondo del ciclón del secador, pesado y sellado al vacío en una empacadora marca Torrey modelo Evd-8 y guardado en un congelador para su posterior caracterización.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 8.1 Extracción de agentes encapsulantes

En rendimiento de la pectina obtenida de la cascara de cacao, fue en promedio de 4.63%, este resultado es menor a lo reportado por Chan & Cho (2013) con un rendimiento de 5.66%, éstos autores demostraron que al aumentar el tiempo de extracción, aumenta el porcentaje de rendimiento, al igual que la relación harina: ácido ascórbico al ser menor la relación es mayor el rendimiento, por ejemplo, mencionan que una relación de 1:25 genera menores rendimientos que la relación 1:10, cabe mencionar que la extracción realizada en este trabajo se realizó en condiciones similares a las de Chan & Cho (2013), variando únicamente la relación harina: ácido ascórbico la cual se realizó con una relación de 1:50, a este último punto le podemos atribuir la diferencia entre ambos rendimientos.

Los rendimientos fueron obtenidos por medio de la ecuación 8.1.

$$\text{Ecuación rendimiento: } \frac{\text{g obtenidos despues de la reaccion}}{\text{g de harina}} * 100 \quad \text{Ecuación 8.1}$$

Por otra parte, se obtuvo aislado de proteína de la harina de guandul desengrasada con rendimientos de 19.54%, mayor al reportado por Robles Flores (2017) quien reportó valores de rendimiento de 15 %, empleando la misma metodología de extracción. La diferencia de rendimiento se atribuye las condiciones del cultivo y/o a la variedad del guandúl empleado.

Por otra parte, el rendimiento de la goma fue de 3.67% menor al reportado por Robles Flores (2017) con rendimiento de 10%, esto se atribuye probablemente al nivel de pureza de la goma al momento de extraer, combinado con los valores fisicoquímicos obtenidos en la harina de la semilla. Cabe mencionar que la metodología utilizada en la extracción de goma fue la misma empleada por Robles Flores (2017), el nivel de pureza de la goma también pudo deberse a los reactivos empleados, o a la manipulación durante la extracción.





**Figura 1.4** Insolubilización de la pectina en etanol

## **8.2 Análisis proximales de agentes encapsulantes**

En la tabla 1.2 se muestran los resultados de los análisis proximales realizados a la harina, concentrado de proteína y goma de guandul, así como pectina de cáscara de cacao, en donde se observa que el valor de carbohidratos promedio de 56.31% en la harina fue menor a lo reportado por Robles Flores (2017), quien obtuvo 72.3% de carbohidratos obtenido también por diferencia de peso, variando en los porcentajes de proteína total, ceniza y extracto etéreo, cuyos valores fueron de 21%, 3.4 % y 2.9%, respectivamente, mayores a los reportados en este trabajo. Las diferencias se pueden atribuir a la variedad de la semilla y condiciones del cultivo de *Cajanus cajan*, todo ello repercute en los contenidos en proteínas totales y cantidad de minerales presentes en la semilla. Por otro lado Akande et al., (2010) reportan un valor de carbohidratos de 57.77-59.51% quedando dentro del rango reportado en este trabajo.

Debido a cuestiones de tiempo solo se trabajó con un tratamiento en el microencapsulado, empleando maltodextrina y pectina de cascara de cacao. No se pudo emplear el concentrado de proteína y la goma extraída de la harina de guandul.

**Tabla 1.2** Análisis proximales de la harina de cajanus cajan, aislado de proteína, goma y pectina \*Por diferencia de peso

Análisis	HARINA DE GUANDUL	CONCENTRADO DE PROTEINA	GOMA	PECTINA
Humedad (%)	7.50 ± 0.13+	2.96 ± 0.28	11.91 ± 0.16	10.71 ± 0.11
Ceniza (%)	4.73 ± 0.15+	4.54 ± 0.22	7.91 ± 0.15	9.09 ± 0.20
Proteína cruda (%)	24.28 ± 0.26+	66.95 ± 0.72	6.40 ± 0.29	1.63 ± 0.05
Fibra cruda (%)	5.44 ± 0.03	1.83 ± 0.05	1.61 ± 0.09	0.51 ± 0.007
Extracto etéreo (%)	1.71 ± 0.10	1.93 ± 0.57	0.58 ± 0.08	0,62 ± 0.03
Carbohidratos*(%)	56.31 ± 0.05	21.75 ± 0.29	71.57 ± 0.46	77.71 ± 0.46
Rendimiento (%)		19.54	3.67 ± 0.24	4.63 ± 0.10

### 8.3 Cuantificación de polifenoles, actividad antioxidante y eficiencia del microencapsulado

#### 8.3.1. Extracto

Jiménez et al., (2015) obtuvieron como resultado de contenido fenólico 3.38 mg de GAE/g de hoja fresca y tallo del chipilín, mientras tanto Valadez et al. (2017) obtuvieron 5.81±0.03 mg de GAE/g de hoja seca. El contenido de fenoles en el extracto metanólico liofilizado del chipilín fue de 33.84 ± 1.18 mg GAE/g de extracto liofilizado. Se observa un elevado contenido fenólico en el extracto metanólico de las hojas de chipilín.

Para la evaluación de IC50 con el porcentaje de inhibición del radical libre de DPPH en extracto las concentraciones se comprendieron de 0.11-0.27 mg/mL, obteniendo un porcentaje de inhibición con concentraciones comprendidas entre 0.15-0.19 mg/mL, valores por debajo de los reportados por Shekhar & Anju (2014) en hojas de *Ageratum conyzoides* quienes reportaron un IC50 en el rango de 9.3 y 24.8 µg/mL, esto puede deberse a la diferencia de las especies evaluadas, y al tipo de extracción empleado. Si a menor concentración se obtiene el valor de IC50 mayor es la actividad antioxidante.

### **8.3.2 Microencapsulado**

Después de la microencapsulación el contenido de compuestos bioactivos totales presentes fue de  $2.40 \pm 0.09$  mg GAE/g de microencapsulado, y el contenido sobre la superficie de las microcápsulas  $0.58 \pm 0.03$  mg GAE/g de microencapsulado. Con estos resultados y empleando las ecuaciones 4.6 y 4.7, se obtuvo el porcentaje de la eficiencia de encapsulado la cual fue de  $75.42\% \pm 2.57$ .

En la evaluación de IC50 en el microencapsulado se trabajó con concentraciones comprendidas entre 1-20 g/mL, obteniendo un porcentaje de inhibición del 50% entre 10 y 15 mg de encapsulado/ mL de solución, es decir que se requieren de 10 a 15 mg de microencapsulado para inhibir el 50% de los radicales libres que presenta el DPPH.

### **8.4 Eficiencia de la microencapsulación y rendimiento**

La eficiencia de microencapsulación obtenida fue de  $75.42\% \pm 2.57$ , Sansone et al., (2011) reportan una eficiencia de encapsulación de 62.6% - 67.0% con una relación maltodextrina/pectina de manzana/extracto de (10:1:3) empleando 3 diferentes extractos, secado por el método de secado por aspersion, este valor se encuentra por debajo del rango obtenido en este trabajo, bajo las mismas condiciones de operación en el secado, las diferencias pueden deberse a las diferentes fuentes de obtención de las pectinas, la eficiencia de cada una al enlazarse con la maltodextrina y el extracto, debido a los enlaces de ácidos galacturonicos metilados presentes.

Se obtuvo un rendimiento de 46.32%  $\pm$  3.5 con respecto al peso inicial de los sólidos preparados en la emulsión.

### **8.5 Índice de solubilidad, absorción de agua y capacidad de hinchazón de las microcápsulas**

Se obtuvo un índice de solubilidad de 87.4%  $\pm$  0.87 por arriba del rango que reporta Paini et al., (2015) del microencapsulado obtenido por secado por aspersion del orujo de oliva usando como material de encapsulación la maltodextrina, quien obtuvo un rango de 79-87%. Esta diferencia puede deberse a la solubilidad que presenta naturalmente la pectina de cascara de cacao, característica deseable para el proceso de microencapsulacion.

Estos materiales para encapsulación son empleados frecuentemente debido a sus propiedades favorables de emulsificación, son capaces de formar películas, son solubles en agua, presentan baja viscosidad en altas concentraciones, son biodegradables y tienen bajo costo. (Villacrez & Carriazo, 2013).

## IX. CONCLUSIONES

### 9.1 Conclusiones de proyecto

- Es recomendable el empleo de agentes encapsulantes no convencionales empleados en la microencapsulación, ya que al comparar con otros autores la eficiencia de la microencapsulación de extractos metanólicos de *Crotalaria longirostrata*, ésta se encuentra ligeramente por arriba de la bibliografía consultada, mostrando buenos resultados en el empleo de materiales de fuentes de obtención no comunes como lo es la pectina extraída de la harina de cascara de cacao (*T. cacao*).
- Los análisis fisicoquímicos de los materiales para encapsulación como lo es el concentrado de proteína de harina de *Cajanus cajan* y la pectina de *T. cacao* ayudan a caracterizar y comparar con otros materiales de pared empleados en la microencapsulación, para conocer más sobre la naturaleza de los mismos y su posible comportamiento.
- La microencapsulación por secado por aspersión es un método efectivo para proteger compuestos bioactivos como es el extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*, al mostrar un 75.42% de eficiencia de microencapsulado, aunque al momento de evaluar la capacidad antioxidante muestra que requiere de valores relativamente altos de polvo de microencapsulado para inhibir el 50% de los radicales libres presentes en el DPPH.

### 9.2 Recomendaciones y experiencia personal profesional adquirida.

- Al requerir de concentraciones relativamente elevadas de microencapsulado para inhibir el 50% de los radicales libres de DPPH, puede ser necesario considerar el aumento de la concentración de extracto metanólico de chipilín en las emulsiones previas al secado por aspersión, previendo el posible

cambio de eficiencia de microencapsulado, ya que esta eficiencia puede disminuir debido a que a mayor concentración de extracto haya pérdida por no haber sido recubierto por los agentes, o bien puede aumentar por tener mayor presencia de compuestos bioactivos a encapsular a la misma concentración de material de recubrimiento, o como posiblemente se mantenga en el mismo rango de eficiencia.

- Debido a la naturaleza del extracto metanólico de chipilín, este no puede disolverse en agua ya que queda una mayor parte como precipitado teniendo pérdida en la concentración, obteniendo resultados no favorables en los polvos obtenidos después del secado, por lo que es recomendable disolverlo con una pequeña cantidad de metanol al 97% para una completa dilución, aumentando la concentración de extracto por g de polvo microencapsulado.

### **9.3 Competencias desarrolladas**

Durante el desarrollo de este proyecto se desarrollaron competencias que ayudaron en el crecimiento personal y profesional como se muestran a continuación:

- ✓ Compromiso
- ✓ Trabajo en equipo
- ✓ Análisis de problemas y capacidad crítica
- ✓ Manejo de equipos profesionales de laboratorio
- ✓ Conocimiento de fundamentos y nuevas técnicas de trabajo
- ✓ Control
- ✓ Organización
- ✓ Adaptabilidad en un nuevo entorno
- ✓ Comunicación escrita
- ✓ Automotivación
- ✓ Autoconfianza

## **X.FUENTES DE INFORMACIÓN**

Akande K.; Abubakar M.; Adegbola T.; Bogoro S. & Doma U. (2010) Chemical Evaluation of the Nutritive Quality of Pigeon Pea [Cajanus cajan (L.) Millsp.] International Journal of Poultry Science, 9 (1): 63-65.

Anal A. K. & Singh H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science & Technology 18, 240-251.

Ariyaratna I & Karunaratne D. (2015) Use of chickpea protein for encapsulation of folate to enhance nutritional potency and stability. Food and bioproducts processing, 95, 76–82.

Astolfi-Filho Z; Souza A.; Reipert E. & Telis V. (2005) Encapsulação de Suco de maracujá por co-cristalização com sacarose: cinética de cristalização e propriedades físicas. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25, 795-801.

Castaneda B. (2017) Aspectos químicos y bioactivos de dos matrices naturales originarias de El Salvador: “chipilín” y “tenquique”. Instituto Politécnico de Bragança. Bragança. 1-20.

Champagne C. & Fustier P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. Current Opinion in Biotechnology, 18, 184–190.

Chan S. & Choo S. (2013) Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. Food Chemistry 141, 3752–3758.

De Vos P.; Faas M; Spasojevic M & Sikkema J (2010) Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal 20, 292–302.

Dubey R.; Shami T. & Bhasker K. (2009). Microencapsulation Technology and Applications. Defence Science Journal, Vol. 59, No. 1, 82-95.



Esquivel B.; Ochoa L. & Rutiaga O. (2015) Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha* 180 Vol 16(2):180-192.

Favaro C, Santana A.; Monterrey E.; Trindade M. & Netto F. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 24, 336–340.

Fazaeli M; Djomeh Z; Ashtari A. & Omid M. (2012) Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and bioproducts processing* 90, 667–675

Garcia A. & Lopez A. (2012). Biopolímeros utilizados en la encapsulación. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 6-1, 84-97.

Hernández C.; Ventura J.; Cerda R.; Contreras J.; Álvarez G. & Martínez J. (2016) La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, 50 (1), 12-19.

Jiménez D. & Grusak M. (2015) Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods Hum Nutr.* doi: [10.1007/s11130-015-0512-7](https://doi.org/10.1007/s11130-015-0512-7).

Kashappa G. & Hyun J. (2005) Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361–1394.

Laguna J. (2016) Determinación de la actividad biológica y caracterización de extractos del chipilín (*Crotalaria longirostrata*) con potencial aplicación en alimentos. (Tesis de pregrado) Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Saltillo, Coahuila, 7-9.

López A. (2012) Desarrollo de sistemas de encapsulación compuestos para la protección de extractos antioxidantes de yerba mate. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. La Plata, Buenos Aires. 16-27.

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

Menchú M. & Méndez H. (2007) Tabla de composición de Alimentos de Centroamérica. INCAP. 2ª edición. 15-74.

Montes E.; De Paula C. & Ortega F (2006) Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*). *Temas agrarios*, 12, 5 – 12.

Nazzaro F.; Pierangelo O.; Fratianni F.; y Coppola R. (2012) Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 182-186.

Nedovic V.; Kalusevic A.; Manojlovic V.; Levic S. & Bugarski B. (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806 – 1815.

Niebla L. (2009) Evaluación de encapsulamiento de compuestos de sabor en matrices de almidón. (Tesis de posgrado). Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación En Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. Unidad Querétaro, 5-8.

Ortega L.; Rodriguez I.; Leyva J; Cruz M; Silva B; Gonzalez G; Wasim M & Ayala J. (2014) Potential of Medicinal Plants as Antimicrobial and Antioxidant Agents in Food Industry: A Hypothesis. *R: Concise Reviews in Food Science*. doi [10.1111/1750-3841.12341](https://doi.org/10.1111/1750-3841.12341)

Paini M.; Aliakbarian B.; Casazza A; Lagazzo A.; Botter R.; & Perego P. (2015) Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT - Food Science and Technology* xxx, 1e10.

Parra R. A. (2010) Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 63, 5669-5684.

Pasquel A. (2001) Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, v.1, nº 1, 1 – 8.

Pedroza I. R.; Vernon-Carter E.J; Durán C. & Trejo M. S. (1999) Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation I. Microcapsule particle size, morphology and microstructure. Food Research International, 32, 367- 374

Pedroza I. R. (2002) Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. (438-447).

Porras A. & López A (2009) Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 3-1: 121-134.

Ramirez M. (2017) Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. Propiedades Funcionales De Hoy. OmniaScience. 181-211.

Robert P.; Gorena T.; Romero N.; Sepulveda E.; Chavez J. & Saenz C. (2010) Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. International Journal of Food Science and Technology, 45, 1386–1394.

Robles G. (2017) Evaluación de un recubrimiento comestible obtenido a partir de aislado de proteína y goma de cajanus cajan aplicado a fresas (*Fragaria spp.*) (Tesis de posgrado) Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Tuxtla Gutiérrez, 34-65.

Salunkhe D.; Chavan J.; Kadam S. & Reddy N. (1986). Pigeonpea as an important food source. C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 23:2, 103-145

Sandoval A.; Rodríguez E. & Ayala A. (2004) Encapsulación de aditivos para la industria de alimentos. Ingeniería y competitividad, 73-83.

Sandoval V.; Cañetas T.; Peraza G. & Acereto P. (2016) Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. Alimentos Funcionales de Hoy. Barcelona, España: OmniaScience. 181-218.

Sansone F; Mencherini T.; Picerno P.; d'Amore M; Aquino R & Lauro M. (2011) Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *Journal of Food Engineering* 105, 468–476.

Shahidi F. & Han X. (1993) Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6):501-547.

Shekhar T & Anju G (2014) Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves *American Journal of Ethnomedicine*, Vol. 1, No. 4, 244-249.

Shinde T.; Sun D. & Brooks J. (2013) Co-extrusion Encapsulation of Probiotic *Lactobacillus acidophilus* Alone or Together with Apple Skin Polyphenols: An Aqueous and Value-Added Delivery System Using Alginate. *Food Bioprocess Technol.* doi: [10.1007/s11947-013-1129-1](https://doi.org/10.1007/s11947-013-1129-1)

Singleton V; Orthofer R. & Lamuela R. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. Vol. 299

Singh U.; Jambunathan R.; Saxena K. & Subrahmanyam N. (1990) Nutritional Quality Evaluation of Newly Developed High-Protein Genotypes of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). *J Sci Food Agric*,50, 201-209.

Valadez A.; López E.; García R., Ruíz F. (2017) Comparación de dos técnicas de extracción de fenólicos totales y capacidad antioxidante a partir de chipilín (*Crotalaria maypurensis* H.B.K.) *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*; Vol. 2, 481-487.

Villacrez JL.; Carriazo J. & Osorio C. (2013) Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.) Aqueous Extract by Spray Drying. *Food Bioprocess Technol.* doi: [10.1007/s11947-013-1172-y](https://doi.org/10.1007/s11947-013-1172-y).

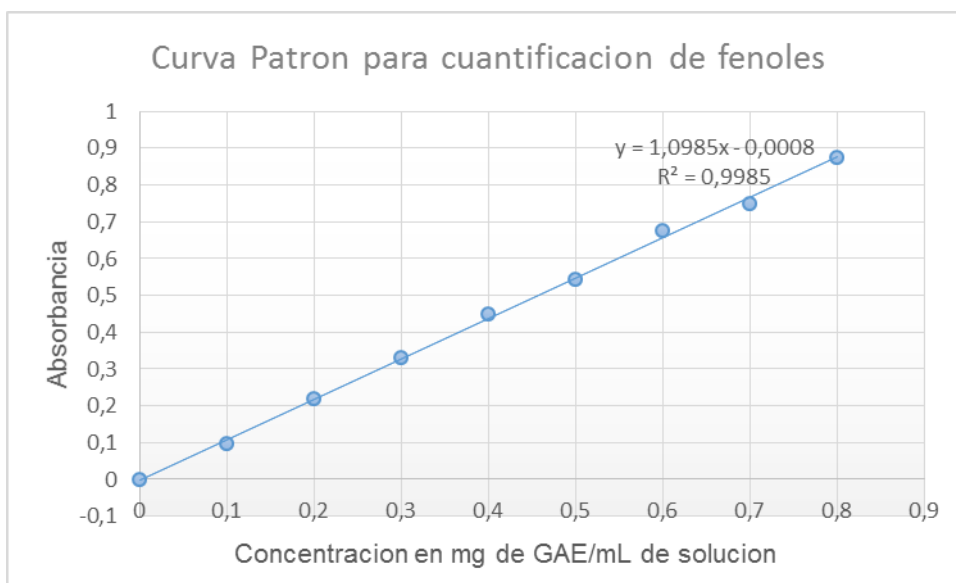
Villamizar L. & Martínez F. (2008) Determinación de las condiciones de microencapsulación de un baculovirus entomopatígeno mediante coacervación con EUDRAGIT S100®. VITAE, 15, 123- 131.

Villena M.; Morales ME, Gallardo V. & Ruiz Martínez M. (2009) Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. Ars Pharm, 50, 43-50.

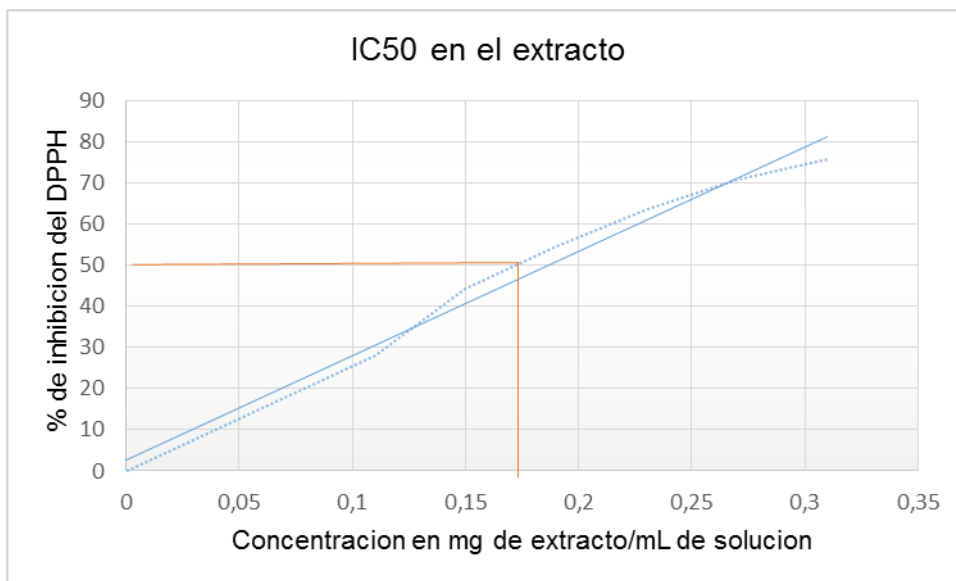
Yáñez J.; Salazar J.; Chaires L.; Jiménez J.; Márquez M. & Ramos E. (2002) Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Mundo alimentario, 24-30.

Zapata S.; Piedrahita A. & Rojano B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. Perspect Nutr Humana;16: 25-36.

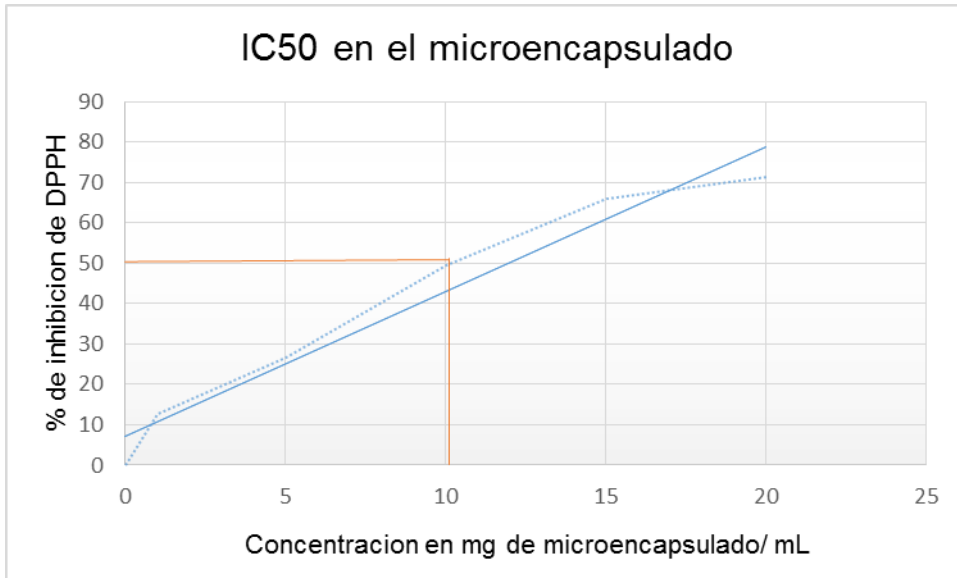
## XI. ANEXOS



**Grafica 1.** Curva patrón cuantificación de contenido fenólico.



**Grafica 2.** Concentración requerida del extracto metanólico liofilizado de chipilin para inhibir el 50% de los radicales libres presentes en el DPPH 0.1 mM.



**Grafica 3.** Concentración requerida del microencapsulado para inhibir el 50% de los radicales libres presentes en el DPPH 0.1 mM.