

UNIVERSIDAD DEL PAPALOPAN

Terra uberrima, mens aperta

Bou Lo-tama, chí jí jú

Campus Tuxtepec

“DESARROLLO DE MICROPARTÍCULAS A PARTIR DE
ALMIDÓN MODIFICADO DE MAÍZ USADO COMO
MATERIAL DE SOPORTE PARA LA ENCAPSULACIÓN DE
COMPUESTOS BIOACTIVOS”

TESIS

Para obtener el título de
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

JAZMÍN SÁNCHEZ RIVERA

Dra. Delia E. Páramo Calderón

Director

Dra. Guadalupe del C. Rodríguez Jimenes

Co-Director

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

ABRIL 2018



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., a 23 de Marzo de 2018

LIC. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES

Sirva la presente para informarle que los miembros de la Comisión Revisora del trabajo de tesis de la **C. JAZMÍN SÁNCHEZ RIVERA** pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos con número de matrícula **12070287**, revisó y aprobó el trabajo de investigación denominado **"DESARROLLO DE MICROPARTÍCULAS A PARTIR DE ALMIDÓN MODIFICADO DE MAÍZ USADO COMO MATERIAL DE SOPORTE PARA LA ENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS"** mismo que será presentado como prueba escrita del acto de recepción profesional, para obtener el Título de Ingeniero en Alimentos.

Por lo anterior y de acuerdo a los lineamientos institucionales, se le da trámite legal para que proceda a su impresión el trabajo presentado.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi jí jú


M.C. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA MUÑOZ
JEFE DE CARRERA
INGENIERÍA EN ALIMENTOS




c.c.p. M.C. Héctor López Arjona / Vicerrector Académico. Para su conocimiento
c.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., a 23 de Marzo de 2018

LIC. YESENIA BARRIENTOS ARENAL JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES

Por medio de la presente le informo que la Jefatura de Carrera a mi cargo, ha tenido a bien designar como sinodales a los profesores investigadores:

TITULARES:

Dr. Alejandro Aparicio Saguilán	Presidente
Dra. Rubí Utrilla Coello	Secretario
Dra. Delia E. Paramo Calderón	Vocal

SUPLENTE:

Dr. Andrés Aguirre Cruz
M.C. Miguel A. García Muñoz

Para fungir como sinodales en el examen profesional del **C. JAZMÍN SÁNCHEZ RIVERA**, pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos con número de matrícula **12070287** para obtener el Título de Ingeniero en Alimentos.

Sin otro asunto, reciba un cordial saludo.

Atentamente

terra uberrima, mens operati

Lo-tama, chi ji ji

M.C. MIGUEL ANGEL GARCÍA MUÑOZ
JEFE DE CARRERA
INGENIERÍA EN ALIMENTOS



c.c.p. M.C. Héctor López Arjona / Vicerrector Académico. Para su conocimiento
c.c.p. Archivo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi directora de tesis la **Dra. Delia E. Páramo Calderón**, por el conocimiento adquirido durante estos 5 años de carrera, por su confianza, su apoyo, amistad y tiempo dedicado en la asesoría de este trabajo.

A la **Universidad del Papaloapan**, por permitir la realización del trabajo experimental dentro de sus instalaciones, así como por poner a mi disposición el material, equipos e infraestructura necesaria para la realización del mismo.

A mi co-directora de tesis, la **Dra. Guadalupe del C. Rodríguez Jimenes**, por el apoyo brindado durante la estancia realizada en las instalaciones de la Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz.

Al **Dr. Alejandro Aparicio Saguilán**, por la disponibilidad para escuchar mis dudas y sus valiosos comentarios para el mejoramiento de este trabajo, también, por sus enseñanzas durante la carrera y, sobre todo, por su amistad.

Al **Dr. Aurelio Ramírez Hernández** por apoyarme en la técnica de FT-IR y por sus valiosos comentarios y consejos para la realización de este trabajo.

A la **Dra. Rubicita**, por el apoyo brindado y por sus comentarios para el mejoramiento de este trabajo, pero, sobre todo, por su valiosa amistad y el cariño brindado desde que llegó a la institución.

Al **Dr. Andrés**, por compartir sus conocimientos y experiencias, agradezco también el tiempo invertido en los comentarios y correcciones en la redacción final del presente trabajo.

Al **M. C. Lucio** por sus enseñanzas y explicarme “bonito”, agradezco el apoyo brindado con la técnica de HPLC.

AL **M.C. Miguel Ángel García Muñoz (jefe)** por las facilidades y apoyo otorgadas durante la carrera.

A **Anita** con quien he compartido este proceso, agradezco tu apoyo y sobre todo tu amistad.

A **Clau** por tu amistad y disponibilidad para ayudarme siempre que tengo un problema informático.

A mis **amigas**, Carito, Maky, Almita y Betzy por brindarme la oportunidad de convivir con ustedes esta pequeña parte de nuestras vidas, las quiero.

DEDICATORIAS

A **Dios**, por darme la fuerza, paciencia y fe para concluir este proyecto. Agradezco Señor el poner en mi camino a cada una de las personas que me ayudaron a alcanzar esta meta.

Con todo mi amor y cariño, para mis **Padres**, por creer en mí y la confianza siempre brindada para lograr mi formación. Sabiendo que la única forma de agradecerles es no defraudarlos, quiero que sientan que el objetivo logrado también es suyo y que la fuerza que me ayudó a conseguirlo fue su apoyo incondicional. ¡Los amo!

A mis **abuelitos**, por su apoyo y amor incondicional.

A mi **Jossi**, llegaste a la mitad de este camino, brindándome siempre tu cariño, amor y apoyo. Eres una persona muy especial, gracias por ser mi cómplice y mi amigo, haz llegado a extender mi felicidad. ¡Te quiero mucho!

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	VII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Microencapsulación	2
2.1.1 Definición.....	2
2.1.2 Morfología de las microcápsulas	2
2.1.3 Métodos empleados para microencapsulación	3
2.1.1 Secado por aspersion	6
2.1.2 Fundamento	6
2.1.3 Etapas del proceso.....	7
2.1.3.1 Atomización de la mezcla	7
2.1.3.2 Contacto del gas con la muestra	8
2.1.3.3 Evaporación del agua.....	9
2.1.3.4 Separación del producto seco	10
2.2 Compuestos bioactivos.....	11
2.3 Materiales de soporte	11
2.3.1 Tipos de materiales de soporte	12
2.3.2 Almidón	13
2.3.2.1 Composición química.....	13
2.3.2.2 Almidón modificado	14
2.3.2.2.1 Entrecruzamiento	14
2.3.2.2.2 Hidrólisis enzimática	15
2.3.2.3 Almidón modificado como material de pared	15
III. JUSTIFICACIÓN	18
IV. HIPÓTESIS	19
V. OBJETIVOS	19
5.1 Objetivo General	19
5.2 Objetivos Específicos	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1 Materia prima.....	20
6.2 Materiales, reactivos y disolventes	20
6.3 Metodología	20
6.3.1 Modificación dual del almidón	20
6.3.1.1 Etapa I.....	20
6.3.1.2 Etapa II.....	21

6.3.2	Caracterización del material de soporte	23
6.3.2.1	Análisis Físicoquímicos	23
6.3.2.1.1	Determinación del contenido de humedad	23
6.3.2.1.2	Determinación de la Actividad de Agua (a_w)	23
6.3.2.1.3	Determinación de la temperatura y entalpía de gelatinización	23
6.3.2.1.4	Perfil de Viscosidad	23
6.3.2.2	Análisis morfológico	24
6.3.2.2.1	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	24
6.3.2.3	Análisis Estructural	24
6.3.2.3.1	Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)	24
6.3.3	Secado por aspersión del ácido gálico con almidón entrecruzado poroso	24
6.3.3.1	Preparación de la solución de alimentación	25
6.3.4	Caracterización de las cápsulas	26
6.3.4.1	Análisis Físicoquímicos	26
6.3.4.1.1	Determinación del contenido de humedad	26
6.3.4.1.2	Determinación de la Actividad de Agua (a_w)	26
6.3.4.1.3	Medición de la Temperatura de Transición Vítreas	26
6.3.4.1.4	Determinación de color	26
6.3.4.2	Análisis Morfológico	27
6.3.4.2.1	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	27
6.3.4.3	Cuantificación del Compuesto Bioactivo	27
6.3.4.3.1	Extracción del compuesto bioactivo	27
6.3.4.3.2	Determinación del contenido de fenoles totales (CFT)	27
6.3.4.3.3	Evaluación de la actividad antirradical (AAR)	28
6.3.4.3.4	Cuantificación de ácido gálico por HPLC	28
6.3.4.4	Rendimiento de encapsulación	29
6.3.5	Análisis estadístico	29
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
7.1	Caracterización del material de soporte	30
7.1.1	Análisis Físicoquímicos	30
7.1.1.1	Contenido de humedad y actividad de agua (a_w)	30
7.1.1.2	Temperatura y entalpía de gelatinización	31
7.1.1.3	Perfil de viscosidad	33
7.1.2	Análisis Morfológico	35

7.1.3	Análisis Estructural	37
7.1.3.1	Espectros FT-IR	37
7.2	Caracterización de las microcápsulas	39
7.2.1	Análisis Físicoquímicos	39
7.2.1.1	Contenido de humedad y actividad de agua (a_w)	39
7.2.1.2	Evaluación de color	40
7.2.1.3	Transición vítrea de las microcápsulas	42
7.2.2	Análisis Morfológico	43
7.2.3	Cuantificación del Compuesto Bioactivo	46
7.2.3.1	Determinación del contenido de fenoles totales (CFT)	46
7.2.3.2	Evaluación de la actividad antioxidante	47
7.2.3.3	Recuperación de ácido gálico	47
7.2.4	Rendimiento de secado	49
VIII.	CONCLUSIONES	50
IX.	PERSPECTIVAS DEL TRABAJO.....	51
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
XI.	ANEXOS.....	59

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. TIPO DE PROCESOS Y MÉTODOS DE MICROENCAPSULACIÓN	3
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS MÉTODOS DE MICROENCAPSULACIÓN.	4
TABLA 3. TIPOS DE ATOMIZADORES	8
TABLA 4. TIPO DE COLECTORES DE PARTÍCULAS.....	10
TABLA 5. MATERIALES DE PARED PARA LA MICROENCAPSULACIÓN DE ADITIVOS ALIMENTICIOS FUNCIONALES.....	13
TABLA 6. SIMBOLOGÍA USADA PARA REPRESENTAR LAS MUESTRAS DE LOS ALMIDONES MODIFICADOS.	21
TABLA 7. CONTENIDO DE HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA DE LOS MATERIALES DE SOPORTE.	30
TABLA 8. TEMPERATURAS Y ENTALPÍAS DE GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN NATIVO Y LOS ALMIDONES MODIFICADOS. ...	31
TABLA 9. CONTENIDO DE HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA DE LAS MICROCÁPSULAS DEL ALMIDÓN NATIVO Y LOS ALMIDONES MODIFICADOS.	39
TABLA 10. PARÁMETROS DE COLOR DE LAS MICROCÁPSULAS.	41
TABLA 11. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA DE LAS MICROCÁPSULAS.	42
TABLA 12. CONTENIDO DE FENOLES TOTALES (CFT) Y ACTIVIDAD ANTIRRADICAL (AAR) DE LAS MICROCÁPSULAS.	46
TABLA 13. RENDIMIENTO DE SECADO Y RECUPERACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO EN LAS MICROCÁPSULAS CON ALMIDÓN NATIVO, POROSO Y ALMIDONES MODIFICADOS DUALES.	48

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. MORFOLOGÍA DE DIFERENTES TIPOS DE CÁPSULAS. A) B) RESERVORIO, C) D) E) Y F) ESTRUCTURAS MATRICIALES, G) MULTI NÚCLEO Y H) MULTI PARED. ADAPTADO DE GIBBS <i>ET AL.</i> , (1999); REYES (2010); VEHRING (2008).....	3
FIGURA 2. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UN SECADOR CON BOMBA DE CALOR. TOMADO DE KIVEVELE & HUAN (2014).	6
FIGURA 3. SISTEMA DE CONTACTO GAS-GOTA. A) FLUJO A CO-CORRIENTE, B) FLUJO A CONTRA-CORRIENTE, C) FLUJOS COMBINADOS. 1. ENTRADA DE GAS DE SECADO; 2. DISPOSITIVO DE ATOMIZACIÓN; 3. SALIDA DE GAS; 4. RECUPERACIÓN DE POLVO SECO.	9
FIGURA 4. REACCIÓN DE ENTRECruzAMIENTO CON STMP (GAO <i>ET AL.</i> , 2014)	21
FIGURA 5. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA DEL PROCESO.	22
FIGURA 6 SECADOR POR ASPERSIÓN (MINI SPRAY DRYER BÜCHI MOD B-290).....	25
FIGURA 7. TERMOGRAMA DEL ALMIDÓN NATIVO Y LOS ALMIDONES MODIFICADOS (POROSO Y DUALES).....	32
FIGURA 8. PERFILES DE VISCOSIDAD DEL A) ALMIDÓN NATIVO (AN) Y POROSO (AP) Y B) LOS ALMIDONES MODIFICADOS DUALES (AEP) CON DIFERENTES CANTIDADES DE AGENTE ENTRECruzANTE, 4, 6 Y 8%.	34
FIGURA 9. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL ALMIDÓN NATIVO (AN), ALMIDÓN POROSO (AP) Y ALMIDONES ENTRECruzADOS POROSOS (AEP) CON DIFERENTES CANTIDADES DE AGENTE ENTRECruzANTE, 4, 6 Y 8%.....	36
FIGURA 10. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER DEL AGENTE ENTRECruzANTE, DEL ALMIDÓN NATIVO Y ALMIDONES MODIFICADOS.	38
FIGURA 11. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE LAS MICROCÁPSULAS CONTENIENDO ÁCIDO GÁLICO OBTENIDAS CON DIFERENTES MATERIALES DE SOPORTE. PARTE I.	44
FIGURA 12. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE LAS MICROCÁPSULAS CONTENIENDO ÁCIDO GÁLICO, OBTENIDAS CON DIFERENTES MATERIALES DE SOPORTE. PARTE II.	45
FIGURA 13. CURVA ESTÁNDAR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES.....	59
FIGURA 14. CURVA ESTÁNDAR PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.	59
FIGURA 15. CURVA ESTÁNDAR DE HPLC.....	60

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue modificar dualmente el almidón de maíz para obtener un almidón poroso y emplearlo como material de soporte en la encapsulación de ácido gálico mediante secado por aspersion. Se realizó un entrecruzamiento (modificación química) con trimetafosfato de sodio (STMP) a diferentes concentraciones (4, 6 y 8%) y una hidrólisis parcial (modificación enzimática) usando una mezcla de enzimas (α -amilasa y glucoamilasa), y las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales del almidón entrecruzado poroso se evaluaron en función de la cantidad de agente entrecruzante. Los almidones modificados mostraron una ligera disminución del contenido de humedad y a_w . Se observó un incremento en la temperatura y una disminución de la entalpía de gelatinización en los almidones modificados, respecto a su contraparte nativa, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la cantidad de agente entrecruzante. La modificación dual del almidón disminuyó considerablemente la viscosidad del almidón nativo. Se observó mediante SEM la formación de poros en la superficie granular de los almidones. En FT-IR todos los almidones mostraron señales muy similares, característicos de la molécula del almidón; no hubo evidencia de la presencia del agente entrecruzante en la estructura del almidón.

El almidón nativo y los almidones modificados dualmente fueron utilizados como material de pared para encapsular ácido gálico (AG). Las microcápsulas mostraron un contenido de humedad y de a_w por debajo de la mínima requerida para el crecimiento microbiano. El secado por aspersion no afectó de manera negativa el color de las microcápsulas, los resultados indican mayor blancura usando AEP, lo que aumenta las posibilidades de ser usado en la industria. Por otra parte, el uso de almidones modificados no generó efectos en la temperatura de transición vítrea de las microcápsulas. Las microcápsulas obtenidas presentaron morfologías con partículas irregulares y tendencia a la aglomeración, las microcápsulas con material de pared AEP 6 y AEP 8 presentaron una superficie lisa. En cuanto al contenido de fenoles totales, se observó una relación favorable cuando se empleó el almidón modificado como material de soporte, pues hubo una mayor retención de AG, cuando la cantidad de agente entrecruzante aumentó. Ésta tendencia también fue observada con la actividad antioxidante, dado que con los almidones modificados se logra una menor degradación del AG encapsulado. No se apreciaron diferencias entre los rendimientos de secado en función de la cantidad de agente entrecruzante en los almidones modificados.

I. INTRODUCCIÓN

La microencapsulación es un proceso en donde el compuesto activo es encapsulado con materiales de distinta naturaleza, resultando pequeñas cápsulas que liberan su contenido a velocidades controladas, bajo condiciones específicas (Desai & Park, 2005; Gharsallaoui *et al.*, 2007). Los diferentes tipos de cápsulas se producen a partir de distintos procesos de microencapsulación, siendo el secado por aspersión el método de encapsulación más empleado por ser económico y flexible (Desai & Park, 2005).

Se emplean diversos materiales que funcionan como recubrimiento, mejor conocidos como materiales de soporte o materiales de pared, la elección del material de soporte es importante para la eficiencia de la encapsulación y la estabilidad del producto. Los criterios de selección del material de soporte se basan principalmente en las propiedades fisicoquímicas tales como solubilidad, peso molecular, transición vítrea, cristalinidad, formación de película y las propiedades emulsionantes (Gharsallaoui *et al.*, 2007), y también en la protección del núcleo contra de factores externos como el oxígeno, la luz, la humedad u otros factores que causen su deterioro (Shahidi & Han, 1993). Teniendo en cuenta lo anterior, existe una limitada disponibilidad de agentes encapsulantes que cumplan dichos criterios (Vasisht, 2014). Esto da lugar a la importancia del desarrollo de nuevos materiales de soporte.

Los carbohidratos, como el almidón se consideran buenos agentes encapsulantes, sin embargo carecen de propiedades interfaciales requeridas para una encapsulación eficiente que por lo general están asociadas con gomas y proteínas (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Por lo cual, se busca mejorar sus propiedades, a través de la modificación de su estructura nativa.

En el presente trabajo se propone la modificación dual (entrecruzamiento e hidrólisis enzimática) del almidón de maíz para obtener materiales con buenas propiedades encapsulantes siendo la sustancia encapsulada, ácido gálico como compuesto bioactivo modelo.

II. ANTECEDENTES

2.1 Microencapsulación

2.1.1 Definición

La microencapsulación se define como un proceso en el que partículas o gotas diminutas son rodeadas por un recubrimiento o embebidas en una matriz homogénea o heterogénea, generando pequeñas cápsulas que liberan su contenido bajo condiciones controladas (Desai & Park, 2005; Gharsallaoui *et al.*, 2007). Estas microcápsulas tienen tamaños entre 0.2 μm y 5000 μm , cuando las cápsulas son mayores a 5000 μm son llamadas macrocápsulas, mientras que tamaños menores a 0.2 μm se denominan nanocápsulas (Ré, 1998).

En la industria alimentaria, se ha aplicado la microencapsulación para disminuir o eliminar limitaciones cuando se requiere la adición de compuestos funcionales en los productos, ya que estos compuestos suelen ser altamente susceptibles a las condiciones ambientales, como la humedad, la temperatura, la luz, pH, entre otros (Gibbs *et al.*, 1999; Nedovic *et al.*, 2011).

2.1.2 Morfología de las microcápsulas

Las microcápsulas están compuestas por dos elementos, el “núcleo”, donde se encuentra la sustancia encapsulada y la “pared”, material de soporte o agente encapsulante (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Gibbs *et al.*, 1999). Estas pueden presentar muchas formas diferentes (Figura 1), desde una simple pared o membrana de forma esférica rodeada por un revestimiento de espesor uniforme (Figura 1a) o partículas que contienen un núcleo de forma irregular (Figura 1b), a una estructura multipared (Figura 1h) con paredes de la misma o diferentes composiciones, así como numerosos núcleos dentro de la misma estructura de pared (Figura 1g) (Gibbs *et al.*, 1999).

También, pueden presentarse microcápsulas en donde la sustancia encapsulada se encuentra altamente dispersa en una matriz polimérica; presentando una estructura en forma de espuma en la cual, la sustancia encapsulada se encuentra repartida en toda la microcápsula y la cubierta (Figura 1c) o bien en una estructura abierta en forma de red (Figura 1d). Así mismo, puede haber microcápsulas en las que la sustancia encapsulada se encuentra dispersa en la matriz que sirve como cubierta, tanto como esfera llena (Figura 1e) como en la periferia (Figura 1f) (Lozano-Berna, 2009).

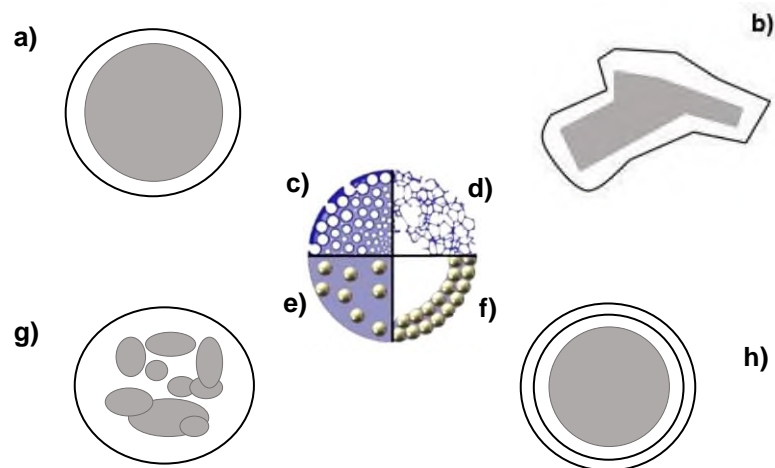


Figura 1. Morfología de diferentes tipos de cápsulas. a) b) Reservorio, c) d) e) y f) estructuras matriciales, g) multi núcleo y h) multi pared. Adaptado de Gibbs *et al.*, (1999); Reyes (2010); Vehring (2008).

2.1.3 Métodos empleados para microencapsulación

Los diferentes tipos de cápsulas se producen a partir de distintos procesos de microencapsulación (Gharsallaoui *et al.*, 2007). En general, estos procesos se pueden dividir en tres grupos como se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Tipo de procesos y métodos de microencapsulación

Procesos	Métodos
Fisicoquímicos	<ul style="list-style-type: none"> - Coacervación simple y compleja - Evaporación emulsión - solvente - Emulsión – solidificación - Atrapamiento en liposomas
Químicos	<ul style="list-style-type: none"> - Polimerización interfacial - Inclusión molecular
Físicos	<ul style="list-style-type: none"> - Secado por aspersion (Spray drying) - Spray cooling/chilling - Extrusión - Freeze drying.

Fuente: Ré (1998); Shahidi & Han (1993)

La selección del proceso depende de las propiedades (físicas y químicas) del núcleo y del material de pared (Desai & Park, 2005). La Tabla 2, muestra un resumen de las características de algunas técnicas de microencapsulación usadas en la industria alimentaria.

Tabla 2. Características de algunos métodos de microencapsulación.

Método	Tipo	Ventajas	Desventajas
Coacervación	Reservorio	<ul style="list-style-type: none"> - Fácil de llevar a cabo - Utiliza uno o más polímeros - La carga es alta 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere un proceso de secado para la producción de polvos - Costoso
Atrapamiento en liposomas	Varios	<ul style="list-style-type: none"> - Encapsulación de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos 	<ul style="list-style-type: none"> - Inestabilidad y fuga durante el almacenamiento - Bajo rendimientos de encapsulación - Es costoso - Requiere un proceso de secado
Emulsión	Matriz	<ul style="list-style-type: none"> - Portador de compuestos hidrófilos e hidrófobos. - Fácil de realizar y ampliar 	<ul style="list-style-type: none"> - Termodinámicamente inestable - Requiere un proceso de secado para la producción de polvos
Inclusión de complejos	Inclusión molecular	<ul style="list-style-type: none"> - Encapsulación de compuestos hidrofóbicos 	<ul style="list-style-type: none"> - Capacidad de carga limitada - Requiere un proceso de secado - Costoso
Spray drying	Matriz	<ul style="list-style-type: none"> - Producto uniforme cuando se usa el procedimiento adecuado - Operar de forma continua - Para compuestos sensibles al calor - Económico 	<ul style="list-style-type: none"> - Costos de instalación - Micro-grietas en la superficie - Eficiencia térmica baja
Spray cooling/ chilling	Matriz	<ul style="list-style-type: none"> - Segundo revestimiento para liberación controlada - Económico - Fácil de utilizar y ampliar - Funcionamiento continuo 	<ul style="list-style-type: none"> - Recubrimiento lipofílico (partículas insolubles en agua) - Expulsión del bioactivo durante el almacenamiento
Freeze drying.	Matriz	<ul style="list-style-type: none"> - Ideal para compuestos termosensibles - Alta retención de compuestos volátiles - Hidratación rápida del producto seco 	<ul style="list-style-type: none"> - La muestra debe de ser congelada - Para compuestos hidrosolubles - Tiempo de procesamiento prolongado - Estructura porosa

Fuente: Adaptado de Celli *et al.*, 2015.

La microencapsulación por “spray drying” es el proceso más ampliamente utilizado en la industria alimentaria y se usa típicamente para la preparación de aditivos alimentarios. El proceso es económico y flexible, ya que ofrece una variación sustancial en la matriz de microencapsulación, equipo de procesamiento adaptable al uso común y produce partículas de buena calidad. De hecho, los costos de producción de secado por aspersión son más bajos que los asociados con la mayoría de otros métodos de encapsulación. Una limitación de la tecnología de secado por aspersión es el número limitado de materiales de cubierta disponible. Dado que la mayoría de los procesos de secado por aspersión en la industria alimentaria se llevan a cabo a partir de formulaciones acuosa, por lo tanto

el material de pared debe ser soluble en agua a un nivel aceptable (Desai & Park, 2005). En el caso del uso de disolventes orgánicos en la alimentación, es usado un gas de secado inerte (por ejemplo: nitrógeno, CO₂) en combinación con una configuración de ciclo cerrado, secador acoplado con una bomba de calor. Dicha configuración representa una alternativa para incrementar la eficiencia energética y disminuir el consumo de gas de secado.

Las bombas de calor son dispositivos generadores de calor que transfieren calor en la dirección opuesta al flujo de calor espontáneo absorbiendo calor de un área de baja temperatura y liberándola a un área más caliente. Los componentes básicos del sistema de un secador con bomba de calor incluyen el secador, un compresor, una válvula de expansión y dos intercambiadores de calor (evaporador y condensador) (Mujumdar, 2014).

El principio de funcionamiento de secado con bomba de calor en ciclo cerrado es que el gas extraído del secador entra en el evaporador de la bomba de calor, donde se enfría y la humedad en el gas se condensa y se retira. El gas fresco y seco del evaporador entra en el condensador de la bomba de calor y se calienta. El gas caliente y seco entra entonces en el secador y absorbe la humedad de los materiales que se secan en el secador y se convierte en gas agotado en la salida del secador y el ciclo se repite. Dado que la bomba de calor recupera el calor en el gas agotado para calentar el gas que entra en el secador mientras elimina la humedad en el aire agotado, logra un alto rendimiento energético en el secado de compuestos bioactivos que son termolábiles y sensibles al oxígeno. En un ciclo abierto, el aire agotado no se vuelve a circular y la bomba de calor utiliza el aire ambiente como fuente de calor (Kivevele & Huan, 2014).

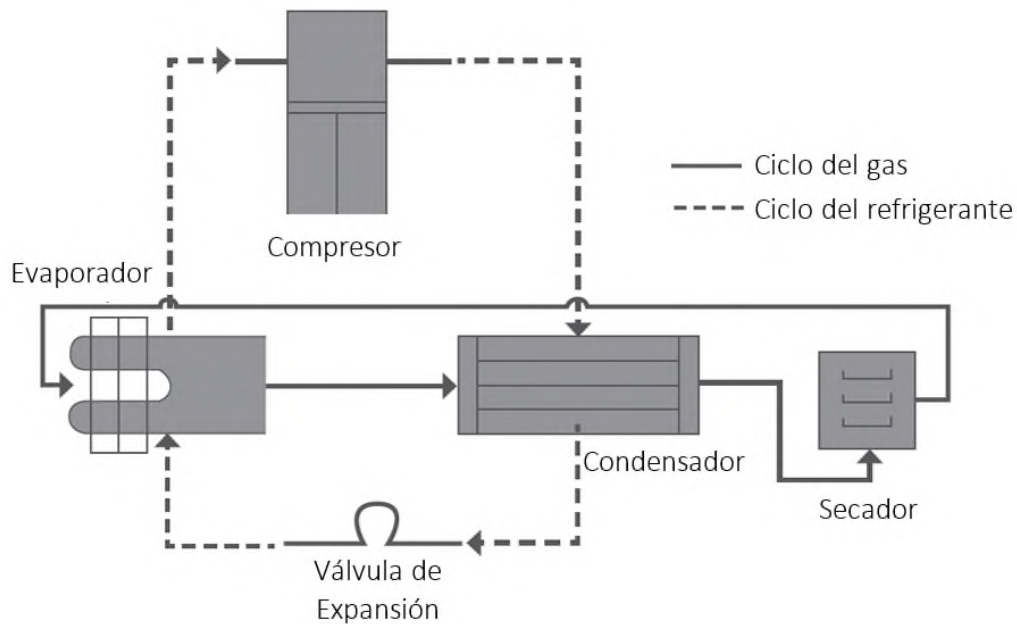


Figura 2. Diagrama esquemático de un secador con bomba de calor. Tomado de Kivevele & Huan (2014).

En algunos estudios realizados se ha destacado la alta calidad de los productos obtenidos con secadores con bomba de calor, así como la comparación de la calidad de distintos materiales secados con este sistema y secadores convencionales. Hawlader, *et al.*, (2006) investigaron el efecto del uso de nitrógeno y dióxido de carbono durante el secado de la guayaba y de la papaya, comparado con secado de bomba de calor con aire, encontrando que cuando se utilizaron los gases inertes se observaba menor oscurecimiento, una rehidratación más rápida y mayor retención de vitamina C en los productos finales.

2.1.1 Secado por aspersión

El secado por aspersión, pulverización o “spray drying” es una operación unitaria utilizada para secar soluciones acuosas u orgánicas, emulsiones, suspensiones o dispersiones en la industria alimentaria y química; sin embargo, también se utiliza para encapsular compuestos de interés dentro de una matriz de protección formada a partir de un polímero (Dziezak, 1988; Páramo, 2005).

2.1.2 Fundamento

El proceso implica la evaporación de la humedad de un producto líquido atomizado, mediante la mezcla de la aspersión en una corriente de gas caliente para obtener instantáneamente un polvo. El

gas generalmente usado es aire (ciclo abierto) y rara vez un gas inerte como el nitrógeno y dióxido de carbono (ciclo cerrado). El secado procede hasta que el contenido de humedad deseado se alcanza en las partículas del rociado y el producto se separa del gas (Büchi, 2002; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

2.1.3 Etapas del proceso

El secado por aspersion es un proceso continuo, el cual consiste en cuatro etapas principales.

1. Atomización de la mezcla
2. Contacto del gas con la muestra
3. Evaporación del agua
4. Separación del producto deshidratado

2.1.3.1 Atomización de la mezcla

El atomizado es la característica más importante de un secado por aspersion. Su selección y operación son de suma importancia para lograr una producción económica de un producto de alta calidad (Masters, 1968). Un proceso de atomización efectiva convierte la alimentación de un fluido a diminutas gotas de igual tamaño que conducen a una transferencia de masa y calor uniforme durante el proceso de secado. Debido a la reducción en el tamaño y a la dispersión de las partículas en el gas de secado, el área superficial de las partículas aumenta de forma exponencial; es por ello que el fluido de alimentación se seca en cuestión de segundos. Hay que hacer notar, que, con el pequeño tamaño de las gotas y la distribución uniforme del fluido de alimentación, la eliminación de la humedad se produce sin perjudicar la integridad del material. El efecto de atomización se consigue utilizando varios tipos de dispositivos (Cal & Sollohub, 2010).

La selección del tipo de atomizador depende de la naturaleza y cantidad del producto alimentado y de las características deseadas del producto seco (Büchi, 2002). En particular, la boquilla ultrasónica es la opción más adecuada para la producción de finas gotas y distribución estrecha (Heng *et al.*, 2011).

Tabla 3. Tipos de atomizadores

Atomizador	Tamaño de la gota (μm)	Ventajas	Desventajas
Disco rotatorio	200	<ul style="list-style-type: none"> - Facilidad de control sobre el tamaño de la partícula - Alta eficiencia de un solo dispositivo - Utilizado en cualquier sistema de cámaras 	<ul style="list-style-type: none"> - Precio alto - Necesario el uso de cámaras más amplias
Boquillas hidráulicas	100 - 400	<ul style="list-style-type: none"> - Construcción simple - Bajo consumo de energía - Bajo precio 	<ul style="list-style-type: none"> - Eficacia relativamente baja - Propenso a la corrosión
Boquillas neumáticas	10 - 100	<ul style="list-style-type: none"> - Eficiencia satisfactoria - Producción de una dispersión homogénea 	<ul style="list-style-type: none"> - Se requieren grandes cantidades de gas comprimido para atomizar el líquido - Utilidad limitada para la atomización de líquidos de alta viscosidad
Boquillas ultrasónicas	1 - 10	<ul style="list-style-type: none"> - Estrecha distribución de tamaños - Adecuado para partículas termolábiles 	<ul style="list-style-type: none"> - Costoso - Posible obstrucción de boquillas para suspensiones

Fuente: Adaptado de Heng *et al.*, 2011.

2.1.3.2 Contacto del gas con la muestra

La atomización del fluido y el tiempo de contacto con el gas son componentes importantes del secado, teniendo en cuenta que determinan la velocidad de secado y la intensidad de secado por aspersion. La manera en que la aspersion se pone en contacto con el aire se determina por la posición del atomizador en relación con la entrada de gas de secado (Masters, 1968; Murugesan & Orsat, 2012). Existen tres diferentes direcciones de entrada del gas de secado, en la Fig. 3 se representan.

Flujo a co-corriente. La alimentación se atomiza en la misma dirección que el flujo de gas caliente a través del aparato. Las gotitas entran en contacto con el gas de secado cuando están más húmedas y el producto se trata con cuidado debido a la evaporación súbita.

Flujo a contracorriente. La alimentación es asperjada en la dirección opuesta del flujo de gas de secado. El gas de secado fluye hacia arriba y el producto baja a través del gas hacia el colector. La humedad residual es eliminada y el producto se vuelve muy caliente. Este método es adecuado sólo para los productos térmicamente estables.

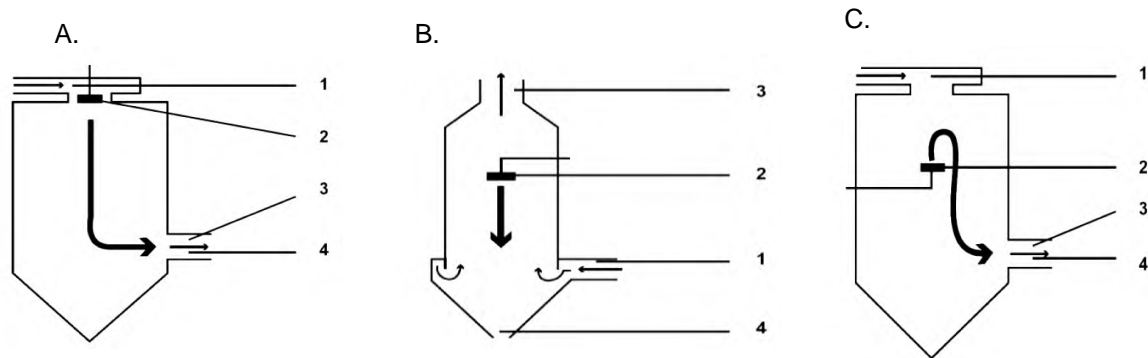


Figura 3. Sistema de contacto gas-gota. A) Flujo a co-corriente, B) Flujo a contra-corriente, C) Flujos combinados. 1. Entrada de gas de secado; 2. Dispositivo de atomización; 3. Salida de gas; 4. Recuperación de polvo seco.

Flujo combinado. Este tipo de flujo combina las ventajas de ambos métodos de aspersión. La alimentación se asperja hacia arriba y sólo permanece en la zona caliente durante un corto período de tiempo para eliminar la humedad residual. A causa de la gravedad el producto precipita a la zona más fría. Debido a que el producto permanece poco tiempo en la zona caliente, es tratado con cuidado (Büchi, 2002).

En estos sistemas (Figura 3) las gotas de dispersión se mueven en varias corrientes de gas, por lo tanto, cada gotita está sujeta a diferentes condiciones locales de temperatura y humedad del gas. Esto se debe a un flujo de gas turbulento a través de la cámara. Por lo tanto, esto da lugar a diferencias en el grado de secado (Heng *et al.*, 2011). La temperatura de entrada de gas de secado tiene un efecto importante en el proceso de eliminación del líquido de la dispersión; dado que permite una mejor eficiencia térmica del proceso (Cal & Sollohub, 2010).

Generalmente, el gas usado en la operación tiene temperaturas de entrada entre 100 y 300°C y las temperaturas de salida oscilan entre 50 y 100°C, dependiendo del tipo de equipo empleado (Páramo, 2005).

2.1.3.3 Evaporación del agua

Al momento que una gota con gran cantidad de líquido entra en contacto con el gas de secado, ésta experimenta un proceso de secado que puede dividirse en dos etapas. Inicialmente la gota experimenta un aumento de calor sensible hasta la temperatura de bulbo húmedo del aire de secado. En ese instante el primer periodo de secado o periodo de velocidad de secado constante, se inicia. En esta etapa, existe suficiente humedad en el interior de la gota para reabastecer las pérdidas

en la superficie llevándose la evaporación a velocidad constante. La segunda etapa de secado se conoce como velocidad de secado decreciente e inicia cuando el contenido de agua empieza a descender para mantener las condiciones de saturación, se alcanza el punto crítico y se forma una capa seca en la superficie de la gota, la cual genera una resistencia a la evaporación del líquido, que depende de la capacidad de difusión a través de ésta. A medida que transcurre el proceso, el espesor de la capa seca aumenta causando con esto una disminución en la velocidad de evaporación (Masters, 1991).

2.1.3.4 Separación del producto seco

La separación del producto se realiza primero en la base de la cámara de secado, separación primaria; seguida de la recuperación de partículas más finas, separación secundaria, el cual puede estar constituido por ciclones, filtros de bolsa o precipitadores electrostático. La Tabla 4 compara el rendimiento de estos colectores de partículas, siendo las bolsas de filtros y los precipitadores electrostáticos las opciones factibles para la recolección de nano partículas; sin embargo, este último tiene la ventaja de recoger partículas con tamaños más bajos y la facilidad de recuperación de polvo no contaminado (Heng *et al.*, 2011).

Tabla 4. Tipo de colectores de partículas

Colector	Eficiencia de recolección	Rango de tamaño (μm)	Ventajas/desventajas
Filtración (filtros de bolsa)	Hasta 90 – 99%	0.1 - 20	- Costo de equipo y de operación medio alto - Posible contaminación de partículas
Ciclón	Hasta 60 – 70%	2 - 100	- Costo de equipo y de operación medio - Polvo puro
Precipitador electrostático	Hasta 90 – 99%	0.05 – 10	- Costo de equipo alto - Costo de operación de bajo a medio - Polvo puro, endurecido

Fuente: Adaptado de Heng *et al.*, 2011

2.2 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos, son una serie de sustancias presentes en las frutas y plantas que, aunque no tiene una función nutricional definida, o no se consideran esenciales para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en ella (Martínez-Navarrete *et al.*, 2008). Una de las limitaciones de estos compuestos es que sólo una pequeña porción de éstos permanece disponible después de la administración oral, debido a su inestabilidad bajo condiciones de procesamiento y almacenamiento o en el tracto gastrointestinal (pH, enzimas, presencia de otros nutrientes) (Fang & Bhandari, 2010).

En la industria de alimentos, la microencapsulación ha sido utilizada para proteger diferentes compuestos bioactivos, debido al amplio espectro de beneficios que ofrecen; algunos de los compuestos que han sido encapsulados incluyen enzimas, aceites esenciales, ácidos grasos, probióticos, vitaminas y compuestos fenólicos (Dias *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). Éstos últimos son los compuestos más comúnmente usados en experimentos que se centran en la optimización de técnicas de microencapsulación y en el desarrollo de nuevos materiales de encapsulación (Dias *et al.*, 2015). Un ejemplo es el trabajo realizado por Medina-Torres *et al.*, (2013) en el que el ácido gálico comercial se encapsuló utilizando un mucilago extraído de *Opuntia ficus indica* (nopal). Robert *et al.*, (2012) también encapsularon ácido gálico usando almidón acetilado e inulina, obteniendo mayor eficiencia de encapsulación con el primer material. Ambos trabajos encapsularon usando el método de secado por aspersión. Por su parte, da Rosa *et al.*, (2013) encapsularon ácido gálico con quitosano, β -ciclodextrina y xantano mediante el método de liofilización, obteniendo una mayor eficiencia de encapsulación con la matriz de quitosano.

En los últimos años, debido a que la industria alimentaria ha requerido la adición de compuestos bioactivos en los alimentos, ha aumentado el interés por el desarrollo de nuevos materiales de encapsulación que permitan mantener la estabilidad de dichos compuestos durante el procesamiento y almacenamiento (Nedovic *et al.*, 2011).

2.3 Materiales de soporte

Los materiales de soporte son aquellos capaces de formar películas alrededor de los compuestos bioactivos (núcleo), para protegerlo contra el deterioro y permitir su liberación bajo condiciones controladas.

Para el secado por aspersión de alimentos, la elección del material de soporte es crítica e influye no sólo durante el transcurso del secado, sino, además, en las propiedades del producto y la estabilidad del mismo. Estos materiales deben ser inertes con el material activo a encapsular, solubles

en solventes aceptados por la industria alimentaria, presentar buenas propiedades reológicas a alta concentración, proveer máxima protección contra las condiciones ambientales (luz, calor, oxígeno y humedad) y sobre todo, ser de grado alimenticio (Ré, 1998; Shahidi & Han, 1993). Teniendo en cuenta lo anterior, existe una limitada disponibilidad de agentes encapsulantes que cumplan dichos criterios (Vasisht, 2014). Esto conlleva a la importancia del desarrollo de nuevos materiales que pueden ser empleados como agentes encapsulantes.

2.3.1 Tipos de materiales de soporte

Aunque un gran número de sustancias pueden usarse como material encapsulante, sólo un número limitado de los mismos han sido certificados para aplicaciones alimentarias como materiales “generalmente reconocidos como seguros” (GRAS) (Vasisht, 2014).

Los materiales de carácter lipídico, son usados como material de soporte en la encapsulación por atrapamiento en liposomas y emulsiones, son buenos formadores de película. En cuanto a las proteínas, éstas tienen un carácter anfifílico que ofrecen excelentes propiedades fisicoquímicas y funcionales requeridas para encapsular materiales hidrófobos. La proteína más frecuentemente utilizada es la gelatina (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Shahidi & Han, 1993; Vasisht, 2014), sin embargo, la alta viscosidad de sus soluciones incluso a bajas concentraciones, limitan su uso como material de soporte principalmente cuando la microencapsulación se realiza mediante secado por aspersión.

Los derivados de celulosa son empleados en la encapsulación de ingredientes alimenticios solubles tales como edulcorante y ácidos (Shahidi & Han, 1993). Por lo que se refiere a las gomas, se usan por sus propiedades de formación de película y de estabilización de la emulsión. Entre todas las gomas, la goma arábica, destaca por sus propiedades de emulsión estable y buena retención de volátiles. Los problemas asociados con el uso de goma arábica es su alto costo y el suministro limitado (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Los carbohidratos son los polímeros más utilizados como materiales de soporte, dentro de este amplio grupo se encuentra el almidón, el cual se ha usado para proteger compuestos bioactivos (Fang & Bhandari, 2010; Loksuan, 2007; Palma-Rodriguez *et al.*, 2013; Robert *et al.*, 2012), microorganismos (Li *et al.*, 2016) entre otros. El amplio uso de este polímero se debe a la facilidad con la que sus propiedades pueden ser mejoradas empleando modificaciones químicas, bioquímicas y físicas para producir materiales de encapsulación de propósito específico (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Los materiales de soporte más utilizados en la industria alimentaria se enlistan en la Tabla 5.

Tabla 5. Materiales de pared para la microencapsulación de aditivos alimenticios funcionales

Categoría	Materia de soporte
Carbohidratos	Almidón, maltodextrinas, quitosano, dextrano, almidón modificado y ciclodextrinas.
Celulosa	Carboximetilcelulosa, metil-celulosa, etil-celulosa, acetato-ftalato de celulosa.
Gomas	Goma arábiga, agar, alginato de sodio y carragenina
Lípidos	Cera, parafina, aceites, lecitina y grasas.
Proteínas	Gelatina, proteína de soya, proteína de suero de leche

Fuente: Adaptado de: Desai & Park, 2005

2.3.2 Almidón

El almidón es un polisacárido compuesto por unidades de amilosa y amilopectina, las cuales representan aproximadamente el 98-99% del peso seco. La proporción de estas unidades varía según el origen botánico del almidón (Tester *et al.*, 2004).

2.3.2.1 Composición química

La amilosa es un polímero lineal producto de la condensación de unidades D-glucosa unidas por enlaces α -(1-4), tiene una masa molar aproximadamente de $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ Da dependiendo del origen biológico y grado de polimerización (GP), presentando éste un promedio de 324 – 4,920 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que van de 1 a 20 (Tester *et al.*, 2004). En soluciones acuosas neutras, la estructura normal es la de una espiral. Por su contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos como son los almidones cerosos que tiene muy poca cantidad de amilosa menor del 15%, los normales que contienen entre 20-35% y los altos en amilosa que contienen más del 40% de este polímero (Tester *et al.*, 2004). Los almidones de maíz y papa se consideran normales, ya que su contenido de amilosa se encuentra entre 20 y 30% aproximadamente.

En cuanto a la amilopectina, al igual que la amilosa, está constituida por unidades de D-glucosa, sin embargo difieren en su estructura, dado que presenta un 95% de enlaces α -(1-4) y 5% de α -(1-6), por lo que se considera una molécula ramificada. El grado de polimerización generalmente se encuentra en un intervalo de 9,600 – 15,900 unidades de glucosa, su peso molecular varía entre 50 y 500×10^6 Da. La amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón, debido a que su estructura y propiedades contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad de gránulo.

2.3.2.2 Almidón modificado

Los almidones modificados son almidones nativos que se han sometido a algún proceso físico, químico, o enzimático, promoviendo la desorganización molecular, la degradación de los polímeros, el rearrreglo molecular y la oxidación o adición de grupos químicos (Laurentin *et al.*, 2003).

Los tratamientos hidrotérmicos, como la extrusión, la radiación, la sonicación y los tratamientos a presión, son los métodos de modificación física comúnmente utilizados; en donde el almidón se gelatiniza (parcialmente), dando como resultado una reducción del enlace de hidrógeno. Tales almidones son dispersables en agua fría y se usan generalmente en helados, alimentos infantiles, premezclas para hornear en seco, etc. (Tharanathan, 2005). Por otro lado, la modificación química implica la introducción de grupos funcionales adecuados en la molécula de almidón, utilizando reacciones de derivatización tales como eterificación, esterificación, entrecruzamiento (reticulación) o reacciones de descomposición como hidrólisis ácida o enzimática y oxidación (Loacutepetz *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2007; Wurzburg, 1986).

Con el fin de mejorar aún más las propiedades funcionales y la utilización de almidones en diversos tipos de aplicaciones, se han introducido métodos de modificación dual, los cuales implican la combinación de métodos de modificación físicos y químicos o los métodos de modificación química y enzimática, éste último fue aplicado en el presente trabajo, por lo cual se explica más detalladamente.

2.3.2.2.1 Entrecruzamiento

El entrecruzamiento es un método de modificación química durante el cual los almidones nativos se modifican usando diferentes agentes entrecruzantes como trimetafosfato de sodio (STMP), tripolifosfato de sodio (STPP), epiclorohidrina (ECH) y cloruro de fosforilo (POCl_3) (Din *et al.*, 2015). Entre estos reactivos, el STMP es uno de los aditivos alimentarios más usados, debido a que no tiene efectos adversos en los seres humanos y además es un agente eficaz de entrecruzamiento (Woo & Seid, 1997).

El entrecruzamiento se lleva a cabo mediante la adición de enlaces covalentes intra e intermoleculares en ubicaciones aleatorias en el gránulo de almidón, fortaleciendo los enlaces de hidrógeno que actúan como puentes entre las moléculas de almidón. (Singh *et al.*, 2007). Los almidones entrecruzados muestran resistencia a alta temperatura, pH bajo, alto cizallamiento y conducen a una mayor estabilidad del gránulo de almidón hinchado (Tharanathan, 2005).

2.3.2.2 Hidrólisis enzimática

La susceptibilidad del almidón al ataque enzimático está influenciada por factores tales como el contenido de amilosa y amilopectina (Holm & Bjorck, 1988; Ring *et al.*, 1988), el tamaño de partícula, la estructura cristalina y los inhibidores enzimáticos. Entre éstos, la estructura granular, es la más importante (Zhang & Oates, 1999).

Hay muchas enzimas utilizadas para alterar la estructura del almidón y para lograr la funcionalidad deseada (Rosell & Collar, 2008). Las enzimas hidrolizan enlaces (1→4) o (1→6) entre residuos α -D-glucopiranosil. Entre las enzimas más usadas para la modificación del almidón se incluyen la α -amilasa y la glucoamilasa (Dura *et al.*, 2014).

La α -amilasa hidroliza los enlaces (1→4) α -glucosídicos del almidón en una endo-acción. La hidrólisis se produce de manera aleatoria en cualquier enlace (1→4) dentro de la cadena de almidón para reducir rápidamente el tamaño molecular y la viscosidad de la solución de almidón. Por otra parte, la glucoamilasa es una enzima exoactiva que cataliza la hidrólisis de ambos enlaces α -D-(1→4) y α -D-(1→6) desde los extremos no reductores de la cadena de almidón.

La hidrólisis enzimática parcial da como resultado un almidón poroso, el cual se define como un almidón modificado que contiene poros microscópicos sobre la superficie y podría extenderse a la parte interior del gránulo (Zhang *et al.*, 2012). El almidón poroso es un absorbente biodegradable versátil y barato, ampliamente utilizado en la industria alimenticia para asegurar una liberación constante de especias, edulcorantes, aromatizantes o para proteger contra la luz u oxígeno compuestos altamente sensibles (Zhang *et al.*, 2012).

El almidón de maíz es el más utilizado para ser modificado en cápsulas porosas debido a que por naturaleza el gránulo presenta canales, facilitando la hidrólisis enzimática (Li *et al.*, 2016).

2.3.2.3 Almidón modificado como material de pared

El almidón es un biopolímero que ha atraído la atención para la encapsulación de compuestos bioactivos, dado que se usa ampliamente como ingrediente alimenticio seguro y económico. Sin embargo, el almidón nativo necesita ser modificado para desarrollar características funcionales deseables, tales como solubilidad, textura, adhesividad, dispersión, tolerancia al calor (Li, 2014) y propiedades interfaciales requeridas para lograr una encapsulación eficiente.

La modificación dual, entrecruzamiento e hidrólisis enzimática, del almidón de maíz brindaría una capacidad superior de formación de película, reduciendo así la pérdida del compuesto bioactivo

durante el secado por aspersión y el almacenamiento, mientras que una baja viscosidad permitiría preparar soluciones con alto contenido de sólidos que pueden ser secadas por aspersión a mayor velocidad debido a la menor evaporación del agua requerida y la encapsulación de los compuestos bioactivos de forma más completa.

El almidón poroso se ha usado como material de soporte principalmente para la microencapsulación de microorganismos, tales como *Lactobacillus acidophilus* (Xing *et al.*, 2014), *Lactobacillus plantarum* (Li *et al.*, 2016), usando el método de liofilización. También ha sido usado junto con β -ciclodextrina para la encapsulación de alicina mediante secado por aspersión, obteniendo una retención del compuesto de 90.1% (Wang *et al.*, 2012). Así mismo Glenn *et al.*, (2010) encapsularon aceites esenciales en microesferas porosa de maíz con el objetivo de usarlo como plaguicida en colonias de abejas.

Diversos autores han reportado el uso de almidón modificado como material de soporte en la microencapsulación de compuestos bioactivos mediante secado por aspersión.

Loksuwan, (2007) realizó la modificación dual del almidón de tapioca sometiéndolo a una hidrólisis ácida seguido de un tratamiento térmico. Posteriormente, realizó la encapsulación de β -caroteno mediante secado por aspersión, sus resultados fueron comparados con los de su almidón nativo y maltodextrina comercial. Los resultados indican que el almidón de tapioca doblemente modificado tiene potencial para su uso como material de pared, debido a que la eficiencia de encapsulación es mayor (82%) a diferencia de las obtenidas con maltodextrina (46%) y almidón nativo de tapioca (68%).

La encapsulación de luteína con almidón poroso y gelatina fue el trabajo realizado por Wang *et al.*, (2012). Ellos se enfocaron en encontrar las condiciones óptimas de los parámetros de secado por aspersión para obtener una buena eficacia de encapsulación y también un alto rendimiento del producto, obteniendo resultados de 94.4% y 92.6 %, respectivamente. Con la encapsulación de la luteína pudieron disolver ésta directamente en agua, lo cual no era posible usando luteína libre. Además, observaron mejor estabilidad de las microcápsulas frente al calor, el pH, la luz y el oxígeno con respecto a la luteína libre.

Rocha *et al.*, (2012) estudiaron la microencapsulación de licopeno (5, 10 y 15%) mediante secado por aspersión usando un almidón comercial modificado químicamente (Capsul®) que incorpora un componente lipófilo destinado a conferir propiedades emulsionantes. Las microcápsulas se aplicaron a un sistema alimenticio (pastel). Estos autores encontraron que la eficiencia de encapsulación varió entre 21 a 29%, y que la baja eficiencia de encapsulación puede estar

relacionada con la temperatura del aire de entrada en el secador por aspersión (180°C), debido a que una alta temperatura del aire de entrada puede romper el equilibrio entre la evaporación y la velocidad de formación de partículas, reduciendo la eficiencia de la encapsulación (Shu *et al.*, 2006).

La eficiencia de la encapsulación fue estudiada por Robert *et al.*, (2012) utilizando almidones de papa nativos y acetilados. Se encontró que la acetilación de almidón de papa aumentó el rendimiento de encapsulación hasta un 20%. La recuperación del ácido gálico después del secado por aspersión también aumentó cuando se usó almidón acetilado en comparación con su contraparte nativa. Así, los almidones acetilados pueden considerarse como materiales de soporte para el desarrollo de alimentos saludables encapsulando compuestos bioactivos.

Palma-Rodriguez *et al.*, (2013) modificaron almidón de maíz, papa y arroz mediante tratamiento ácido, para usarlos como material de pared en la encapsulación de ácido ascórbico (AA) mediante secado por aspersión. Reportaron que las microcápsulas de almidón nativo de arroz exhibían el porcentaje más bajo de retención de AA (57.7%) comparado con los almidones modificados. La mayor retención se obtuvo con las microcápsulas preparadas con almidón de papa modificado (98%). Ellos concluyen que la retención de AA puede estar asociada con el contenido de amilosa de los almidones usados como material de pared, ya que los resultados indicaron que, a mayor contenido de amilosa, menor eficiencia de encapsulación.

Dang *et al.*, (2016) produjeron microcápsulas de gelatina/almidón de maíz oxidado con vitamina C mediante secado por aspersión. Y evaluaron distintas temperaturas de entrada (120, 150 y 180°C). Reportaron que cuando la temperatura de entrada es superior a 180°C las microcápsulas no pueden retener liberación de vitamina C y como consecuencia mostraban una coloración rojo claro, debido a la oxidación de la vitamina. También evaluaron el comportamiento de liberación de la vitamina C en un medio acuoso, encontrando que se llevaba a cabo en tres horas.

He *et al.*, (2016) encapsularon Ácido Linoleico Conjugado (CLA) con combinaciones de almidón anhídrido octenil succínico (OSA) y goma xantana (GX), evaluaron tres proporciones de materiales de pared; 60/1, 80/1 y 100/1 p/p. La combinación que mostró buenas propiedades de encapsulación de CLA y proporcionó una protección eficaz contra la oxidación fue de 60/1 p/p. Realizaron pruebas de liberación controlada simulando las condiciones gastrointestinales, observando que las microcápsulas no eran susceptibles a la digestión gástrica, sin embargo, en condiciones intestinales liberaban el CLA. Concluyeron que la encapsulación de CLA en microcápsulas de OSA/GX secadas por aspersión, proporciona una buena protección contra la oxidación y además puede ser útil en la administración dirigida de lípidos funcionales u otros compuestos bioactivos en el intestino delgado.

III. JUSTIFICACIÓN

La encapsulación tiene como objetivo proporcionar barreras entre los materiales bioactivos y el medio ambiente además de preservar la estabilidad de dichos compuestos durante el procesamiento y almacenamiento del producto. Debido a lo anterior, existe una búsqueda constante de nuevos materiales encapsulantes con propiedades adecuadas para su aplicación como materiales de soporte. Uno de los materiales más ampliamente usados es el almidón, sin embargo, en su forma nativa presenta limitaciones debido a sus propiedades intrínsecas, una alternativa eficaz para mejorar dichas propiedades consiste en realizar modificaciones al almidón.

La hidrólisis enzimática y el entrecruzamiento son los métodos propuestos para la obtención de un almidón poroso con propiedades encapsulantes, el primero produce un almidón con polímeros de peso molecular reducido y menor viscosidad, aumentando el índice de solubilidad en agua del almidón empleado, mientras que el entrecruzamiento genera enlaces químicos intra e intermoleculares que forman una red estructural en las micropartículas de almidón, por lo tanto estabilizan y refuerzan la microencapsulación de los compuestos de interés. Por lo que se tendría, una encapsulación de los compuestos bioactivos más eficiente.

IV. HIPÓTESIS

La modificación química dual del almidón permitirá obtener un material con propiedades fisicoquímicas deseadas para la encapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos de interés para la industria de alimentos.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Desarrollar almidón poroso de maíz mediante una modificación dual para emplearlo como material de soporte en la encapsulación de ácido gálico mediante secado por aspersión.

5.2 Objetivos Específicos

- 1) Realizar la modificación dual del almidón nativo de maíz mediante un entrecruzamiento con trimetafosfato de sodio e hidrólisis enzimática parcial.
- 2) Evaluar las características fisicoquímicas, estructurales y morfológicas de los almidones nativo y modificado.
- 3) Evaluar el efecto de la modificación dual del almidón sobre las características fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de las microcápsulas obtenidas.
- 4) Analizar el contenido de humedad, actividad de agua y color de las microcápsulas obtenidas.
- 5) Evaluar el efecto de la modificación dual del almidón y del secado por aspersión sobre la retención de ácido gálico, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de las microcápsulas obtenidas.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materia prima

Se utilizó almidón de maíz comercial adquirido de la Industrializadora de maíz IMSA S.A. de C.V., México; posteriormente este almidón fue modificado como se indica en el apartado 6.3.1.

6.2 Materiales, reactivos y disolventes

La maltodextrina (MD) fue adquirida en FAPSA (México). El trimetafosfato de sodio (STMP), carbonato de sodio, cloruro de sodio, ácido clorhídrico, acetato de sodio, reactivo Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), ácido gálico, Trolox y las enzimas α -amilasa (A3176-5MU) y glucoamilasa (A7095-50ML) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich. El etanol absoluto fue adquirido con Hycel mientras que el metanol fue adquirido con J.T. Baker. Todos los reactivos usados son de grado analítico, excepto el metanol que fue de grado HPLC.

6.3 Metodología

En la Figura 5 se muestra un diagrama general del procedimiento empleado.

6.3.1 Modificación dual del almidón

El proceso de la modificación dual se llevó a cabo en dos etapas, en la primera etapa se realizó la modificación química, entrecruzamiento; posteriormente en la segunda etapa se llevó a cabo la hidrólisis enzimática. Las etapas del proceso se describen a continuación.

6.3.1.1 Etapa I

El entrecruzamiento del almidón se llevó a cabo por el método propuesto por Gao *et al.*, (2014). Se prepararon 100 mL de agua destilada añadiendo 50g de almidón de maíz con 1 g de Na_2CO_3 (2 g/ 100 g de almidón seco) y 2.5 g de NaCl (5 g/ 100 g de almidón seco). El agente de entrecruzamiento (STMP), se disolvió en la suspensión de almidón, se realizaron tres muestras con tres cantidades diferentes de agente entrecruzante (4, 6 y 8% p/p). Posteriormente la suspensión se mantuvo en agitación usando un agitador magnético a 200 rpm durante 80 min a 50°C en un baño termostático. Se usó HCL (1 M) para ajustar el pH de la suspensión a 6.5. Después se precipitó la porción sólida, el sobrenadante se desechó y la parte sólida se lavó con agua desionizada. La reacción de entrecruzamiento de STMP- almidón se muestra a continuación.

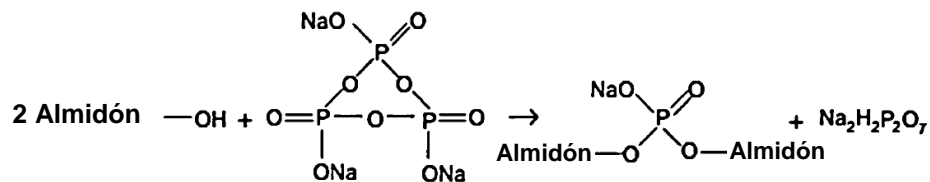


Figura 4. Reacción de entrecruzamiento con STMP (Gao *et al.*, 2014)

6.3.1.2 Etapa II

La suspensión de almidón entrecruzado (25 % p/v) se preparó usando 200 mL de buffer de acetato de sodio (pH=4.6). Esta suspensión se agitó durante 20 min a 150 rpm en un baño termostatzado manteniendo la temperatura a 40°C, según lo propuesto por Whistler (1991). Después de precalentar la solución durante 20 min, se añadió una mezcla de α -amilasa y glucoamilasa en proporción 1:4, respectivamente a la suspensión. La cantidad de enzima con respecto a la proporción de almidón fue de 1:100 (p/p). Las muestras en suspensión se agitaron en un baño termostatzado a 150 rpm durante 14 h, manteniendo la temperatura a 40°C. Al término de la reacción enzimática, las enzimas se inactivaron agregando 20 mL de solución de NaOH (4% p/p). La suspensión de almidón resultante hidrolizado se centrifugó (Hettich, Mod. Rotina 420) a 1007.1 g's durante 5 min. El producto de almidón obtenido se lavó tres veces con el fin de eliminar los componentes no amiláceos. Por último, se recolectó el producto y se secó usando un liofilizador (LABCONCO, FreeZone Mod. 7740060). El almidón entrecruzado poroso, primero se congeló a -30°C durante 6 h y posteriormente se secó en un tiempo de 20 h.

Tabla 6. Simbología usada para representar las muestras de los almidones modificados.

Muestra	Simbología
Almidón nativo	AN
Almidón hidrolizado (Poroso)	AP
Almidón Entrecruzado Poroso con 4% de STMP	AEP4
Almidón Entrecruzado Poroso con 6% de STMP	AEP6
Almidón Entrecruzado Poroso con 8% de STMP	AEP8

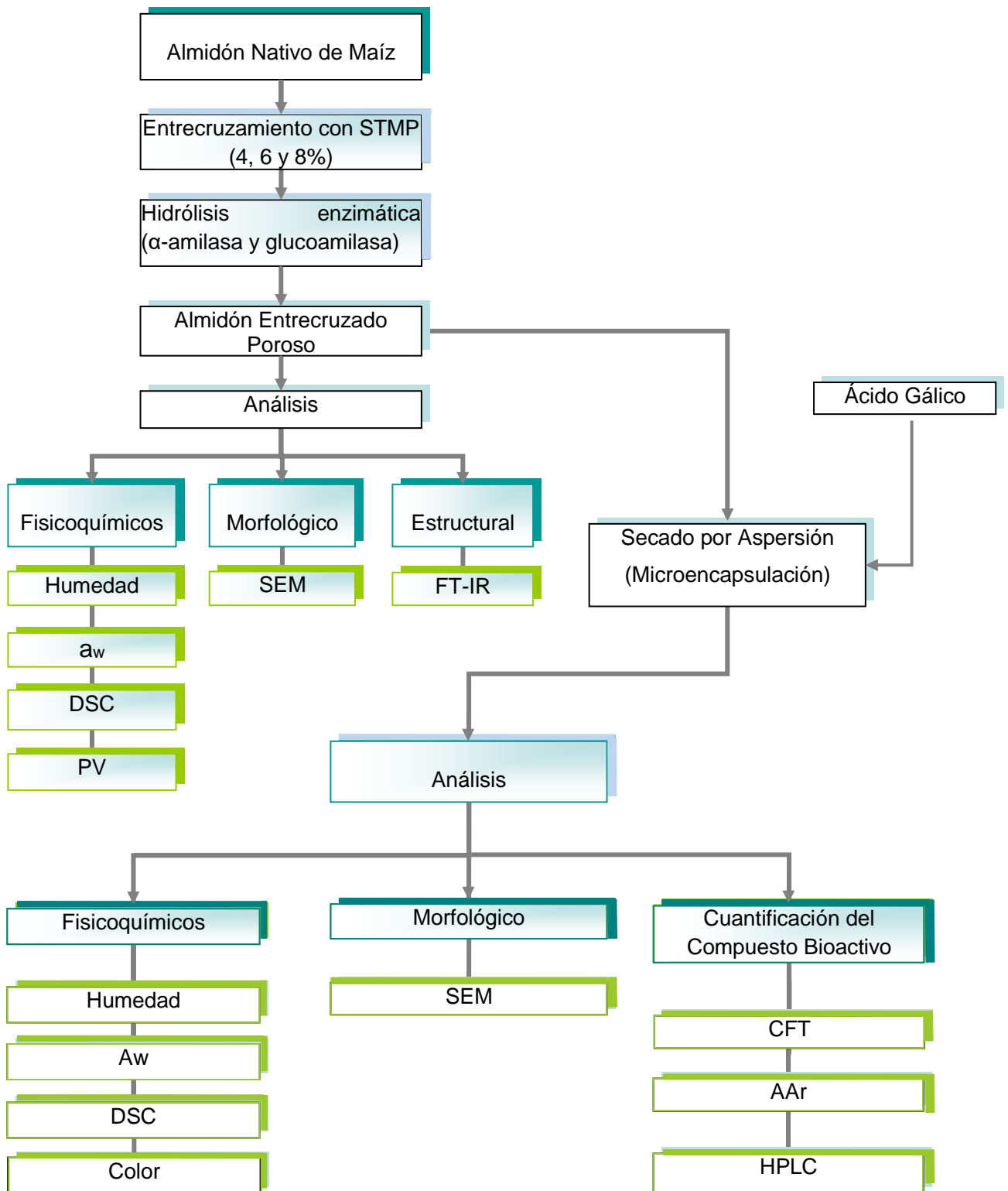


Figura 5. Diagrama de flujo de la metodología del proceso.

6.3.2 Caracterización del material de soporte

6.3.2.1 Análisis Físicoquímicos

6.3.2.1.1 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por pérdida de peso, empleando el método de la estufa de vacío (AOAC 32.1.03., 1995). Las muestras de material de soporte de 0.5 ± 0.04 g aproximadamente se colocaron en charolas de aluminio previamente secadas a peso constante y se introdujeron en una estufa de vacío (Shel Lab Mod. 1425). La temperatura de operación fue de 65°C , las muestras se mantuvieron hasta llegar a peso constante (6 h); posteriormente fueron retiradas de la estufa, enfriadas en un desecador y pesadas empleando una balanza analítica (OHAUS mod. PA224C).

6.3.2.1.2 Determinación de la Actividad de Agua (a_w)

La actividad de agua en las muestras deshidratadas se determinó a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ empleando un medidor de actividad de agua (Analizador de Vapor de Sorción, AQUALAB mod. VSA1144). Las mediciones se realizaron por triplicado.

6.3.2.1.3 Determinación de la temperatura y entalpía de gelatinización

La gelatinización de los almidones se evaluó por el método propuesto por Paredes-López *et al.*, (1994), con ligeras modificaciones. Se pesaron 2.1 mg de muestra dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7 μL de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar a temperatura ambiente durante 1 h 30 min antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola de aluminio vacía. Transcurrido el tiempo de equilibrio, la muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 30°C a 120°C con una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La temperatura de gelatinización o de pico (T_p) y la entalpía de gelatinización (ΔH) fueron obtenidas directamente del software TA Instrument Trios versión 4.

6.3.2.1.4 Perfil de Viscosidad

Se preparó una dispersión de almidón al 10% (p/v) y se transfirieron 30 mL a la celda de almidón del Reómetro Discovery HR-2 hibrid. Para determinar el perfil de viscosidad la muestra se sometió a un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento. La temperatura inicial fue de 30°C la cual se mantuvo por 60s, posteriormente se realizó un calentamiento hasta 90°C a una velocidad de $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$, manteniendo esa temperatura durante 360s y finalmente se enfrió hasta 30°C a una velocidad de $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$, manteniéndose a esa temperatura por 420s. Se utilizó el software TA

Instrument Trios versión 4 para obtener los valores de viscosidad con respecto al tiempo y la temperatura.

6.3.2.2 Análisis morfológico

6.3.2.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) para estudiar las propiedades morfológicas de los almidones modificados empleando un microscopio Cryo Transfer System (Jeol, Mod. IT300). Las muestras se colocaron en cinta de carbono de doble cara y se sombrearon durante 5 min con oro-paladio. La forma y las características superficiales de las partículas de las muestras fueron observadas y analizadas a un voltaje de operación de 15 kV y aumentos de 1000X y 2000X.

6.3.2.3 Análisis Estructural

6.3.2.3.1 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Los análisis se llevaron a cabo en un espectrofotómetro (DYNASCAN, Spectrum 100, Perkin Elmer) y utilizando un interferómetro de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés). Los espectros fueron obtenidos en una resolución de 4 cm⁻¹, en un rango de 4000-515 cm⁻¹.

6.3.3 Secado por aspersión del ácido gálico con almidón entrecruzado poroso

Las microcápsulas fueron formadas en un secador por aspersión (Mini Spray Dryer BÜCHI Mod. B-290). El secador por aspersión funciona bajo el mismo principio de un atomizador de flujo co-corriente, es decir, el producto asperjado y el flujo de gas de secado están en la misma dirección. El gas de secado entra en el equipo desde la parte superior, calentando hasta la temperatura de entrada de ajuste, fluye a continuación a través de la cámara de secado, saliendo del secador por aspersión por la salida inferior, antes de abandonar el equipo, es filtrado finamente. La temperatura de entrada (T_E) y la temperatura de salida (T_S) se miden respectivamente justo después del calentamiento y justo antes del filtrado fino. La muestra líquida es alimentada a la cabeza del rociado mediante una bomba peristáltica. En la Figura 6 se muestra una fotografía del secador por aspersión utilizado en el presente trabajo.



Figura 6 Secador por aspersion (Mini Spray Dryer BÜCHI mod B-290)

6.3.3.1 Preparación de la solución de alimentación

Los materiales de soporte empleados fueron almidón modificado dual de maíz y maltodextrina en proporción 1:1 y se usó una mezcla de etanol: agua (50:50 % v/v) como disolvente. Se suspendieron los materiales de soporte en la cantidad correspondiente de agua a 50 °C durante 15 min. Se dejó en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente y una vez enfriada la solución, se agregó la cantidad correspondiente del etanol y del ácido gálico (proporción 4:1, respecto al material de soporte), se agitó nuevamente durante 5 min antes de ser alimentado al secador. La solución alimentadora tuvo un contenido de sólidos de 5%. La preparación de las soluciones y los experimentos de secado fueron realizados el mismo día.

Los experimentos de secado por aspersion fueron realizados por duplicado, las condiciones de secado empleadas fueron: temperatura de entrada y salida de 140 °C y 60 °C, respectivamente.

Para los experimentos, el equipo estuvo conectado a una unidad de enfriamiento, el Inert Loop B-295, por seguridad de operación cuando se trabaja con solventes se usa una configuración de ciclo cerrado. El nitrógeno fue usado como gas inerte para prevenir una mezcla de gases explosivos. La concentración de O₂ en el ciclo cerrado se mantuvo por debajo del 4 % vol.

Los polvos obtenidos fueron almacenados en bolsas tricapa y sellados al vacío para su análisis posterior.

6.3.4 Caracterización de las cápsulas

6.3.4.1 Análisis Fisicoquímicos

6.3.4.1.1 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por pérdida de peso, empleando el método de la estufa de vacío (AOAC 32.1.03., 1995). El método se describe en la sección 6.3.2.1.1.

6.3.4.1.2 Determinación de la Actividad de Agua (a_w)

El contenido de A_w se determinó de acuerdo al procedimiento descrito previamente en la sección 6.3.2.1.2.

6.3.4.1.3 Medición de la Temperatura de Transición Vítreo

La temperatura de transición vítrea (T_g) de los materiales de soporte se determinó con un calorímetro de barrido diferencial (TA Instrument, DSC 2500). Las muestras (2 mg) fueron colocadas en charolas de aluminio las cuales se sellaron herméticamente para su análisis. El análisis térmico se realizó en un rango de temperatura de -50 a 150 °C y una velocidad de 10 °C/min. El análisis se llevó a cabo por duplicado y los datos fueron procesados empleando el software TA Instrument Trios versión 4. La T_g se registró como la temperatura de inicio de la discontinuidad en la curva de flujo de calor.

6.3.4.1.4 Determinación de color

El color de las muestras fue medido con un colorímetro (HUNTER LAB Mod. MINI SCAN) que emplea el sistema CIE $L^*a^*b^*$. Las muestras se colocaron en charolas de plástico de 4 cm de diámetro y 1 cm de altura; el instrumento fue calibrado inicialmente con una teja blanca y una trampa de luz. Cada medición se realizó por triplicado. La información dada por L , a^* y b^* es expresada como el color total de la muestra, donde L representa el grado de luminosidad o brillo, va desde negro (0) a blanco (100), a^* la tendencia de rojo (60) a verde (-60) y b^* la tendencia de amarillo (60) a azul (-60). Mediante cálculos matemáticos, estos valores pueden ser convertidos a hue (H°) y croma (C^*).

Las fórmulas empleadas son las siguientes:

$$H^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad \text{Ec. 1}$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

Ec. 2

6.3.4.2 Análisis Morfológico

6.3.4.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La morfología de las microcápsulas se determinó mediante SEM con el método descrito en la sección 6.3.2.2.1.

6.3.4.3 Cuantificación del Compuesto Bioactivo

6.3.4.3.1 Extracción del compuesto bioactivo

Para determinar el contenido de fenoles totales (CFT) y la actividad antirradical (AAR) de las cápsulas, se obtuvo un extracto previo a la cuantificación. El proceso de extracción del compuesto bioactivo se realizó para determinar el contenido total de ácido gálico.

Se dispersaron 31.2 mg bs de las cápsulas en 25 mL de metanol y se colocaron en un baño ultrasónico durante 30 min. Posteriormente el extracto se filtró en un filtro empleando papel Whatman # 4 y fue usado para la determinación del CFT. Para la evaluación de la AAR el mismo extracto se diluyó 1:10 con el disolvente de extracción. Todos los extractos se almacenaron en congelación hasta su análisis.

6.3.4.3.2 Determinación del contenido de fenoles totales (CFT)

Se realizó por el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Chumark *et al.*, (2008). Se transfirieron 100 μ l de extracto a un matraz aforado de 10 mL y 6 mL de agua destilada, y se adicionaron 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu y se agitó con vortex. Después de 5 min, a esta solución se adicionaron 1.5 mL de una solución acuosa de Na₂CO₃ al 20% y nuevamente se agitó. La solución se aforó a 10 mL con agua destilada y se dejó reposar durante 2 h en una incubadora a 25 \pm 1 °C y posteriormente se realizaron las lecturas espectrofotométricas (Equipar, Mod. G 10S UV-VIS) a 760 nm. La curva de calibración se construyó a partir de una solución stock de ácido gálico con el disolvente de extracción a 1 mg/mL que se diluyó para obtener 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 mg/mL.

Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico en gramos por cada 100 g de base seca del extracto (g EAG/100 g bs).

6.3.4.3.3 Evaluación de la actividad antirradical (AAR)

La determinación se realizó según lo descrito por Siddhuraju & Becker, (2003). Se añadieron 0.1 mL del extracto a 3.9 mL de solución metanólica de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) a una concentración de 0.025 g/L. La muestra se incubó durante 90 min a 25 ± 1 °C. La absorbancia se midió a 517 nm en un espectrofotómetro (Equipar, Mod. G 10S UV-VIS). La solución de referencia se preparó con 0.1 mL del disolvente de extracción en lugar de la muestra y 3.9 mL de solución de DPPH. La actividad antirradical en porcentaje fue calculada con la Ec. 3:

$$\%AAR = \left[1 - \frac{A_m}{A_R} \right] * 100 \quad \text{Ec. 3}$$

Donde, AAR es la actividad antirradical, A_m la absorbancia de las muestras y A_R la absorbancia de la referencia.

La curva de calibración se construyó a partir de una solución stock de Trolox con el disolvente de extracción a 1 mg/mL que se diluyó para obtener 0.3, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 y 0.01 mg/mL. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (ET) en gramos por 100 g de base seca del extracto (g ET/100 g bs).

6.3.4.3.4 Cuantificación de ácido gálico por HPLC

La concentración de ácido gálico se determinó usando un equipo de HPLC (Varian ProStar, Mod. 240) acoplado con un detector UV-Vis (Waters, Mod. 2487). La separación se llevó a cabo en una columna de fase inversa C18 (150 mm x 4.6 mm, tamaño de partícula 5 μ m) a 35 °C. La fase móvil consistió en agua con ácido acético al 2 % (disolvente A) y la fase estacionaria en acetonitrilo con ácido acético al 2 % (disolvente B). La velocidad de flujo se mantuvo a 2 mL/min usando elución isocrática (60 % de disolvente A y 40 % de disolvente B) durante 12 min. Las muestras se filtraron a través de un filtro de membrana de 0.22 μ m antes de la inyección. El volumen de inyección fue de 5 μ L, y los picos fueron monitorizados a 260 nm. El ácido gálico se cuantificó usando una curva de calibración (0.05 a 0.3 mg/mL, $R^2=0.999$).

6.3.4.4 Rendimiento de encapsulación

El rendimiento de encapsulación se calculó como la relación del peso de las microcápsulas obtenidas y el peso inicial de la alimentación al secador.

$$RE = \frac{\text{Peso microcápsulas obtenidas}}{\text{Peso inicial en bs de la alimentación}}$$

Ec. 4

6.3.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5%. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas en las medias se utilizó el método de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey al mismo nivel de significancia. Se usó el programa Minitab 16 para el análisis estadístico.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Caracterización del material de soporte

7.1.1 Análisis Físicoquímicos

7.1.1.1 Contenido de humedad y actividad de agua (a_w)

En la Tabla 7 se presentan los valores obtenidos para el contenido de humedad y actividad de agua del almidón de maíz nativo, poroso (hidrolizado) y los almidones modificados dualmente.

En el almidón de maíz nativo se obtuvo 4.88% de humedad, García Rodríguez, (2011) encontró un valor de 9.8% para almidón de maíz ceroso y por su parte, Tovar Benítez, (2008) quien caracterizó almidón de maíz obtenido por distintos métodos de aislamiento obtuvo humedades de 6.79-8.28%, a pesar que lo reportado por ambas investigaciones son elevadas, se encuentran dentro del intervalo de humedad reportado para los almidones de cereales. Los almidones modificados, tanto el poroso como el dual presentaron valores elevados de humedad que oscilan entre 29 y 38%, siendo el almidón poroso el del valor más alto (38.82%), debido a que por su estructura porosa presenta un alto número de grupos hidroxilos expuestos que le permite formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua presentes en el ambiente (Tonon *et al.*, 2009). Es posible que, debido al entrecruzamiento, los almidones (AEP) hayan presentado un contenido de humedad menor que el poroso (AP), debido al menor número de grupos hidroxilos disponibles para ligar agua, ya que estos son sustituidos por el agente entrecruzante. En otro sentido, el elevado contenido de humedad también puede estar influenciado por el método de modificación empleado. A manera de comparación, Aparicio-Saguilán *et al.*, (2008) encontraron en almidón de plátano entrecruzado, un contenido de humedad de 3.605%, menor que el obtenido en éste estudio.

Por otro lado, el valor de actividad de agua para el almidón nativo es de 0.513, mientras que para los almidones modificados oscilan entre 0.992 y 0.997, son valores elevados que se correlacionan con los resultados de humedad.

Tabla 7. Contenido de humedad y actividad de agua de los materiales de soporte.

Muestra	Humedad (% , b.s.)	Actividad de Agua (a_w)
AN	4.88 ± 0.709 ^e	0.513 ± 0.000 ^d
AP	38.82 ± 0.673 ^a	0.992 ± 0.003 ^b
AEP4	32.27 ± 0.903 ^c	0.980 ± 0.002 ^c
AEP6	35.42 ± 0.521 ^b	0.997 ± 0.001 ^a
AEP8	29.83 ± 0.933 ^d	0.992 ± 0.001 ^b

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

7.1.1.2 Temperatura y entalpía de gelatinización

La gelatinización del almidón es el colapso (interrupción) de los órdenes moleculares dentro del gránulo de almidón, manifestado en cambios irreversibles en propiedades tales como hinchamiento del gránulo, fusión cristalina, pérdida de la birrefringencia, aumento en la viscosidad y solubilidad del gránulo (Singh *et al.*, 2007). Cabe mencionar que la temperatura de gelatinización varía de acuerdo con la fuente del almidón y su tamaño de gránulo (Aparicio-Saguilán *et al.*, 2006; Liu, 2005).

Las temperaturas y entalpías de gelatinización del almidón nativo y los almidones modificados se muestran en la Tabla 8. El almidón nativo y el poroso presentaron temperaturas y entalpías similares de 73 °C y 9 J/g, respectivamente. Por otro lado, para los almidones entrecruzados porosos no hubo diferencias significativas entre ellos (4, 6 y 8%); todos mostraron temperaturas de gelatinización más altas ($\approx 2^\circ\text{C}$) (Figura 7) y entalpías más bajas, comparado con su contraparte nativa, lo cual puede deberse a que el entrecruzamiento estabilizó la estructura, requiriendo más temperatura para llevar a cabo la gelatinización. Esta tendencia coincide con las observaciones de Chatakanonda *et al.*, (2000), Chung *et al.*, (2004), Kartha & Srivastava, (1985) y Liu *et al.*, (2014), por otro lado, la disminución de la entalpía puede ser debido a que la hidrólisis enzimática afectó las zonas cristalinas del almidón.

Tabla 8. Temperaturas y entalpías de gelatinización del almidón nativo y los almidones modificados.

Muestra	Tp (°C)	ΔH (J/g)
AN	73.94 \pm 0.24 ^b	9.70 \pm 0.40 ^a
AP	73.64 \pm 0.01 ^b	9.12 \pm 1.42 ^{a, b}
AEP 4	75.63 \pm 2.66 ^a	6.25 \pm 0.82 ^{b, c}
AEP 6	75.72 \pm 0.19 ^a	4.43 \pm 0.01 ^c
AEP 8	75.85 \pm 0.08 ^a	4.39 \pm 0.51 ^c

Tp: Temperatura de gelatinización (°C); ΔH : Entalpía de gelatinización (J/g).

Valor promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Chatakanonda *et al.*, (2000) entrecruzaron almidón de arroz con un 9.2, 26.2 y 29.2% de STMP/STPP, observaron que la temperatura de gelatinización aumentó significativamente, conforme aumentaba el grado de entrecruzamiento; sin embargo, informaron que la entalpía de gelatinización no se vio afectada por el entrecruzamiento. Estos autores atribuyeron que la introducción de grupos fosfatos por STMP en el almidón tensó la estructura molecular y, por lo tanto, se gelatinizó a una temperatura más alta. Lo anterior coincide con lo reportado por Liu *et al.*, (2014), quienes estudiaron el efecto del almidón oxidado-entrecruzado de maíz.

Kartha & Srivastava, (1985) reportaron resultados similares con almidones de maíz entrecruzados con epiclohidrina, indicando que los almidones con mayor grado de entrecruzamiento mostraban entalpías de gelatinización menores.

Los bajos valores de ΔH de los almidones modificados (AEP) indican que se requiere una menor cantidad de energía para llevar a cabo la gelatinización. Chavan *et al.*, (1999) y Adebawale *et al.*, (2006) afirman que la gelatinización involucra el desdoblamiento y la fusión de las cadenas externas de amilopectina que están empacadas junto con las dobles hélices en racimos, mientras que el cambio de entalpía (ΔH) se debe principalmente al desdoblamiento de las dobles hélices más que a la destrucción de la cristalinidad. Sin embargo, se sugiere un estudio de difracción de rayos X para observar los cambios en la cristalinidad de los almidones modificados dualmente.

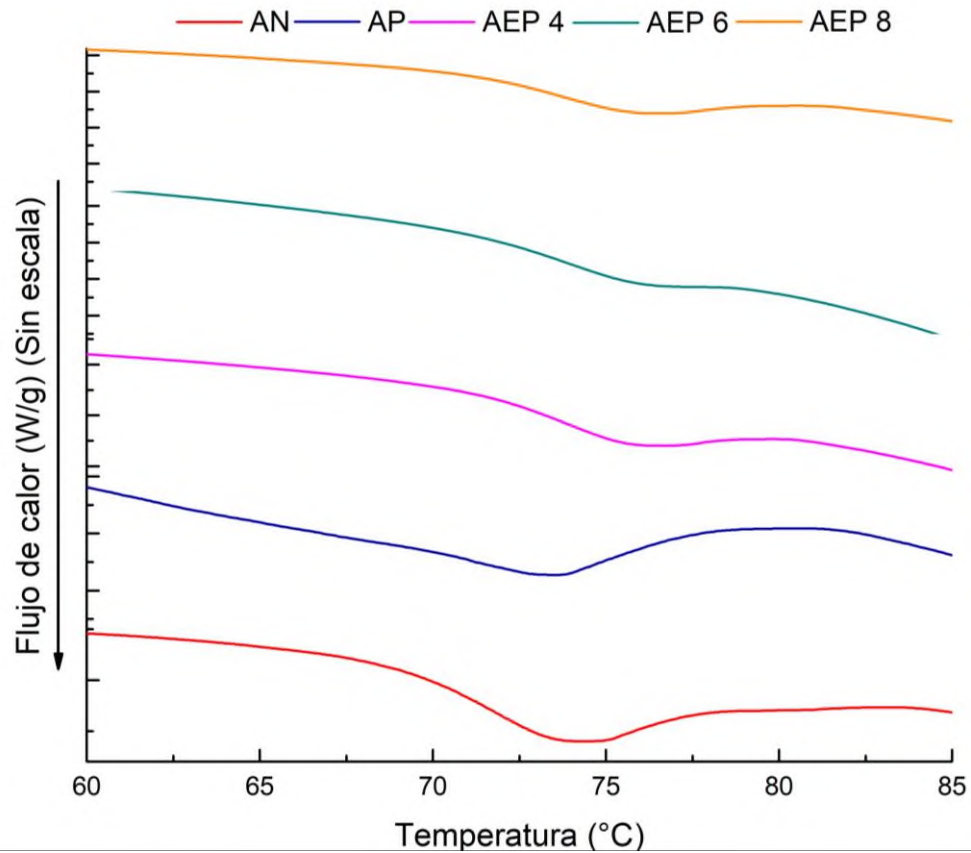


Figura 7. Termograma del almidón nativo y los almidones modificados.

7.1.1.3 Perfil de viscosidad

En los perfiles de viscosidad se observa una diferencia entre el comportamiento obtenido para el almidón nativo, el poroso y para los almidones modificados dualmente, estos últimos presentaron menor viscosidad durante el perfil completo (Figura 8). En la etapa de calentamiento, la viscosidad aumentó gradualmente hasta alcanzar un valor máximo. La viscosidad máxima a una concentración dada refleja la capacidad de los gránulos a hincharse libremente antes de su desintegración física (Adebowale & Lawal, 2003).

La modificación química conduce a un cambio considerable en las propiedades reológicas de los almidones. La viscosidad del almidón puede ser incrementada o reducida mediante la aplicación de una modificación química adecuada (Adebowale & Lawal, 2003).

El almidón nativo (AN) y el poroso (AP) presentaron valores de viscosidad superior, 1.674 Pa.s y 0.712 Pa.s, respectivamente, ambos a una temperatura de 90 °C (Figura 8a). Por el contrario, los almidones entrecruzados porosos presentaron valores muy bajos de viscosidad (Figura 8b), por lo que no se observó un perfil de viscosidad definido. A una $T=70^{\circ}\text{C}$, se observa una tendencia de la viscosidad a disminuir, al aumentar la concentración del agente entrecruzante, esto es debido a que los enlaces cruzados logran estabilizar la estructura granular del almidón. Este comportamiento coincide con lo reportado por Hirsch & Kokini (2002) quienes atribuyen que la viscosidad más baja de la muestra altamente entrecruzada se atribuye a la mayor densidad de enlaces cruzados. Otro punto importante es la modificación enzimática, debido a que el almidón poroso tiene una menor capacidad de hinchamiento, y, por lo tanto, la viscosidad disminuye. Esto puede observarse en la Figura 8a, la tendencia del AP en comparación con el AN. Presumiblemente, la modificación dual ayudó a reducir considerablemente la viscosidad del almidón nativo.

Durante la fase de cocción ($T=90^{\circ}\text{C}$) el almidón nativo (AN) tuvo un notable decrecimiento, mientras que el almidón poroso (AP) y los almidones entrecruzado porosos (AEP) mantuvieron una tendencia constante de viscosidad, estos resultados indican que el nivel de entrecruzamiento logró estabilizar las zonas amorfas (amilosa) del almidón. Se ha reportado que la amilosa es más susceptible a formar enlaces cruzados con el trimetafosfato de sodio tendiendo a disminuir la reasociación de las cadenas durante el enfriamiento.

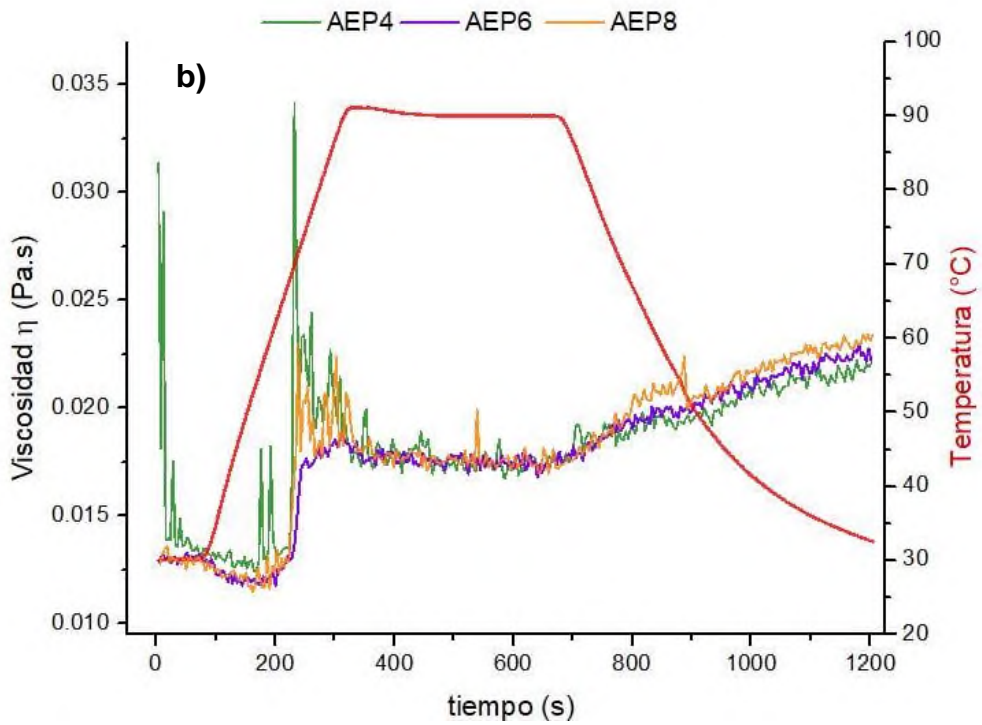
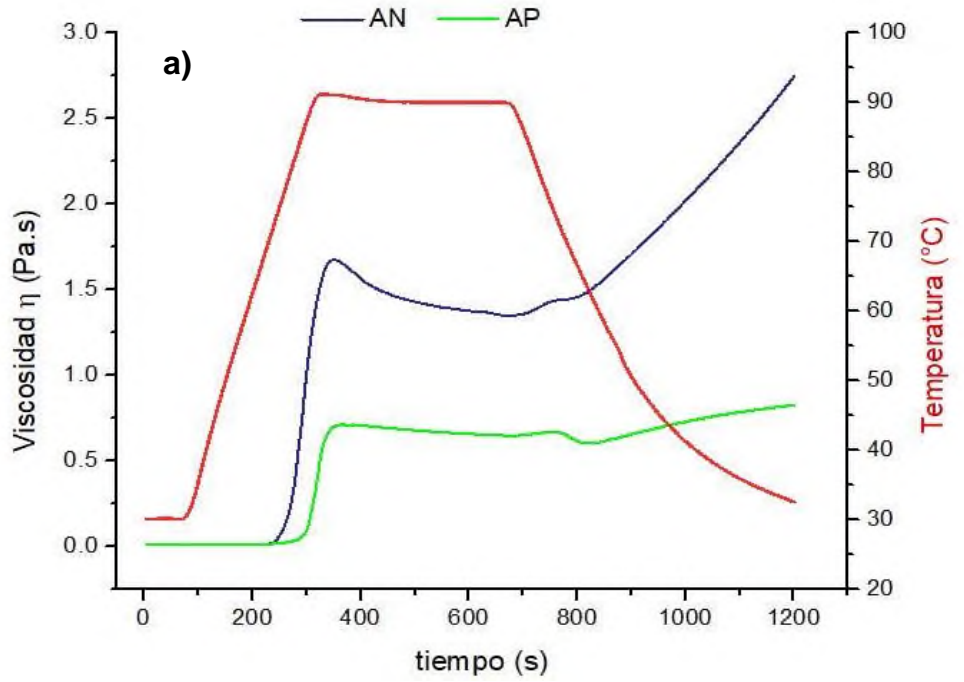


Figura 8. Perfiles de viscosidad del a) almidón nativo (AN) y poroso (AP) y b) los almidones modificados duales (AEP) con diferentes cantidades de agente entrecruzante, 4, 6 y 8%.

7.1.2 Análisis Morfológico

La morfología de los gránulos de almidón de maíz nativo y almidón modificado se observaron por SEM, como se muestra en la Figura 9. El almidón de maíz nativo (AN), mostró una forma granular redonda y poligonal, con una superficie relativamente lisa, característica de dicho almidón (Gao *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2012). El almidón de maíz nativo muestra algunos poros en la superficie del gránulo. Esta observación es consistente con los resultados de Fannon *et al.*, (1992) quienes informaron que algunos gránulos de maíz tienen pequeñas aberturas (poros) distribuidos al azar sobre sus superficies, presentándose en distintos grados. Estos resultados coinciden con diversos reportes que indican que el almidón nativo de maíz presenta poros y canales Dura *et al.*, (2014); Karim *et al.*, (2008) y Zhang *et al.*, (2006).

Los gránulos de almidón hidrolizado (AP) muestran una estructura granular también redonda y poligonal, pero la superficie presenta muchos poros grandes, en donde algunos se han fusionado entre sí dando como resultado un tamaño de poro más grande, ocasionados por la hidrólisis enzimática a la que fueron sometidos. La exoactividad de la glucoamilasa y la endoactividad de la α -amilasa parecen funcionar sinérgicamente para “perforar” y ensanchar los poros en los gránulos de almidón. La presencia de poros en los gránulos de almidón maíz nativo, proporciona sitios potenciales para el ataque enzimático inicial, que posteriormente son usados como canales para la entrada de enzimas al interior del gránulo (Fannon *et al.*, 1992; Huber & BeMiller, 1997).

Helbert *et al.*, (1996) describieron el proceso de hidrólisis; primero, las enzimas se difunden aleatoriamente en la superficie de los gránulos, posteriormente la hidrólisis comienza en estos puntos, avanza radialmente hacia el centro (hidrólisis dirigida de superficie a núcleo) y esto da como resultado la formación de un poro y consecuentemente un canal hacia el núcleo del gránulo. Finalmente, la enzima queda atrapada dentro del gránulo y causa hidrólisis local regulada por difusión, que se extiende gradualmente (hidrólisis de regiones y capas).

Por lo que se refiere a los almidones modificados dualmente (AEP) se observa una disminución del número de poros con respecto al AP, esto puede deberse al efecto del entrecruzamiento que fortalece las uniones entre las cadenas impidiendo que las enzimas actúen en esa zona, dando como resultado el distanciamiento de poros entre sí (Sitohy & Ramadan, 2001). Estos resultados concuerdan con la baja viscosidad observada en los almidones modificados dualmente.

Entre los almidones (AP y AEP) se muestran pequeñas áreas residuales aparentemente no atacadas por la enzima, Karim *et al.*, (2008) observaron resultados similares, atribuyendolo a la

capacidad de los gránulos de adsorber la enzima. Visualmente no se observan diferencias entre los almidones porosos con diferentes cantidades de agente entrecruzante, a excepción del AEP-8 el cual presenta algunos gránulos con poros relativamente superficiales, atribuyéndose este hecho a una cantidad de agente entrecruzante mayor.

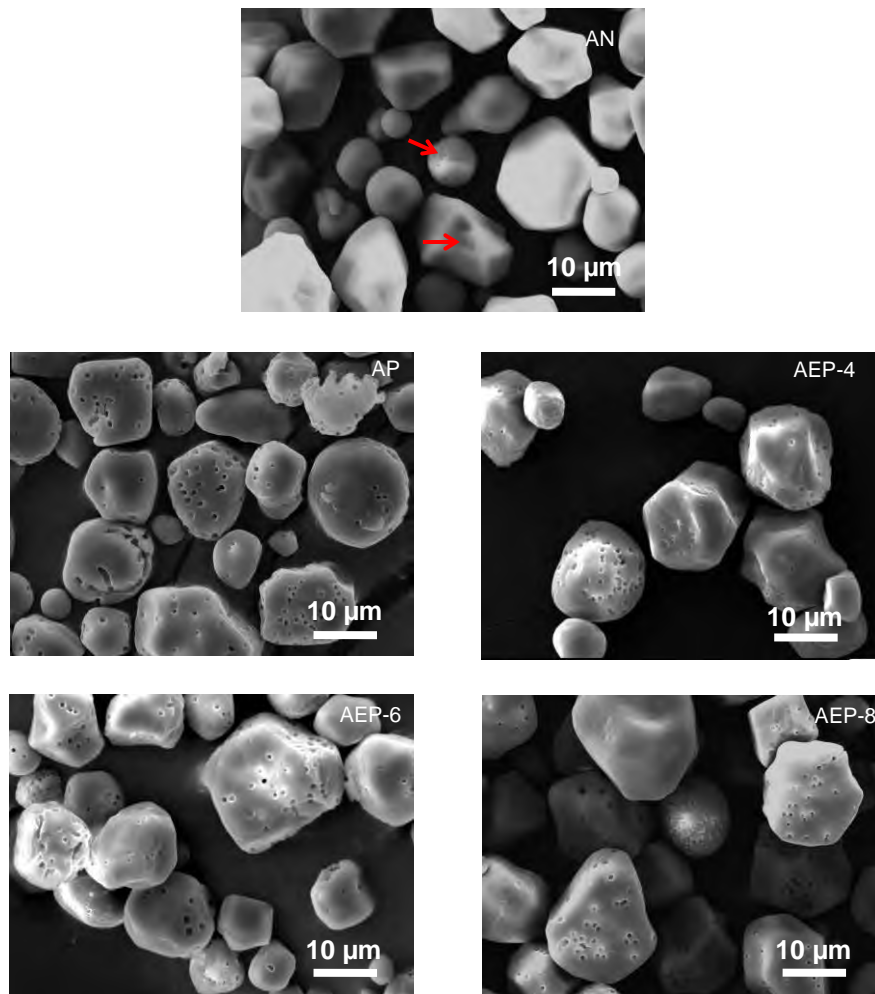


Figura 9. Microscopía electrónica de barrido del almidón nativo (AN), almidón poroso (AP) y almidones entrecruzados porosos (AEP) con diferentes cantidades de agente entrecruzante, 4, 6 y 8%.

7.1.3 Análisis Estructural

7.1.3.1 Espectros FT-IR

Se utilizó la espectroscopia infrarroja para estudiar los cambios en la estructura química de las moléculas de almidón resultantes de la modificación dual. El espectro de absorción infrarroja del almidón nativo, almidón poroso y los almidones entrecruzados porosos se muestran en la Figura 10. No se logró detectar cambios significativos en el patrón de espectroscopia FTIR de los almidones modificados, comparándolos con su contraparte nativa. Se encontraron señales características de la molécula del almidón, por ejemplo, los picos a 2945 cm^{-1} se atribuyen al estiramiento C-H, mientras que la banda extremadamente ancha que aparece a 3300 cm^{-1} se asocia con las vibraciones de estiramiento del grupo hidroxilo.

De acuerdo con la estructura química de STMP y la vibración de estiramiento de los compuestos de éster de fosfato, existe una banda de absorción para P-O-C a 810 cm^{-1} , y para el enlace P=O a 1210 cm^{-1} (Peng *et al.*, 2011), estos picos no fueron detectados en el espectro de las muestras del almidón entrecruzado poroso, dada la sensibilidad del equipo y la concentración tan baja de agente entrecruzante resultó difícil observarlos (Gao *et al.*, 2014), probablemente porque las señales quedan inmersas y se solapan con las señales del almidón, observándose iguales.

Por otra parte, la hidrólisis enzimática no conduce a un cambio en la estructura molecular del almidón. Por lo tanto, los grupos funcionales del almidón poroso de maíz son similares al almidón de maíz nativo. No obstante, se observa una disminución de los picos de absorción característicos en el AP, a causa de que la formación de poros da como resultado una reducción de la densidad granular del almidón (Zhang *et al.*, 2012a).

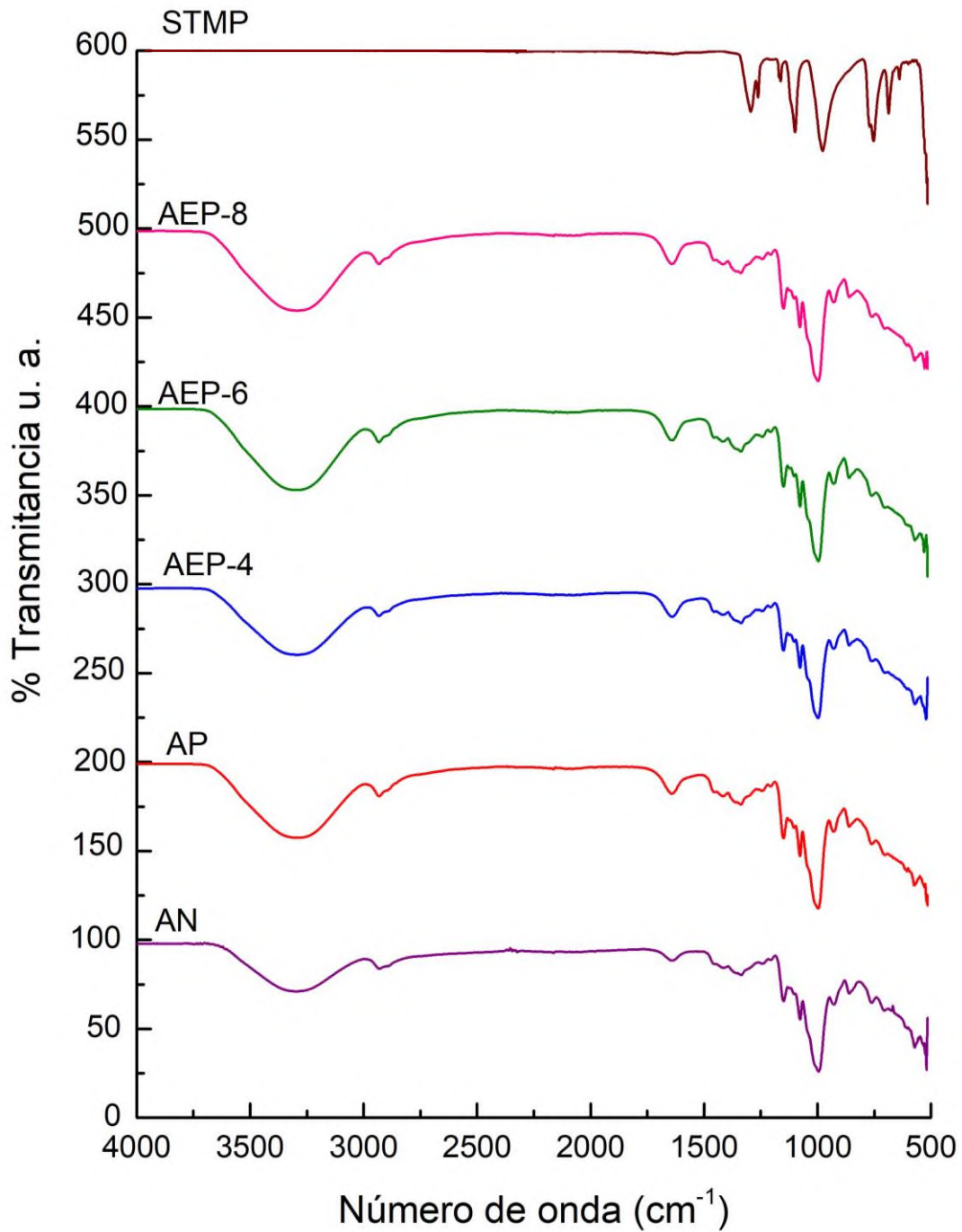


Figura 10. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier del agente entrecruzante, del almidón nativo y almidones modificados.

7.2 Caracterización de las microcápsulas

7.2.1 Análisis Físicoquímicos

7.2.1.1 Contenido de humedad y actividad de agua (a_w)

El agua puede existir en los alimentos en forma libre, ligada y como agua de hidratación (Fernández, 2000). Los microorganismos necesitan la presencia de agua de una manera disponible, es decir, en forma libre, para llevar a cabo sus funciones vitales. Cuando éstos se encuentran en un medio con baja actividad de agua, su crecimiento se detiene, manteniéndose en condiciones de latencia.

Los contenidos de humedad y a_w son parámetros muy importantes que desempeñan un papel importante en la evaluación de la calidad del polvo, la vida útil y la retención de bioactivos (Sharif *et al.*, 2017). En la Tabla 9 se muestra el contenido de humedad y de actividad de agua de las microcápsulas obtenidas con el almidón nativo, el poroso y los almidones modificados duales. En resumen, las microcápsulas presentaron valores de humedad entre 2.57% a 4.44%; y de actividad de agua entre 0.36 a 0.54, estos valores se encuentran por debajo de la actividad de agua mínima requerida para el crecimiento y proliferación de los microorganismos ($a_w > 0.60$) (Badui Dergal, 2006), lo cual resulta favorable para la estabilidad de la microcápsulas. También se observa que a medida que la concentración de agente entrecruzante aumenta, el contenido de humedad y de actividad de agua de las muestras disminuye, esto podría estar influenciado con el excedente de agua de la alimentación por parte del contenido de humedad inicial del material de pared.

Tabla 9. Contenido de humedad y actividad de agua de las microcápsulas del almidón nativo y los almidones modificados.

	Humedad (% , b.s.)	Actividad de Agua (a_w)
AN-1	2.68 ± 0.275 ^b	0.439 ± 0.005 ^d
AN-2	3.26 ± 0.093 ^b	0.540 ± 0.000 ^a
AP-1	2.65 ± 0.074 ^b	0.363 ± 0.002 ^g
AP-2	3.15 ± 0.011 ^b	0.472 ± 0.001 ^{b, c}
AEP 4-1	4.44 ± 0.300 ^a	0.478 ± 0.001 ^b
AEP 4-2	3.26 ± 0.517 ^b	0.464 ± 0.000 ^c
AEP 6-1	2.92 ± 0.398 ^b	0.382 ± 0.005 ^f
AEP 6-2	2.81 ± 0.652 ^b	0.416 ± 0.001 ^e
AEP 8-1	2.57 ± 0.198 ^b	0.365 ± 0.003 ^g
AEP 8-2	2.78 ± 0.269 ^b	0.377 ± 0.003 ^f

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

El almidón entrecruzado poroso 4% (AEP 4-1) presenta el valor más alto de humedad, mientras que el resto de los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre sí. Por otra parte, la muestra con valor más elevado de actividad de agua fue el almidón nativo (AN-2), se puede observar que los valores correspondientes a este parámetro cambian significativamente dependiendo del material de soporte usado.

Los valores de contenido de humedad reportados por (Loksuwan, 2007) quien encapsuló β -caroteno con matodextrina y almidón nativo y modificado de tapioca, fueron de 2.11, 6 y 3.12%, respectivamente; valores similares a los encontrados en el presente trabajo, a diferencia de Palma-Rodríguez *et al.*, (2013) quienes encapsularon ácido ascórbico con almidones de diferentes fuentes botánicas, obtuvieron 1.5% de humedad en la muestra de almidón de maíz modificado siendo un valor muy inferior en comparación a los encontrados en este estudio, ellos atribuyeron la diferencia en el contenido de humedad a la estructura de gránulos y viscosidad de los almidones.

7.2.1.2 Evaluación de color

El color al igual que el sabor, son quizá los atributos de calidad más importantes de los productos deshidratados, desde el punto de vista de aceptación del consumidor. Los alimentos, ya sea en forma natural o procesada, poseen un color y sabor característico, por los cuales son identificados por el consumidor, por lo que, cualquier cambio en los mismos puede ocasionar su rechazo. De acuerdo con las investigaciones realizadas, se sabe que el color del alimento es fuertemente afectado durante los procesos de secado, desarrollando un mayor oscurecimiento a medida que se incrementa la temperatura y/o el tiempo de secado (Ren & Chen, 1998).

Teniendo en cuenta esto, el secado por aspersión ofrece ciertas ventajas con respecto a otros métodos de secado, como secado convencional con aire caliente y secado combinado de microondas al vacío con aire caliente, en los cuales el producto es expuesto a elevadas temperaturas y/o largos periodos de tiempo o bien, no hay uniformidad en el proceso generando zonas de mayor calentamiento en el producto, lo que conduce a una reducción significativa de su calidad. El secado por aspersión involucra tiempos de residencia cortos del producto en el secador, por lo que puede aplicarse incluso para el procesamiento de productos termo sensibles, de esta manera, el sabor, aroma y color del alimento son menos afectados, y combinándolo con algún material de soporte, estas propiedades pueden ser mejoradas (Páramo, 2005).

Los cambios en el color de los polvos de las microcápsulas y sus correspondientes conversiones en ángulo hue (H°) y croma (C^*) son comparados en la Tabla 10.

Se observa que cuando se usó almidón entrecruzado poroso (AEP) el valor de L* aumentó hasta 93.57 en comparación con el valor de L* del almidón nativo (87.42) y el poroso (91.26), este aumento es favorable, ya que indica mayor blancura en los microencapsulados, aumentando las posibilidades de ser usado en la industria alimenticia.

Tabla 10. Parámetros de color de las microcápsulas.

	L	a*	b*	H°	C*
AN-1	85.32 ± 0.34 ^e	0.17 ± 0.27 ^{b, c}	1.96 ± 0.25 ^{a, b}	0.43 ± 1.71 ^a	1.98 ± 0.22 ^{a, b, c}
AN-2	87.42 ± 0.74 ^{d, e}	0.17 ± 0.31 ^{b, c}	2.98 ± 0.50 ^a	0.45 ± 1.71 ^a	3.00 ± 0.48 ^a
AP-1	86.62 ± 0.33 ^{d, e}	1.03 ± 0.71 ^a	2.42 ± 0.68 ^{a, b}	1.05 ± 0.00 ^a	2.79 ± 0.78 ^{a, b}
AP-2	91.26 ± 0.12 ^{a, b, c}	-0.19 ± 0.21 ^{b, c}	1.80 ± 0.45 ^{a, b}	-1.46 ± 0.09 ^a	1.82 ± 0.46 ^{a, b, c}
AEP 4-1	93.57 ± 0.69 ^a	0.003 ± 0.21 ^{b, c}	2.09 ± 0.22 ^{a, b}	0.52 ± 1.71 ^a	2.10 ± 0.22 ^{a, b, c}
AEP 4-2	91.87 ± 0.96 ^{a, b}	-0.27 ± 0.12 ^c	1.73 ± 0.14 ^{a, b}	-1.42 ± 0.05 ^a	1.75 ± 0.16 ^{a, b, c}
AEP 6-1	89.07 ± 0.61 ^{b, c, d}	-0.45 ± 0.44 ^c	1.85 ± 0.65 ^{a, b}	-1.36 ± 0.14 ^a	1.91 ± 0.74 ^{a, b, c}
AEP 6-2	89.23 ± 0.98 ^{b, c, d}	0.62 ± 0.34 ^{a, b}	1.98 ± 0.39 ^{a, b}	1.25 ± 0.21 ^a	2.11 ± 0.28 ^{a, b, c}
AEP 8-1	89.12 ± 0.31 ^{c, d}	-0.07 ± 0.21 ^{b, c}	1.01 ± 0.83 ^b	0.52 ± 1.49 ^a	1.04 ± 0.57 ^c
AEP 8-2	91.29 ± 1.67 ^{a, b, c}	-0.51 ± 0.12 ^c	1.41 ± 0.35 ^b	-1.21 ± 0.09 ^a	1.51 ± 0.34 ^{b, c}

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05)

En cuanto a los parámetros a* y b*, se observó una disminución de los valores cuando se emplean los AEP como materiales de soporte, esto puede ser resultado de la modificación realizada. También se observa que ambos valores tienden a cero, lo cual es congruente dado que la muestra presenta un color blanco. Cabe mencionar que, el parámetro b* se encuentra relacionado con el desarrollo de reacciones de Maillard, las cuales se favorecen en presencia de oxígeno y humedad (Páramo, 2005), considerando lo anterior, resulta favorable haber obtenido valores bajos.

El ángulo hue (H°) representa la tonalidad o color (rojo, amarillo, azul y verde) (Clydesdale, 1969). Los microencapsulados muestran valores muy cercanos a cero, indicando que no hay color en ellas. El parámetro croma (C*) está relacionado con los valores de a* y b*, e indica la intensidad de la tonalidad, las muestras presentaron valores bajos, es decir una tendencia al color blanco.

7.2.1.3 Transición vítrea de las microcápsulas

La temperatura de transición vítrea (T_g) ocurre cuando el material cambia de un estado vítreo a uno gomoso, a una velocidad de calentamiento dada. Las propiedades de T_g de los polímeros son cruciales para la estabilidad de los productos; generalmente la literatura recomienda matrices semicristalinas, ya que son más estables debido a la baja movilidad del agua de las matrices, lo que ralentiza la difusión de oxígeno que altera la estabilidad del compuesto activo (Champagne & Fustier, 2007).

En la Tabla 11 se muestran los resultados de las temperaturas de transición vítrea de las microcápsulas obtenidas por secado por aspersión. De manera general, se observan valores de T_g entre 58 y 63 °C, lo que indica que los polvos estaban en un estado vítreo a temperatura ambiente, aunque estadísticamente no se encontró diferencia significativa entre todas las muestras. Un valor similar fue encontrado por Cai & Corke, (2000) para las microcápsulas con almidón ceroso fosforilado de maíz, presentando una T_g de 58 °C a una HR de 32 %. Valores de T_g más bajos (50.63 °C) fueron encontrados en el estudio realizado por Ramakrishnan *et al.*, (2018) para microcápsulas preparadas con almidón modificado con anhídrido octenil succínico (OSA). Por otro lado, Fernandes *et al.*, (2014) reportaron un valor más elevado para el aceite esencial de romero usando CAPSUL[®] un almidón modificado comercial, de 85.1 °C. La temperatura de transición vítrea se ve afectada por varios parámetros, como el peso molecular, la estructura química y el contenido de humedad del material (Bhandari & Hartel, 2005).

Tabla 11. Temperatura de transición vítrea de las microcápsulas.

Muestra	T_g (°C)
AN-1	62.18 ± 1.90 ^a
AN-2	62.72 ± 1.22 ^a
AP-1	59.34 ± 0.91 ^a
AP-2	60.91 ± 2.06 ^a
AEP 4-1	58.81 ± 0.54 ^a
AEP 4-2	61.40 ± 2.99 ^a
AEP 6-1	59.11 ± 0.06 ^a
AEP 6-2	61.68 ± 0.44 ^a
AEP 8-1	63.57 ± 3.12 ^a
AEP 8-2	61.37 ± 1.00 ^a

Valor promedio de dos repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Diversos investigadores han evaluado la temperatura de transición vítrea en función de la a_w con la finalidad de predecir la estabilidad del polvo durante el almacenamiento. Un ejemplo es el estudio realizado por Palma-Rodriguez *et al.*, (2013) quienes acondicionaron las microcápsulas en

atmósferas de soluciones salinas durante una semana a cinco diferentes valores de HR, con esto observaron que la Tg disminuía con el aumento de a_w , lo que indica que el agua actúa como un plastificante en la matriz de almidón. Esta tendencia también fue observada por Righetto & Netto, (2005). Es conveniente la realización de este estudio para las microcápsulas obtenidas en el presente trabajo, para evaluar la estabilidad del producto.

7.2.2 Análisis Morfológico

Las microcápsulas obtenidas mediante secado por aspersion, con los diferentes materiales de pared, fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (SEM), ya que esta técnica proporciona información sobre la apariencia de la superficie, la forma, la integridad y porosidad superficial de las microcápsulas.

En la Figura 11 se presentan las micrografías magnificadas 2000 veces. De manera general, las micrografías muestran partículas irregulares con una amplia distribución de tamaños, causando aglomerados. Las microcápsulas generadas por almidón nativo, poroso y almidón entrecruzado poroso con 4% de STMP (AEP 4) muestran morfologías similares, partículas irregulares, superficie abollada y aglomeración; por otro lado, en las micrografías obtenidas con almidón entrecruzado poroso 6 y 8% de STMP (AEP 6 y AEP 8) se observan partículas esféricas con superficie lisa; también, se observa la formación de cuellos entre los gránulos (coalescencia), dando un aspecto fundido. Este aspecto puede ser atribuido a la modificación del orden interno del gránulo de almidón, ya que la disminución del cambio de entalpía (ΔH) indica que la zona cristalina fue afectada. Teniendo en cuenta esto, se infiere que, al momento de la aspersion la estructura granular del almidón al ser más susceptible, colapsa, adoptando la forma de la gota y formando las microcápsulas.

Morfologías similares obtuvieron Georgetti *et al.*, (2008), quienes encapsularon extracto de soya empleando almidón comercial como material de pared, observaron partículas amorfas resultado de la aglomeración.

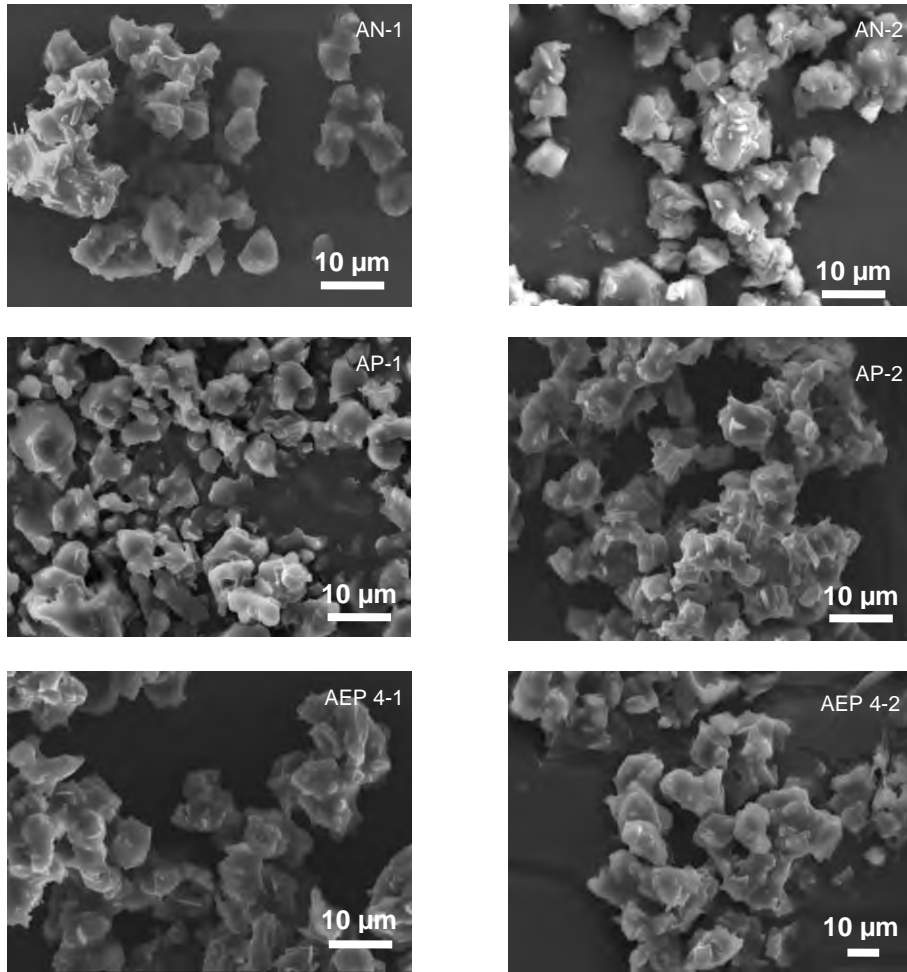


Figura 11. Microscopía electrónica de barrido de las microcápsulas conteniendo ácido gálico obtenidas con diferentes materiales de soporte. Parte I.

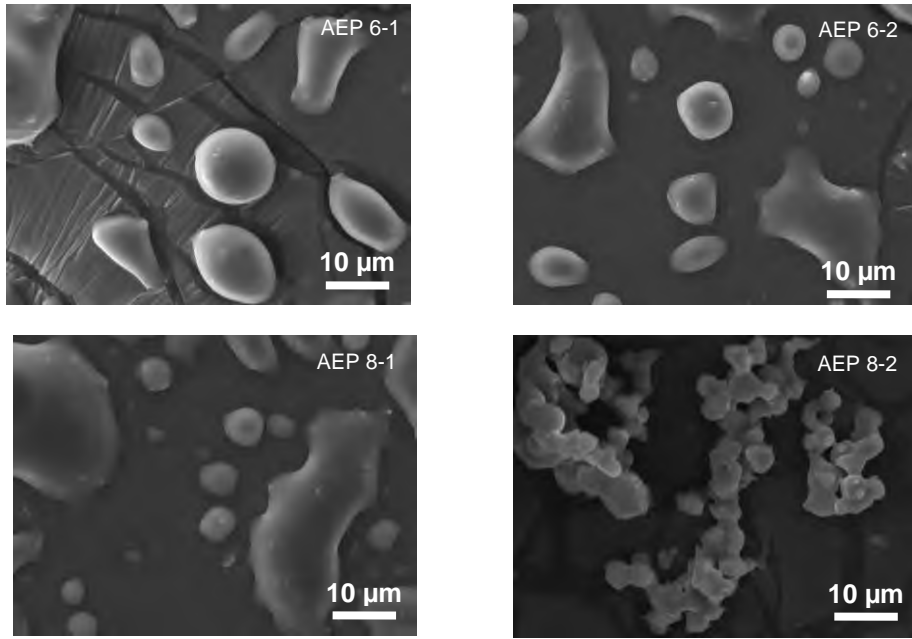


Figura 12. Microscopía electrónica de barrido de las microcápsulas conteniendo ácido gálico, obtenidas con diferentes materiales de soporte. Parte II.

7.2.3 Cuantificación del Compuesto Bioactivo

7.2.3.1 Determinación del contenido de fenoles totales (CFT)

Los resultados obtenidos del contenido de fenoles totales en las microcápsulas se muestran en la Tabla 12. Se encontró un valor máximo significativo de 47.65 g EAG/100g usando almidón entrecruzado poroso con 8% de STMP (AEP 8-2) y un valor mínimo de 36.38 g EAG/100g con la muestra de almidón entrecruzado poroso con 4 % de STMP (AEP 4-2), cabe mencionar que con esta muestra en particular se tuvo dificultad al alimentar al secador, pues se formaron pequeños grumos como remanente, a causa de esto puede deberse el bajo contenido de fenoles totales.

En la Tabla puede observarse que los almidones nativos (AN) y porosos (AP) mostraron los valores más bajos (< 40.61 g EAG/100g bs) y entre ellos no se observó diferencias significativas. Esto indica que empleando almidones modificados duales (AEP) como material de soporte, hay una mayor retención del compuesto bioactivo.

Del Juncal (2016), encapsuló jugo de zapote negro usando almidones modificados de arroz y realizó una cinética del contenido de fenoles totales, en el día 3 reportó un contenido de compuestos fenólicos de 700 mg EAG/100 g bs. Por su parte, Diaz *et al.*, (2015) encapsularon jugo de *Rubus fruticosus* usando como material de pared maltodextrina ED 10, reportando un valor de fenoles totales de 292.36 mg EAG/100 g bs. Estos valores son inferiores a los reportados en este estudio, diferencia atribuida principalmente al compuesto encapsulado, hay que tener presente que en este estudio se encapsuló un compuesto puro.

Tabla 12. Contenido de fenoles totales (CFT) y Actividad antirradical (AAr) de las microcápsulas.

Muestra	CFT (g EAG/100g bs)	DPPH (g ET/100g bs)	% Inhibición
AN-1	39.24 ± 2.28 ^{d, e}	123.03 ± 19.13 ^c	49.13 ± 7.61 ^c
AN-2	39.67 ± 0.30 ^{d, e}	121.37 ± 19.78 ^c	48.47 ± 7.87 ^c
AP-1	40.61 ± 0.87 ^{c, d, e}	140.43 ± 8.85 ^{b, c}	56.05 ± 3.52 ^{b, c}
AP-2	38.05 ± 1.36 ^{d, e}	147.81 ± 6.98 ^{b, c}	58.99 ± 2.78 ^{b, c}
AEP 4-1	44.36 ± 0.93 ^{a, b, c}	169.59 ± 3.76 ^{a, b}	66.82 ± 0.42 ^{a, b}
AEP 4-2	36.38 ± 3.27 ^e	148.82 ± 6.95 ^{b, c}	60.34 ± 2.57 ^{b, c}
AEP 6-1	45.89 ± 0.62 ^{a, b}	167.34 ± 9.53 ^{a, b}	66.76 ± 3.79 ^{a, b}
AEP 6-2	42.20 ± 1.15 ^{b, c, d}	151.19 ± 6.46 ^{b, c}	59.39 ± 2.76 ^{b, c}
AEP 8-1	46.49 ± 1.70 ^{a, b}	165.46 ± 3.39 ^{a, b}	66.01 ± 1.34 ^{a, b}
AEP 8-2	47.65 ± 1.77 ^a	174.98 ± 2.34 ^a	69.80 ± 0.93 ^a

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05)

7.2.3.2 Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de las microcápsulas se evaluó mediante el ensayo de DPPH, ya que es ampliamente usado para la medición de la capacidad de captación de radicales libres en alimentos. Gracias a su actividad de oxidación-reducción, los polifenoles tienen propiedades antioxidantes que hacen que estos compuestos sean excelentes donantes de hidrógeno, estabilizando varios radicales libres, como especies reactivas de oxígeno. En este mismo sentido, diversos autores destacan que existe una correlación positiva entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante (Fujita *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2014; Tolun *et al.*, 2016). Así mismo, en el presente trabajo (Tabla 12) observamos un aumento de la actividad antioxidante con el aumento del contenido fenólico.

Las microcápsulas elaboradas con almidón nativo y almidón poroso presentaron valores de actividad antioxidante bajos (< 147.81 g ET/100g bs), posiblemente a la pobre protección del material de pared resultando una mayor degradación del compuesto bioactivo. Por el contrario, cuando se usó almidón entrecruzado poroso como material encapsulante, la actividad antioxidante aumentó, siendo el AEP 8-2 el que presentó el máximo valor (174.98 g ET/100g bs), concordando con lo antes mencionado, debido a que también presentó mayor contenido de fenoles totales. Los altos valores de actividad antioxidante indican que empleando almidón entrecruzado poroso con 8% de STMP, se logra una menor degradación de compuesto bioactivo encapsulado.

Diversos autores reportan la actividad antioxidante en términos de porcentaje (%) de inhibición, a causa de esto y para tener una mejor comparación, estos datos se expresan en la Tabla 12. Georgetti *et al.*, (2008) evaluaron el efecto del secado por aspersión sobre la actividad antioxidante del extracto de soya, empleando almidón y maltodextrina como material de soporte. Reportan valores de 50.3% usando almidón y 52.8% empleando maltodextrina. Por otro lado, Krishnaiah *et al.*, (2012) encapsularon extracto de *Morinda citrifolia L.* utilizando como material de pared maltodextrina, evaluaron distintas temperaturas entrada, para efectos de comparación se consideró 140°C, reportando un valor de 11.9% de inhibición, sin embargo obtuvieron una menor degradación de antioxidantes empleando una temperatura de entrada a 90°C (28 %). Ambos trabajos reportan valores inferiores a los encontrados en este estudio.

7.2.3.3 Recuperación de ácido gálico

Los resultados al evaluar la recuperación de ácido gálico se describen en la Tabla 13. Se observa que la recuperación de ácido gálico con el almidón nativo y el almidón poroso oscilan en un 80%, así mismo, los resultados obtenidos con estos materiales de pared fueron mayores a lo reportado por Robert *et al.*, (2012), quienes reportaron una recuperación de 54.9% de ácido gálico mediante secado por aspersión usando almidón de papa nativo. Por su parte, Lokuwan (2007)

reportó una recuperación de β -caroteno de 68.35% empleando almidón de tapioca nativo como material de soporte.

Los resultados muestran una tendencia a aumentar la recuperación de ácido gálico en las micropartículas conforme se eleva la cantidad de agente entrecruzante del almidón modificado dual, obteniéndose una mayor retención del compuesto activo cuando se utiliza el almidón entrecruzado poroso con 8% de STMP (100%) como material de soporte. El alto valor de retención de ácido gálico indica que el almidón modificado dual es una buena opción para la encapsulación de compuestos bioactivos. Sin embargo, se sugiere que se realicen lavados de las microcápsulas para cuantificar la cantidad de ácido gálico superficial y de esa manera evaluar la eficiencia de la encapsulación

La encapsulación de ácido gálico por parte de Robert *et al.*, (2012) con almidón de papa acetilado mostró una retención de 74.3% de AG, menor que el encontrado en el presente estudio, se atribuye que la formación de aglomerados en las microcápsulas influyó en la mayor retención del compuesto bioactivo. Por otra parte, Palma-Rodriguez *et al.*, (2013) encapsularon ácido ascórbico (AA) empleando almidón maíz modificado y obtuvieron un 64.4% de AA.

Tabla 13. Rendimiento de secado y recuperación de ácido gálico en las microcápsulas con almidón nativo, poroso y almidones modificados duales.

Muestra	Recuperación			Rendimiento (%)
	Inicial (g AG/g ss)	Final (g AG/g ss)	%	
AN-1	0.204	0.180	88.23	46.00
AN-2	0.204	0.220	98.22	44.27
AP-1	0.237	0.206	86.63	44.57
AP-2	0.237	0.186	78.16	40.75
AEP 4-1	0.230	0.191	83.27	46.03
AEP 4-2	0.230	0.211	91.80	42.11
AEP 6-1	0.233	0.228	97.87	49.70
AEP 6-2	0.233	0.212	90.72	50.70
AEP 8-1	0.227	0.227	100	47.48
AEP 8-2	0.227	0.227	100	49.69

7.2.4 Rendimiento de secado

El rendimiento de secado refleja el porcentaje de microcápsulas obtenidas con respecto a la cantidad total de material (compuesto activo + material de pared). El rendimiento de secado para las muestras se presenta en la Tabla 13, se observa que osciló entre un 40 y 50%, obteniendo un mayor rendimiento cuando se empleó almidón entrecruzado poroso con 6% de STMP. Algunos investigadores reportan que diversos factores pueden afectar el rendimiento de los productos secados por aspersión, como las condiciones de funcionamiento del equipo (Ersus & Yurdagel, 2007; Jangam & Thorat, 2014; Souza & Oliveira, 2006) , el tipo de material de soporte (Couto *et al.*, 2011; Krishnan *et al.*, 2005) y la relación pared:núcleo (Frascareli *et al.*, 2012; Hogan *et al.*, 2001).

Krishnaiah *et al.*, (2012) a una relación 4:1 (pared:núcleo), observaron que cuando empleaban temperatura de entrada elevadas (140 °C), las partículas se acumulaban en la pared de la cámara, y por lo tanto, el rendimiento disminuía a 20.74 %, atribuyéndolo a un bajo contenido de humedad de las partículas que tendían a depositarse en la pared de la cámara. Al contrario, en este trabajo no se observó que las partículas se adhirieran a la cámara de secado, sino que las partículas grandes precipitaron.

En otros trabajos se han obtenido rendimiento de secado más alto; por ejemplo, en la encapsulación de luteína con una mezcla de almidón poroso se obtuvieron valores de 92% (Wang *et al* 2012), curiosamente a una temperatura de entrada de 190 °C, es evidente que los factores que afectan son muchos. Por lo que es recomendable realizar pruebas de optimización, para incrementar el rendimiento de los polvos.

VIII. CONCLUSIONES

La modificación dual afectó la estructura del almidón, lo que se vio reflejado en las propiedades de gelatinización y del perfil de viscosidad, dado que mostraron diferencias significativas con respecto a su contraparte nativa. El proceso de hidrólisis enzimática parcial permitió la formación de poros en los gránulos de almidón. No se detectaron cambios en los estudios realizados por espectroscopia infrarroja, debido a la baja concentración del agente entrecruzante, sin embargo, los análisis de viscosidad, térmicos y morfológicos confirmaron la modificación de la estructura granular del almidón.

Las microcápsulas elaboradas con almidones modificados presentaron mayor blancura, aumentando las posibilidades de ser usado en la industria. Por otro lado, las microcápsulas presentaron temperaturas de transición vítrea mayores a la temperatura ambiente, lo que indica estabilidad. En cuanto a la morfología, se observaron partículas irregulares y una evidente aglomeración.

Las microcápsulas secadas con almidón entrecruzado poroso con 8 % de STMP presentaron una mayor retención del compuesto activo y una menor degradación del mismo. En cuanto al rendimiento de secado, no se apreciaron diferencias empleando los distintos materiales de soporte.

Las características obtenidas del almidón modificado dualmente se acercan mucho a las características de los materiales de soporte, sin embargo, se recomiendan más estudios e investigaciones durante un periodo de tiempo más largo y continuo para obtener una mayor confiabilidad y resultados concluyentes.

IX. PERSPECTIVAS DEL TRABAJO

Se sugiere evaluar diferentes condiciones de operación del proceso de secado por aspersión, incluyendo diferentes temperaturas de entrada y de salida del gas de secado, además, probar diferentes relaciones de material de pared y compuesto bioactivo, para conocer su efecto sobre la retención del compuesto bioactivo en las microcápsulas.

Es importante realizar estudios de estabilidad y eficiencia de encapsulación en las microcápsulas obtenidas para evaluar la viabilidad del almidón modificado como material de pared. De igual forma se sugiere realizar estudios de liberación controlada del compuesto de interés y estudios de biodisponibilidad de las microcápsulas obtenidas.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Adebowale, K. O., Afolabi, T. A., & Olu-Owolabi, I. (2006). Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. *Carbohydrate Polymers*, 65, 93–101.
- Adebowale, K. O., & Lawal, O. S. (2003). Functional properties and retrogradation behaviour of native and chemically modified starch of mucuna bean (*Mucuna pruriens*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1541–1546.
- Adhikari, B., Howes, T., Bhandari, B. R., & Truong, V. (2001). Stickiness in foods: a review of mechanisms and test methods. *International Journal of Food Properties*, 4(1), 1–33.
- Aparicio-Saguilán, A., Gutiérrez-Meraz, F., García-Suárez, F. J., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2008). Physicochemical and Functional Properties of Cross-linked Banana Resistant Starch. Effect of Pressure Cooking. *Starch/Stärke*, 60, 286–291.
- Aparicio-Saguilán, A., Méndez-Montevalvo, G., Solorza-feria, J., & Bello-Pérez, L. A. (2006). Thermal and viscoelastic properties of starch gels from maize varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1078–1086.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (Pearson Ed).
- Bhandari, B. R., & Hartel, R. W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability. In C. Onwulata (Ed.), *Encapsulated and powdered foods* (pp. 261–292). New York: Taylor & Francis.
- Büchi. (2002). *Training Papers Spray Drying. Order code 97758*.
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65, 1248–1252.
- Cal, K., & Sollohub, K. (2010). Spray Drying Technique. I : Hardware and Process Parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 575–586.
- Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Bioactive Encapsulated Powders for Functional Foods - a Review of Methods and Current Limitations. *Food and Bioprocess Technology*, 8(9), 1825–1837.
- Champagne, C. P., & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 184–190.
- Chatakanonda, P., Varavinit, S., & Chinachoti, P. (2000). Relationship of Gelatinization and Recrystallization of Cross-Linked Rice to Glass Transition Temperature. *Cereal Chemistry*, 77(3), 315–319.
- Chavan, U. D., Shahidi, F., Hoover, R., & Perera, C. (1999). Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. *Food Chemistry*, 65, 61–70.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y. P. S., Morales, N., Phivthong-ngam, L. Ratanachamngong, P. Srisawat, S., & Pongrapeeporn, K. (2008). The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *J*

Ethnopharmacol, 116(3), 439–446.

Chung, H. J., Woo, K. S., & Lim, S. T. (2004). Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches. *Carbohydrate Polymers*, 55, 9–15.

Clydesdale, F. (1969). The measurement of color. *Food Technology*, 23, 16–22.

da Rosa, C. G., Borges, C. D., Zambiasi, R. C., Nunes, M. R., Benvenuti, E. V., Luz, S. R. da, Rutz, J. K. (2013). Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan. *Industrial Crops and Products*, 46, 138–146.

Dang, X., Yang, M., Shan, Z., Mansouri, S., May, B. K., Chen, X., ... Wai, M. (2016). On spray drying of oxidized corn starch cross-linked gelatin microcapsules for drug release. *Materials Science & Engineering C*.

Del Juncal Guzman, D. (2016). Microencapsulación de polifenoles contenidos en el jugo de zapote negro (*Diospyros digyna Jacq*) utilizando almidones modificados de arroz mediante secado por aspersión para su incorporación en yogur natural. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana.

Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technol*, 23, 1361–1394.

Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., & Barreiro, M. F. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. *Food & Function*, 6(4), 1035–1052.

Diaz, D. I., Beristain, C. I., Azuara, E., Luna, G., & Jimenez, M. (2015). Effect of wall material on the antioxidant activity and physicochemical properties of *Rubus fruticosus* juice microcapsules. *Journal of Microencapsulation*, 32(3), 247–254.

Din, Z.-, Xiong, H., & Fei, P. (2015). Physical and Chemical Modification of Starches - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2691–2705.

Dura, A., Błaszczak, W., & Rosell, C. M. (2014). Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase treatments. *Carbohydrate Polymers*, 101, 837–845.

Dziezak, J. D. (1988). Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*, Abril, 136–151.

Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota L.*) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 805–812. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.009>

Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(10), 510–523.

Fannon, J. E., Hauber, R. J., & BeMiller, J. N. (1992). Surface pores of starch granules. *Cereal Chemistry*, 69, 284–288.

Fernandes, V. R. D. B., Vilela, S. B., & Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101, 524–532.

- Fernández, E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos* (1a ed.). Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.
- Fujita, A., Borges, K., Correia, R., & Franco, B. D. G. M. Genovese, M. I. (2013). Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). *Food Research International*, *54*, 495–500.
- Gao, F., Li, D., Bi, C. H., Mao, Z. H., & Adhikari, B. (2014). Preparation and characterization of starch crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed by enzymes. *Carbohydrate Polymers*, *103*(1), 310–318.
- García Rodríguez, A. P. (2011). Obtención y caracterización de almidones modificados y su aplicación como agentes encapsulantes del bioinsecticida *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.
- Georgetti, S. R., Casagrande, R., Souza, C. R. F., Oliveira, W. P., & Fonseca, M. J. V. (2008). Spray drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *41*(8), 1521–1527.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, *40*(9), 1107–1121.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *50*(3), 213–224.
- Glenn, G. M., Klamczynski, A. P., Woods, D. F., Chiou, B., Orts, W. J., & Imam, S. (2010). Encapsulation of Plant Oils in Porous Starch Microspheres. *J Agric Food Chem*, *58*, 4180–4184.
- Hawlder, M. N. a., Perera, C. O., Tian, M., & Yeo, K. L. (2006). Drying of Guava and Papaya: Impact of Different Drying Methods. *Drying Technology*, *24*(1), 77–87.
- He, H., Hong, Y., Gu, Z., Liu, G., Cheng, L., & Li, Z. (2016). Improved stability and controlled release of CLA with spray-dried microcapsules of OSA-modified starch and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, *147*, 243–250.
- Helbert, W., Schulein, M., & Henrissat, B. (1996). Electron microscopic investigation of the diffusion of *Bacillus licheniformis* alpha-amylase into corn starch granules. *International Journal of Biological Macromolecules*, *19*, 165–169.
- Heng, D., Lee, S. H., Ng, W. K., & Tan, R. B. H. (2011). The nano spray dryer B-90. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *8*(7), 965–972.
- Hirsch, J. B., & Kokini, J. L. (2002). Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP and EPI) through swelling behavior and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. *Cereal Chemistry*, *79*(1), 102–107.
- Holm, J., & Bjorck, I. (1988). Effect of thermal processing of wheat on starch II. Enzymic availability. *Journal of Cereal Science*, *8*(3), 261–268.
- Huber, K. C., & BeMiller, J. N. (1997). Visualization of channels and cavities of corn and sorghum starch granules. *Cereal Chemistry*, *74*, 537–341.

- Jangam, S. V., & Thorat, B. N. (2014). Optimization of spray drying of ginger extract. *Drying Technology*, 28(12), 1426–1434.
- Karim, A. A., Sufha, E. H., & Zaidul, I. S. M. (2008). Dual modification of starch via partial enzymatic hydrolysis in the granular state and subsequent hydroxypropylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10901–10907.
- Kartha, K. P. R., & Srivastava, H. C. (1985). Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymers II. Starch reaction mechanism and physicochemical properties of modified starch. *Starch/Stärke*, 37(9), 297–306.
- Kivevele, T., & Huan, Z. (2014). A review on opportunities for the development of heat pump drying systems in South Africa. *South African Journal of Science*, 110(5–6), 1–11.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L . extract by spray-drying. *Chemical Engineering Research and Design*, 90(5), 622–632.
- Laurentin, A., Cárdenas, M., Ruales, J., Pérez, E., & Tovar, J. (2003). Preparation of indigestible pyrodextrins from different starch sources. *J Agric Food Chem*, 51(18), 5510–5515.
- Li, H., Thuy Ho, V. T., Turner, M. S., & Dhital, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 542–549.
- Li, J. (2014). The Use of Starch-Based Materials for Microencapsulation. In *Microencapsulation in the Food Industry* (pp. 195–210). Elsevier Inc.
- Liu, J., Wang, B., Lin, L., Zhang, J., Liu, W., Xie, J., & Ding, Y. (2014). Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. *Food Hydrocolloids*, 36, 45–52.
- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their role in food. In *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications* (pp. 309–355). New York, EUA: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Loacuteppez, O. V., Zaritzky, N. E., & Garciacutea, M. A. (2010). Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 160–168.
- Loksuwan, J. (2007). Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 21(5–6), 928–935.
- Lozano-Berna, M. (2009). Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *opuntia stricta* mediante secado por atomización. *Tesis de Licenciatura para obtener el Título de Ingeniero Técnico Industrial, especialidad en Química Industrial*. Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniera Industrial.
- Martínez-Navarrete, N., Camacho Vidal, M. del M., & Martínez Lahuerta, J. J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 2(2), 64–68.
- Masters, K. (1968). Spray Drying: The unit operation today. *Industry Engineering and Engineering Chemistry*, 60, 53–63.

- Masters, K. (1991). *Spray drying handbook* (5th ed.). New York, EUA: Logman Scientific & Technical.
- Medina-Torres, L., García-Cruz, E. E., Calderas, F., González Laredo, R. F., Sánchez-Olivares, G., Gallegos-Infante, J. A., Rodríguez-Ramírez, J. (2013). Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). *LWT - Food Science and Technology*, *50*(2), 642–650.
- Mujumdar, A. S. (2014). *Handbook of Industrial Drying. Drying Technology* (Fourth Edi). New York, EUA: CRC Press.
- Murugesan, R., & Orsat, V. (2012). Spray Drying for the Production of Nutraceutical Ingredients-A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *5*, 3–14.
- 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.
- Palma-Rodriguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch/Staerke*, *65*(7–8), 584–592.
- Páramo, D. E. (2005). Efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina sobre las propiedades del ajo deshidratado por aspersión. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Paredes-López, O., Bello-Perez, L. A., & López, M. G. (1994). Amylopectin: structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry*, *50*(4), 411–417.
- Peng, H. L., Xiong, H., Wang, S. Q., Li, J. H., Chen, L. X., & Zhao, Q. (2011). Soluble starch-based biodegradable and microporous microspheres as potential adsorbent for stabilization and controlled release of coix seed oil. *Eur Food Res Technol*, *232*(4), 693–702.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, *328*, 406–414.
- Ré, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology : An International Journal*, *16*, 1195–1236.
- Ren, G., & Chen, F. (1998). Drying of American ginseng (*Panax quinquefolium*) roots by microwave-hot air combination. *Journal of Food Engineering*, *5*, 460–461.
- Righetto, A. M., & Netto, F. M. (2005). Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. *International Journal of Food Properties*, *8*, 337–346.
- Ring, S. G., Gee, M. J., Whittam, M., Orford, P., & Johnson, I. T. (1988). Resistant starch: Its chemical form in food stuffs and effect on digestibility in vitro. *Food Chemistry*, *28*(2), 97–109.
- Robert, P., García, P., Reyes, N., Chávez, J., & Santos, J. (2012). Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system. *Food Chemistry*, *134*(1), 1–8.

- Rocha, G. A., Fávaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioprocess Processing*, 90(1), 37–42.
- Rosell, C. M., & Collar, C. (2008). Effect of various enzymes on dough rheology and bread quality. In R. Porta, P. Di Pierro, & L. Mariniello (Eds.), *Recent research developments in food biotechnology. Enzymes as additives or processing aids* (pp. 165–183). Kerala, India: Research Signpost.
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501–547.
- Sharif, H. R., Goff, H. D., Majeed, H., & Shamoan, M. (2017). Physicochemical properties of β -carotene and eugenol co-encapsulated flax seed oil powders using OSA starches as wall material. *Food Hydrocolloids*, 73, 274–283.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664–669.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). *J Agric Food Chem*, 51(8), 2144–2155.
- Singh, J., Kaur, L., & McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 1–22.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Sitohy, M. Z., & Ramadan, M. F. (2001). Degradability of different phosphorylated starches and thermoplastic film prepared from corn starch phosphomonoesters. *Starch/Stärke*, 53, 317–322.
- Souza, C. R., & Oliveira, W. P. (2006). Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* link extract. *Drying Technology*, 24(6), 735–749.
- Souza, V. B., Fujita, A., Thomazini, M., Silva, E. R., Lucon Jr, J. F., Genovese, M. I., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, 164, 380–386.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch - Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
- Tharanathan, R. N. (2005). Starch — Value Addition by Modification Starch ---- Value Addition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 371–384.
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23–33.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., & Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of acai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different

- carrier agents. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1950–1958.
- Tovar Benítez, T. (2008). *Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (Zea mays L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Vasisht, N. (2014). Selection of Materials for Microencapsulation. In *Microencapsulation in the Food Industry* (pp. 173–180). Elsevier Inc.
- Wang, Y. F., Shao, J. J., Wang, Z. L., & Lu, Z. X. (2012). Study of allicin microcapsules in β -cyclodextrin and porous starch mixture. *Food Research International*, 49(2), 641–647.
- Wang, Y. F., Ye, H., & Zhou, C. (2012). Study on the spray-drying encapsulation of lutein in the porous starch and gelatin mixture. *Eur Food Res Technol*, 234, 157–163.
- Whistler, R. L. (1991). U.S. Pat. 485082. Microporous granule starch matrix composition.
- Woo, K. S., & Seid, P. A. (1997). Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. *Carbohydrate Polymers*, 33(4), 263–271.
- Wurzburg, O. B. (1986). Cross-linked starches. In *Modified starches: Properties and uses* (p. 41–53. Boca Raton, FL: CRC Press.).
- Xing, Y., Xu, Q., Ma, Y., Che, Z., Cai, Y., & Jiang, L. (2014). Effect of porous starch concentrations on the microbiological characteristics of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. *Food & Function*, 5, 972–983.
- Zhang, B., Cui, D., Liu, M., Gong, H., Huang, Y., & Han, F. (2012). Corn porous starch: Preparation, characterization and adsorption property. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 250–256.
- Zhang, G., Ao, Z., Hamaker, B. R., & Lafayette, W. (2006). Slow Digestion Property of Native Cereal Starches. *Biomacromolecules*, 7, 3252–3258.
- Zhang, G., Venkatachalam, M., & Hamaker, B. R. (2006). Structural Basis for the Slow Digestion Property of Native Cereal Starches. *Biomacromolecules*, 7, 3259–3266.
- Zhang, T., & Oates, C. G. (1999). Relationship between α -amylase degradation and physico-chemical properties of sweet potato starches. *Food Chemistry*, 65(2), 157–163.

XI. ANEXOS

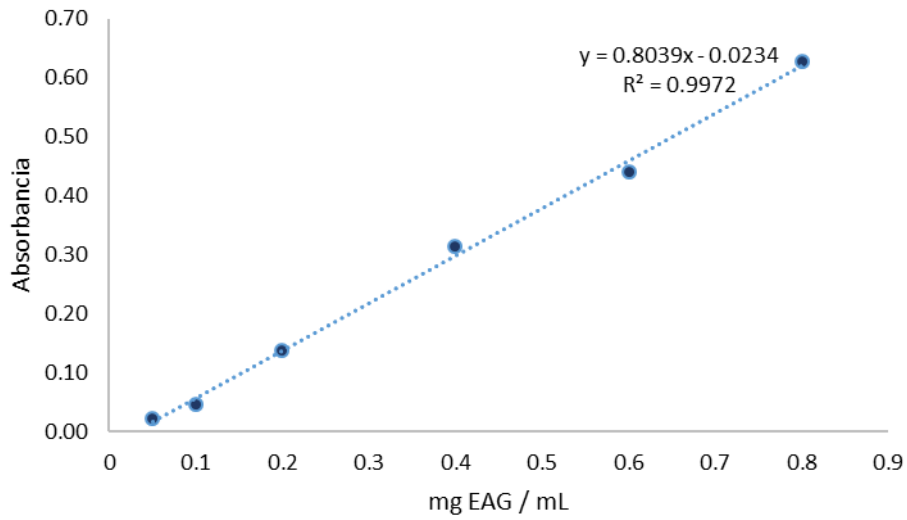


Figura 13. Curva estándar para la cuantificación de fenoles totales.

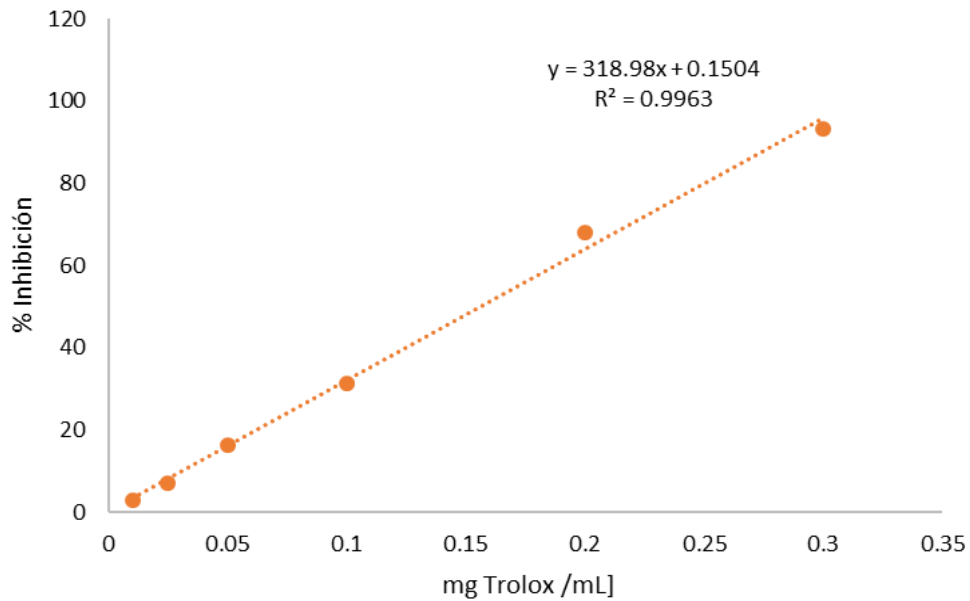


Figura 14. Curva estándar para la determinación de la actividad antioxidante.

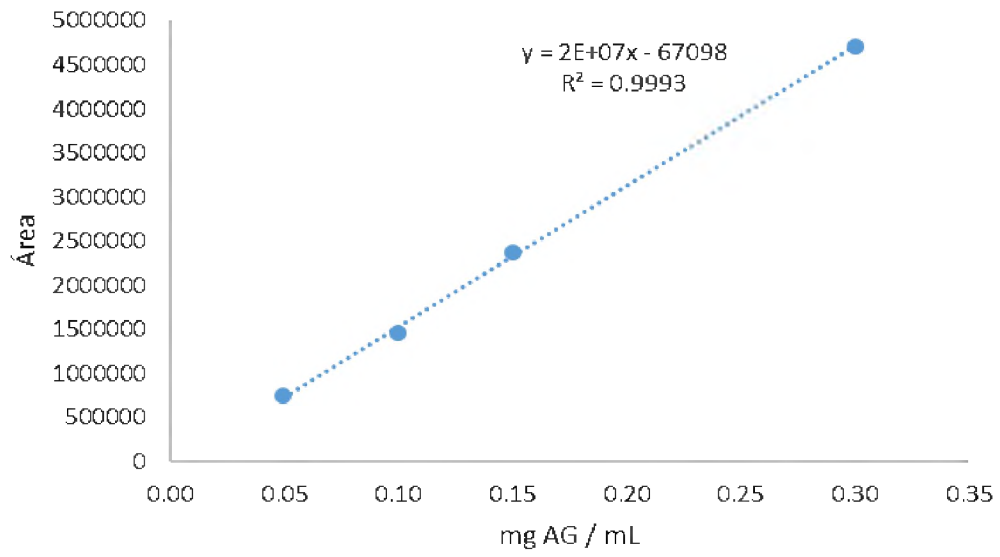


Figura 15. Curva Estándar de HPLC