

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Agroindustria Alimentaria**  
**Ingeniería en Agroindustria Alimentaria**



Proyecto Especial de Graduación  
**Encapsulación de fitoesteroles de palma (*Elais guineensis*) y su  
aplicación en yogur**

Estudiantes

Alexandra Angélica Farfán Sierra  
Xenia Maritza Murillo Contreras

Asesores

Luis Fernando Maldonado, Ph.D.  
Sandra Karina Espinoza, M.Sc.

Honduras, julio 2021

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**ADELA M. ACOSTA MARCHETTI**

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros.....	6
Índice de Figuras .....	7
Índice de Anexos .....	8
Resumen .....	9
Abstract.....	10
Introducción.....	11
Materiales y Métodos.....	14
Criterios de Búsqueda.....	14
Criterios de Selección de Artículos .....	14
Criterios de las Fases Experimentales del Estudio .....	14
Localización del Estudio .....	14
FASE 1. Elaboración de los Tratamientos de Fitoesteroles Microencapsulados .....	15
Materiales .....	15
Preparación de la Fase Orgánica.....	15
Preparación de la Fase Acuosa .....	15
Preparación de la Microencapsulación de Fitoesteroles .....	15
Deshidratado por Aspersión .....	16
Análisis Físicos y Químicos de Fitoesteroles Microencápsulados.....	16
Actividad de Agua .....	16
Tamaño de Partículas.....	16

Solubilidad.....	18
Análisis de Fitoesteroles .....	18
Capacidad de Carga.....	19
Diseño Experimental.....	19
FASE 2. Adición de Microcápsulas de Fitoesteroles de Palma Africana a un Yogur Natural .....	20
Análisis Físico - Químicos al Yogur Natural .....	21
Textura.....	21
Acidez Titulable Expresada Como Ácido Láctico (%ATECAL) .....	21
Cuantificación de Fitoesteroles Absorbidos .....	22
Diseño Experimental.....	23
Revisión Bibliográfica .....	24
Generalidades de los Fitoesteroles.....	24
Los Fitoesteroles y la Hipercolesterolemia.....	33
Estrategias de Encapsulación de Fitoesteroles para su uso en la Industria Alimentaria.....	35
Resultados y Discusión.....	44
FASE 1. Encapsulación de Fitoesteroles.....	44
Análisis Físicos y Químicos de la Microencapsulación de Fitoesteroles .....	44
FASE 2. Análisis Físicos y Químicos a Yogur Natural con Fitoesteroles Microencapsulados Añadidos	52
Textura.....	52
Acidez Titulable Expresada Como Ácido Láctico (%ATECAL) .....	52
Cuantificación de Fitoesteroles en el Yogur .....	53

Conclusiones .....	55
Recomendaciones .....	56
Referencias.....	57
Anexos.....	65

### Índice de Cuadros

Cuadro 1 Tratamientos con relaciones etanol:agua y porcentajes de maltodextrina a evaluar.....	20
Cuadro 2 Contenido medio de fitoesteroles en algunos alimentos vegetales (mg/100g) .....	26
Cuadro 3 Resultados del análisis de Actividad de agua en los tratamientos de microencapsulación de fitoesteroles. ....	45
Cuadro 4 Resultados de probabilidad de los factores y su interacción para la Actividad de agua. ....	45
Cuadro 5 Resultado de la Relación Etanol:Agua y el porcentaje de maltodextrina en el tamaño de partículas microencapsuladas de fitoesteroles. ....	47
Cuadro 6 Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para el tamaño de partículas de fitoesteroles microencapsulados.....	47
Cuadro 7 Resultado de la Relación Etanol:Agua y del porcentaje de maltodextrina en la solubilidad de los tratamientos de microencapsulación de fitoesteroles. ....	49
Cuadro 8 Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para la solubilidad de fitoesteroles microencapsulados.....	50
Cuadro 9 Resultado de la Relación Etanol:Agua y del porcentaje de maltodextrina en la Capacidad de carga de los tratamientos de microencapsulación de fitoesteroles.....	51
Cuadro 10 Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para la Capacidad de carga de microencapsulación de fitoesteroles.....	51
Cuadro 11 Diferencias entre los parámetros de Adhesividad, Firmeza y Cohesividad, del yogur control sin fitoesteroles añadidos entre el yogur con adición del mejor tratamiento de fitoesteroles encapsulados. ....	52
Cuadro 12 Diferencias entre la acidez del yogur control sin fitoesteroles añadidos entre el yogur con adición del mejor tratamiento de fitoesteroles encapsulados.....	53
Cuadro 13 Diferencia en el contenido de fitoesteroles entre el yogur control sin fitoesteroles añadidos y el yogur con adición de fitoesteroles encapsulados (100 g).....	54

## Índice de Figuras

Figura 1 Flujo de proceso de la elaboración de microencapsulación de fitoesteroles.....	17
Figura 2 Estructura del colesterol y esteroides vegetales. ....	27
Figura 3 Estructura de esteroides vegetales minoritarios. ....	27
Figura 4 Estructura de 4-desmetil-esteroides.....	28
Figura 5 Método de Soxhlet.....	29
Figura 6 Extracción con método de cromatografía líquida.....	30
Figura 7 Esquema de un cromatógrafo de gases.....	30
Figura 8 Tipos de microcápsulas .....	36
Figura 9 A) Aceite en agua. B) agua en aceite.....	42
Figura 10 Medidas de los tamaños de partículas de los tratamientos (Ejemplos). ....	48

### Índice de Anexos

Anexo A Resultados de la Relación etanol:agua en la Actividad de agua promedio de los tratamientos de microencapsulado.....	65
Anexo B Resultado del porcentaje de maltodextrina en la Actividad de agua promedio de los tratamientos de microencapsulado de fitoesteroles.....	66
Anexo C Resultados de la Relación etanol:agua en la capacidad de carga promedio de los tratamientos de microencapsulado (mg/g).....	67
Anexo D Resultado del porcentaje de maltodextrina en la Capacidad de carga promedio de los tratamientos de microencapsulado de fitoesteroles (mg/g).....	68



## Resumen

La encapsulación de compuestos bioactivos permite el aprovechamiento de moléculas que benefician la salud. Los fitoesteroles son fitoquímicos con estructura similar a la del colesterol, sin embargo, son sensibles a variados factores ambientales. En esta investigación, se realizó una revisión de literatura sobre las generalidades de los fitoesteroles y los diferentes materiales de encapsulación para que puedan ser integrados en alimentos. Asimismo, se realizó un estudio experimental usando diferentes concentraciones de maltodextrina (6 y 8%), relaciones etanol:agua (2:1 y 3:1) y una concentración constante de gelatina (5 mg/mL) para encapsular fitoesteroles. Se usó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial  $2 \times 2$  con tres repeticiones, una separación de medias ajustadas (LSMEANS) para la interacción de los niveles de los factores y una prueba Duncan para comparar las medias entre factores con un nivel de significancia de 95%. Se evaluó la solubilidad, actividad de agua, tamaño de partícula, morfología y capacidad de carga. Se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en actividad de agua y capacidad de carga. Por otro lado, solubilidad y tamaño de partícula no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Además, se adicionó el mejor tratamiento en capacidad de carga al yogur natural Zamorano y se evaluó su efecto en la textura, ATECAL y el contenido de fitoesteroles. La adición de fitoesteroles no afectó la acidez, firmeza ni cohesividad del yogur; sin embargo, se encontraron diferencias en adhesividad ( $P < 0.05$ ). Por último, la cuantificación de fitoesteroles indicó que el yogur conservó el 80% de fitoesteroles añadidos.

*Palabras claves:* Adhesividad, capacidad de carga, cohesividad, fitoquímicos.

### Abstract

The encapsulation of bioactive compounds allows the use of molecules that benefit health. Phytosterols are phytochemicals with a structure similar to cholesterol, however, they are sensitive to various environmental factors. In this research, a literature review was carried out on the generalities about phytosterols and the different encapsulation materials to integrate them in food. Likewise, an experimental study was carried out using different concentrations of maltodextrin (6 and 8%), ethanol: water ratios (2: 1 and 3: 1), and a constant concentration of gelatin (5 mg/mL) for encapsulating phytosterols. A Completely Randomized Design was used with a 2 × 2 factorial arrangement with three repetitions, a separation of adjusted means (LSMEANS) for the interaction of factor levels, and a Duncan test to compare the means between factors with a significance level of 95%. Solubility, water activity, particle size, morphology, and loading capacity were evaluated. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were obtained in the water activity and loading capacity. On the other hand, solubility and particle size did not show significant differences ( $P > 0.05$ ). In addition, the best treatment in loading capacity was added to Zamorano natural yogurt, and its effect on the texture, ATECAL, and the content of phytosterols were evaluated. The addition of phytosterols did not affect the acidity, firmness, or cohesiveness of the yogurt; however, differences in adhesiveness were found ( $P < 0.05$ ). Finally, the quantification of phytosterols indicated that the yogurt conserved 80% of added phytosterols.

*Keywords:* Adhesivity, cohesivity, load capacity, phytochemicals.

## Introducción

Actualmente las tendencias en alimentación y salud están enfocadas en promover una dieta más saludable (Murillo Serna y Rodriguez Salazar 2018), debido a esto, la industria alimentaria tiene la responsabilidad de suplir con nuevos productos capaces de responder a las nuevas necesidades del mercado. Para poder desarrollar este tipo de productos es necesario realizar diversos estudios que determinen los componentes que pueden utilizarse para mejorar el estilo de vida del consumidor.

“Evidencias científicas indicaron que los alimentos, además de nutrientes, pueden contener compuestos bioactivos capaces de prevenir diversas enfermedades y/o fortalecer el sistema inmunológico” (Ancos et al. 2016). Los compuestos bioactivos o fitoquímicos no son nutrientes esenciales, sino que suponen un aporte extra nutricional y por lo tanto propician investigaciones para que posteriormente se pueda trabajar con ellos en la industria, produciendo lo que se conoce como alimentos funcionales (Navarro-González y Periago 2016). “Estos componentes se encuentran en general en pequeñas cantidades en productos de origen vegetal y en alimentos ricos en lípidos” (Herrera Chalé et al. 2014).

Un grupo de los compuestos bioactivos son los fitoesteroles y se pueden clasificar en dos grupos: Esteroles y estanoles, siendo los primeros los más abundantes. Estos compuestos se consideran colesteroles vegetales porque son compuestos lipídicos de origen vegetal, pueden ser añadidos a la dieta por medio de alimentos naturales o suplementos alimenticios enriquecidos (Ogbe et al. 2015). Los fitoesteroles son componentes naturales de las células vegetales con amplia distribución en la naturaleza. Entre las especies vegetales existe una gran variabilidad en el contenido de fitoesteroles; en frutas y verduras su contenido es bajo, mientras que las semillas de oleaginosas y de cereales son las mayores fuentes naturales de fitoesteroles (Silva et al. 2016).

Las investigaciones sobre encapsulación de compuestos se han incrementado en los últimos años, esta técnica se usa en el desarrollo y fabricación de alimentos funcionales y nutraceuticos. Dicha estrategia consiste en confinar un compuesto activo dentro de una matriz polimérica (López Córdoba 2012). La encapsulación protege al compuesto bioactivo de las condiciones ambientales (Luz, oxígeno,

humedad y temperatura) y de esa manera prolongar su vida útil y facilitar su manipulación (Sanchez Molina et al. 2018). Asimismo, con este proceso el compuesto encapsulado se protege de reaccionar con los demás componentes del alimento, se impide su oxidación, se controla su liberación y en algunos casos no solo permite mejorar su valor nutritivo sino también su apariencia, color, sabor y textura (Hernández-Torres et al. 2016).

El material pared particularmente afecta la estabilidad de las micropartículas, la eficiencia del proceso y el grado de protección del núcleo activo (EsquivelGonzález et al. 2015). Los materiales para realizar una encapsulación varían según las propiedades del compuesto y del material, la aplicación que se le dará y su costo. Los materiales más usados son: Gomas, carbohidratos, celulosas, lípidos, proteínas y materiales inorgánicos (Ramírez Ortiz 2017).

Existen múltiples métodos usados para la encapsulación de compuestos y estos se dividen en dos grupos: Químicos y mecánicos. En cuanto a los mecánicos, los principales son: Secado por aspersión, aspersión por enfriamiento o congelación y extrusión. Por otra parte, los métodos químicos son: Coacervación, co-cristalización, gelificación iónica, polimerización interfacial, incompatibilidad polimérica e inclusión molecular (Arroyo Lobo 2015).

La hipercolesterolemia o colesterol alto en sangre hace referencia al contenido de colesterol LDL, por sus siglas en inglés, (Lipoproteínas de Baja Densidad) por encima de los valores deseables (< 240 mg/dl). Este tipo de colesterol es conocido por ser perjudicial debido a que en niveles muy altos tiende a depositarse en las paredes arteriales y se asocia con el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Muzo Moreta 2016). La ingesta mínima de fitoesteroles para producir la inhibición de la absorción intestinal de colesterol y reducir la concentración plasmática de c-LDL es de 2 g al día (Pascual Fuster 2017). (Muzo Moreta 2016).

El aceite de palma, se compone por ácidos grasos saturados e insaturados casi en la misma proporción, no obstante, algunos factores pueden favorecer a un perfil menos saturado (Gesteiro et al. 2018). Este aceite aporta 33% de ácidos grasos saturados (Cerca del 28% como ácido palmítico) y 66% de ácidos grasos insaturados (Aproximadamente 54% como ácido oleico); este contenido de ácido

oleico, un ácido graso monoinsaturado, proporciona propiedades cardio protectoras debido a su capacidad para reducir el colesterol malo o LDL (Mondragón y Pinilla 2015).

Debido a que la ingesta de fitoesteroles no alcanza la ingesta mínima para obtener sus beneficios, se requieren dosis suplementarias incorporando este compuesto a diferentes alimentos como margarinas vegetales, leche, yogur, barras de cereales y productos cárnicos procesados (Descalzo et al. 2018). Según la Administración de Medicamentos y Alimentos, FDA (Por sus siglas en inglés), define yogur, como un alimento que se produce a partir de uno o más ingredientes lácteos con un cultivo bacteriano que contiene las bacterias productoras de ácido láctico, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. El yogur natural es considerado como un alimento de alta densidad nutricional, fuente de minerales, vitaminas y proteínas de alta calidad; su consumo se asocia a un patrón alimentario saludable (Babio et al. 2017).

En este estudio se compiló información relevante a cerca de encapsulación de fitoesteroles y su efecto ante la hipercolesterolemia se realizó una parte experimental encapsulando fitoesteroles de palma africana (*Elaeis guineensis*) y su adición en yogur para determinar la cantidad de fitoesteroles recuperados a través del proceso de encapsulación.

Los objetivos de la investigación fueron:

Recopilar información sobre los fitoesteroles y los materiales más usados en encapsulación para su aplicación en la industria alimentaria.

Evaluar el efecto de la relación etanol:agua y porcentaje de maltodextrina sobre las propiedades físico-químicas de fitoesteroles de palma africana (*Elaeis guineensis*) microencapsulados con gelatina.

Determinar el efecto de la adición de fitoesteroles microencapsulados sobre la acidez, textura y cuantificación de fitoesteroles totales en yogur natural de Zamorano.

## **Materiales y Métodos**

### **Criterios de Búsqueda**

Se buscaron artículos relacionados con temas de métodos de encapsulación de fitoesteroles y estudios en su efecto ante el colesterol, dicha búsqueda tomó en cuenta los objetivos de la revisión bibliográfica. Para efectuar la búsqueda de información se revisaron bases de datos confiables. Principalmente se hizo uso de: “SciELO, Research4life, Springer, Science Direct, Dialnet, Elsevier, Annual Reviews, Researchgate y Redalyc”. La búsqueda se realizó tanto en inglés como en español, para ampliar la recopilación de información. La selección de las bases de datos se hizo con el fin de obtener información con base científica adecuada para la redacción de la revisión literaria.

### **Criterios de Selección de Artículos**

Se tomó en cuenta diferentes factores que calificaron a los artículos aptos para su inclusión en la revisión literaria, estos fueron: Bases de datos con credibilidad científica, el artículo no tiene más de 10 años publicado y su enfoque con relación a estrategias para la encapsulación de fitoesteroles y su efecto ante la hipercolesterolemia. Los criterios se aplicaron con la finalidad de tener una revisión literaria actual y con adecuada base científica.

### **Criterios de las Fases Experimentales del Estudio**

#### ***Localización del Estudio***

El estudio se dividió en dos fases. FASE 1: Microencapsulación de fitoesteroles. El deshidratado de muestras se realizó en la Planta de Innovación de Alimentos (PIA). Los análisis físicos y químicos se efectuaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ). Los análisis de tamaño de las microcápsulas se realizaron en el Laboratorio de Reproducción Animal. FASE 2: Adición de las microcápsulas en el yogur natural firme, análisis de textura, acidez y cuantificación de fitoesteroles totales, se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ). Cada uno de los laboratorios ubicados en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, ubicada en el km 30 de la carretera que conduce de Tegucigalpa a Danlí, Valle de Yeguaré, San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras.

## **FASE 1. Elaboración de los Tratamientos de Fitoesteroles Microencapsulados**

### ***Materiales***

Fitoesteroles de Palma (BIOSA<sup>®</sup>, Honduras), Gelatina B 275 Bloom (Gelnex<sup>®</sup>, Brasil), Maltodextrina (DE 10-15, Shandong Bangye Co Ltd, Shandong, China), Etanol EMSURE<sup>®</sup> (99%, UN1170, Alemania), agua desionizada y yogur natural Zamorano.

### ***Preparación de la Fase Orgánica***

Esta parte consistió en mezclar de fitoesteroles disueltos en etanol al 99%. La cantidad de fitoesteroles dependió de la cantidad de proteína y está a la vez de la relación etanol:agua. La preparación se realizó en un matraz de 1,500 mL, se le agregaron los fitoesteroles previamente pesados. Se adicionó la cantidad de etanol según cada relación, se mezcló y calentó en una plancha por 20 min, con una agitación de 700 rpm y nivel 7 de temperatura, hasta su completa disolución.

### ***Preparación de la Fase Acuosa***

Esta etapa consistió en la dilución de gelatina (Proteína) en 350 mL agua desionizada (5 mg/mL; esta cantidad fue constante en todos los tratamientos). Se pesó la gelatina para cada tratamiento, se depositó en matraces de 2,000 mL y se mezcló con agua a 700 rpm y temperatura a nivel 6 en una plancha, hasta que se disolvió la gelatina completamente. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para su posterior mezclado con la fase orgánica.

### ***Preparación de la Microencapsulación de Fitoesteroles***

La fase orgánica (Fitoesteroles disueltos en etanol) se mantuvo en movimiento en la plancha magnética y se agregó a la fase acuosa (Gelatina disuelta en agua), según el método “Flash desolvation” (Wang et al. 2018). Posteriormente, se evaporó el etanol de cada muestra en un “rotoevaporador” (BÜCHI, modelo R-100, Suiza). Los parámetros usados para el evaporado fueron: temperatura del baño María 60 °C, temperatura del refrigerante 10 °C, vacío 175 mbar y 400 rpm. Cuando se evaporó el etanol, y solo quedó presente la fase acuosa con los fitoesteroles encapsulados, se adicionó la maltodextrina de acuerdo con el porcentaje para cada tratamiento (6 y 8%). La muestra se colocó en matraces de 400 mL para su posterior deshidratado en el secador por aspersion.

### ***Deshidratado por Aspersión***

El deshidratado se realizó en un secador por aspersión (LabPlant SD-Basic, UK). Las condiciones de operación que se utilizaron para la manipulación del secador fueron: Temperatura de entrada 150 °C y temperatura de salida 90 °C. Se colocaron las muestras en un matraz de 400 mL, en la cual se introdujo una manguera de absorción. Luego se encendió la bomba peristáltica a velocidad 4, la cual absorbió la mezcla y la llevó al inyector donde la muestra se atomizó por medio de aire comprimido (300 kPa) a la cámara de deshidratado. En la cámara, las gotas atomizadas de la solución entraron en contacto con el aire caliente, el cual produjo una rápida reducción del contenido de agua y formó las partículas secas de la muestra. Las partículas sólidas fueron arrastradas y depositadas en un frasco portador de la muestra. Se extrajo la muestra seca para posterior envasado y pesado.

En la Figura 1 se muestra el flujo de proceso para la elaboración de fitoesteroles microencapsulados, donde se encuentra detallado cada paso del proceso.

### **Análisis Físicos y Químicos de Fitoesteroles Microencápsulados**

#### ***Actividad de Agua***

Se realizó la medición de la actividad de agua a través del método de la AOAC 978.18 haciendo uso de un Aqualab Serie 3 (Decagon Devices WA, USA).

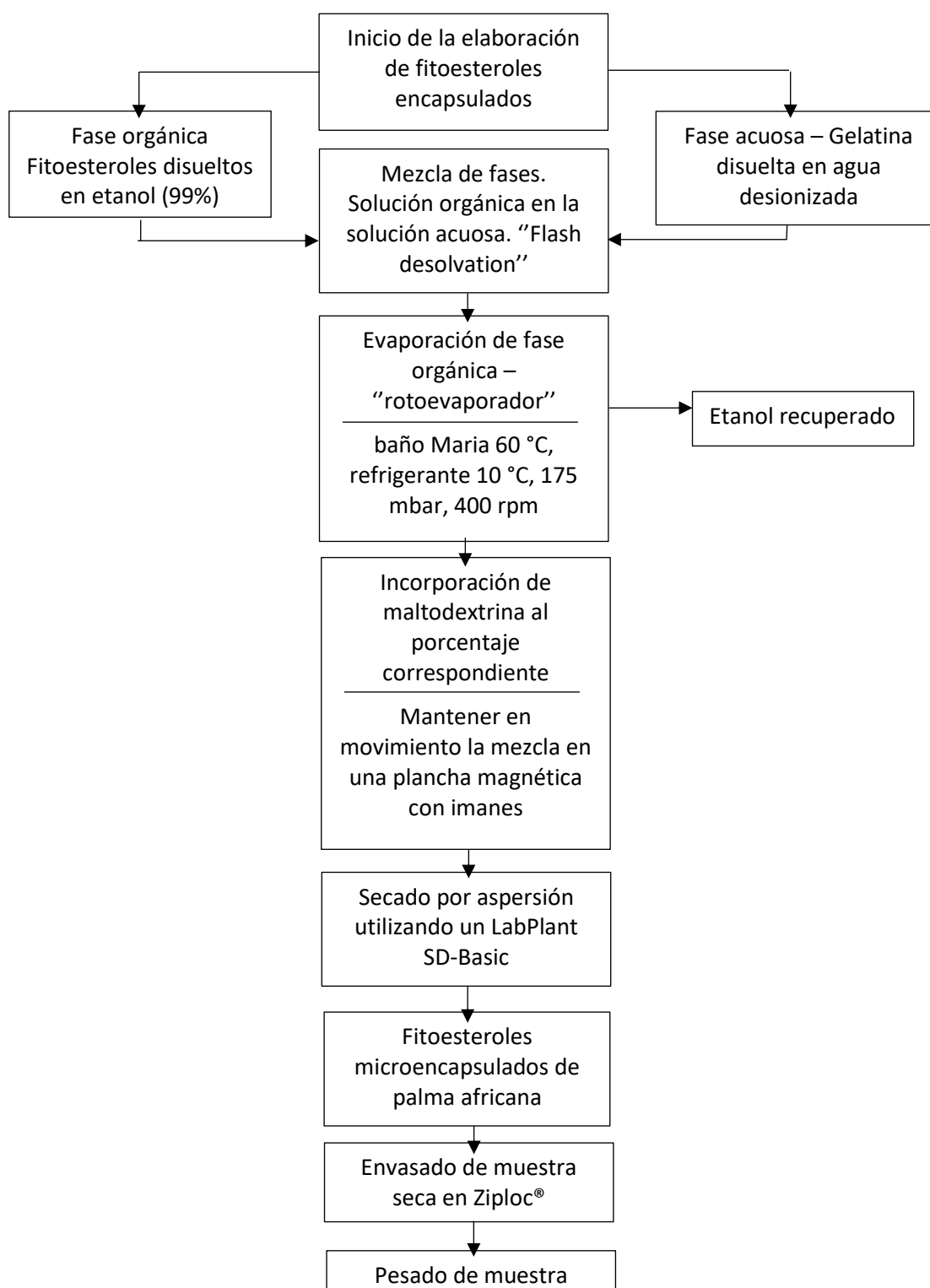
#### ***Tamaño de Partículas***

Las partículas fueron medidas en escala de 1000  $\mu\text{m}$ , para lo cual se utilizó un microscopio invertido marca Mshot MI11, con aumento de 40x. Para la captura de imágenes se usó una cámara Dino-Eye AM-423X y la medición de las imágenes se realizó con el programa Dino Capture versión 2.0 con escala en micrómetros.



Figura 1

Flujo de proceso de la elaboración de microencapsulación de fitoesteroles.



Nota. Flujo de proceso adaptado de Pérez, 2020.

### **Solubilidad**

Se pesaron 2 g de muestra en tubos de ensayo de centrifugación y se le agregó 24 mL de agua desionizada. Se agitó a 2,500 rpm por 5 min en un Vortex (Fisherbrand, EUA). Luego se colocó en un baño María a 30 °C por 30 min. Posteriormente, se centrifugó a 5,000 rpm por 15 min. Se extrajo el sobrenadante y se colocó en un plato Petri, los cuales se dejaron en un horno a 105 °C por 24 h. Para determinar el porcentaje de solubilidad se utilizó la Ecuación 1:

$$\% \text{ Porcentaje de solubilidad} = \frac{p_i - \text{PMI}}{p_i} * 100 \quad [1]$$

Donde:

$p_i$  = Peso inicial

PMI = Peso del material insoluble

### **Análisis de Fitoesteroles**

La medición del perfil y cuantificación de fitoesteroles encapsulados se realizó en un cromatógrafo de gases (CG) (Agilent 6890 Serie GC System, USA), el cual posee un software CG ChemStation 2010, y se utilizó el método de la AOCS Ce 12-16. Se preparó una solución estándar interno (IS) con Epicoprostanol, 5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -o1 (5 mg/mL) disuelto en tolueno.

Para cada uno de los tratamientos se pesó 1 g de muestra, la cual se derivatizó con BSTFA al 1% (N, O-Bistrifluoroacetamida). Se colocó la muestra en un matraz de 50 mL, a la cual se le agregó 5 mL del estándar interno disuelto en tolueno, se colocó tres perlas de vidrio y 5 mL de HCl a 3N. Posteriormente se colocó la muestra en un condensador de reflujo y con una plancha se calentó hasta 100 °C por 40 min, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente por 20 min. Una vez la muestra estaba fría, se realizó el primer lavado con una solución saturada de sal (NaCl), se le agregó la solución saturada hasta el cuello del matraz, se agitó por 3 min haciendo uso de una plancha magnética y un imán y se dejó reposar por 2 min. Luego se retiró la fase orgánica haciendo uso de una micropipeta, se colocó en otro matraz de 50 mL, al cual se le agregó 5 mL de NaOH metanólico a 3N y tres perlas de cristal. Se colocó nuevamente en el condensador de reflujo, se calentó con una plancha a 100 °C

por 15 min; pasado este tiempo se dejó enfriar por 20 min y se realizó el segundo lavado con una solución saturada (NaCl). Para la derivatización de los fitoesteres, se extrajeron 300 µL de la fase orgánica, los cuales se mezclaron con 250 µL de Piridina, 500 µL de BSTFA al 1% (N, O-Bistrifluoroacetamida), 0.001 g de sulfato de sodio y se colocó en un vial de 1.5 mL. Luego, los viales se centrifugaron (VWR, Symphony 4417R, Alemania) a 6,000 rpm por 2 min.

Finalmente, se analizó cada muestra en el cromatógrafo de gases. Las condiciones que cumple el cromatógrafo de gases Agilent 6890 Serie GC System para el análisis de fitoesteres son: Gas de arrastre: Hidrógeno; Columna: SP - 30 m x 0.320 mm x 0.25 µm; Horno: Temperatura inicial 55 °C por 3 min., temperatura final 120 °C por 2 min. y velocidad de calentador 20 °C/min; Detector (FID), Temperatura 250 °C, Presión del aire 450 mL/min y Presión del hidrógeno 40.0 mL/min; Inyector (Split) Temperatura 175 °C, Split ratio 80.0 y velocidad lineal 39 cm/s; Duración del método, 8.25 min; Volumen de inyección, 1.0 µL.

### **Capacidad de Carga**

Para determinar la capacidad de carga, se dividió la cantidad de fitoesteres encapsulados (mg) entre, la cantidad de muestra usada para la cromatografía de gases (1 g) por medio de la Ecuación 2, con algunas modificaciones (Zhang et al. 2017).

$$\text{Capacidad de carga} = \frac{(\text{FR})}{(\text{M})} \quad [2]$$

Datos:

FR = Fitoesteres recuperados por cromatografía de gases, mg.

M = Cantidad de muestra utilizada para cromatografía de gases, g.

### **Diseño Experimental**

Para los análisis físico-químicos como: Solubilidad en agua, actividad de agua, tamaño de las partículas y capacidad de carga, se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 2x2; utilizando dos relaciones etanol:agua (2:1, 3:1 v/v), y el factor porcentaje de maltodextrina de 6

y 8% (p/v). Se evaluaron cuatro tratamientos (Dos relaciones de etanol:agua y dos porcentajes de maltodextrina). Se hicieron tres repeticiones por tratamiento, obteniendo así un total de 12 unidades experimentales como se muestran el Cuadro 1. Para el análisis de los datos se utilizó el “Statistical Analysis System” (SAS® versión 9.4) con una separación de medias ajustadas (LSMEANS) para la interacción de los niveles de los factores, y una prueba Duncan para comparar las medias de los factores con un nivel de significancia de 95%.

### **Cuadro 1**

*Tratamientos con relaciones etanol:agua y porcentajes de maltodextrina a evaluar.*

Tratamientos	Descripción de los niveles de la relación etanol:agua		Maltodextrina (%)
	Etanol	Agua	
1	2	1	6
2	2	1	8
3	3	1	6
4	3	1	8

### **FASE 2. Adición de Microcápsulas de Fitoesteroles de Palma Africana a un Yogur Natural**

Acorde a los resultados obtenidos en la Fase 1, se escogió el tratamiento con la capacidad de carga más alta para ser adicionado a un yogur natural firme de la Planta de Procesamiento de Lácteos Zamorano. Según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.01.60:10) de etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad; se establece que un producto necesita al menos 0.65 g de fitoesteroles para ser indicado en la etiqueta que podría reducir el colesterol. Por lo tanto, los fitoesteroles se calcularon en base a un tamaño de porción de 225 g, necesitando 12.5 g del mejor tratamiento con 52 mg de fitoesteroles/g de muestra, para cubrir el mínimo requerido por la RTCA 67.01.60:10. Debido a la cantidad de yogur disponible, se realizó la conversión de fitoesteroles para agregar a 100 g de yogur, adicionando finalmente 5.5 g de fitoesteroles microencapsulados por repetición. Para incorporar los fitoesteroles al yogur, se utilizó una Hamilton Beach Hand Blender con el implemento batidor a la

menor velocidad durante 30 segundos, asimismo, el yogur control sin fitoesteroles fue batido para que ambas muestras tuvieran el mismo proceso.

Se midió a través del análisis químico de titulación, el impacto en la acidez (ATECAL) del yogur natural luego de agregar los fitoesteroles microencapsulados. A través de análisis físicos de textura, se determinó el cambio en adhesividad, cohesividad y firmeza en el yogur después de añadir los fitoesteroles microencapsulados. Por medio de un análisis de cromatografía de gases se determinó la cantidad de fitoesteroles en el yogur con las microcápsulas. Los análisis se realizaron comparando un yogur control sin fitoesteroles y el yogur con el mejor tratamiento añadido.

### **Análisis Físico - Químicos al Yogur Natural**

#### ***Textura***

Para realizar el análisis de perfil de textura (APT) se usó un Brookfield CT3 analizador de textura, empleando el método descrito por Pang et al. en el 2015, con algunas modificaciones por las autoras. Para esta prueba se usó un cilindro con una base plana de 25.4 mm de diámetro, velocidad de 0.5 mm/s. La altura de la muestra fue de 30 mm en un recipiente de 100 mL con una base plana de 45 mm de diámetro. Se aplicaron dos ciclos de compresión a una profundidad de 10 mm. Se cuantificaron los siguientes parámetros: Firmeza (N), adhesividad (mJ) y cohesividad.

#### ***Acidez Titulable Expresada Como Ácido Láctico (%ATECAL)***

Se hizo uso del método de la AOAC 947.05. Se pesaron 20 g de la muestra de yogur, se diluyó en agua desionizada al doble de su peso (40 mL) y luego se le agregaron 2 mL de fenolftaleína al 1%. Posteriormente, se procedió a titular la muestra utilizando 0.1M de NaOH, hasta que el color rosado fuera pálido y persistente. Se midieron los mililitros gastados de la solución de NaOH y se usó la Ecuación 3 para valorar el porcentaje de ácido láctico.

$$\%ATECAL = [(mL \text{ de } NaOH * 0.0090) \div 20 \text{ g de muestra}] * 100 \quad [3]$$

### ***Cuantificación de Fitoesteroles Absorbidos***

La medición del perfil y cuantificación de fitoesteroles encapsulados en yogur se realizó en un cromatógrafo de gases (CG) (Agilent 6890 Serie GC System, USA), el cual posee un software CG ChemStation 2010, y se utilizó el método de la AOCS Ce 12-16. Se preparó una solución estándar interno (IS) con Epicoprostanol, 5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -o1 (5 mg/mL) disuelto en tolueno.

Para cada uno de los tratamientos se pesó 1 g de muestra de yogur, la cual se derivatizó con BSTFA al 1% (N, O-Bistrifluoroacetamida). Se colocó la muestra en un matraz de 50 mL, a la cual se le agregó 5 mL del estándar interno disuelto en tolueno, se colocó tres perlas de vidrio y 5 mL de HCl a 3N. Posteriormente se colocó la muestra en un condensador de reflujo y con una plancha se calentó hasta 100 °C por 40 min, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente por 20 min. Una vez la muestra este fría, se realizó el primer lavado con una solución saturada de sal (NaCl), se le agregó la solución saturada hasta el cuello del matraz, se agitó por 3 min haciendo uso de una plancha magnética y un imán y se dejó reposar por 2 min. Luego se retiró la fase orgánica haciendo uso de una micropipeta, se colocó en otro matraz de 50 mL, al cual se le agregó 5 mL de NaOH metanólico a 3N y tres perlas de cristal. Se colocó nuevamente en el condensador de reflujo, se calentó con una plancha a 100 °C por 15 min; pasado este tiempo se dejó enfriar por 20 min y se realizó el segundo lavado con una solución saturada (NaCl). Para la derivatización de los fitoesteroles, se extrajeron 300  $\mu$ L de la fase orgánica, los cuales se mezclaron con 250  $\mu$ L de Piridina, 500  $\mu$ L de BSTFA al 1% (N, O-Bistrifluoroacetamida), 0.001 g de sulfato de sodio y se colocó en un vial de 1.5 mL. Luego, los viales se centrifugaron (VWR, Symphony 4417R, Alemania) a 6,000 rpm por 2 min.

Finalmente, se analizó cada muestra en el cromatógrafo de gases. Las condiciones que cumple el cromatógrafo de gases Agilent 6890 Serie GC System para el análisis de fitoesteroles son: Gas de arrastre: Hidrógeno; Columna: SP - 30 m  $\times$  0.320 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m; Horno: Temperatura inicial 55 °C por 3 min, temperatura final 120 °C por 2 min. y velocidad de calentador 20 °C/min; Detector (FID), Temperatura 250 °C, Presión del aire 450 mL/min y Presión del hidrógeno 40.0 mL/min; Inyector (Split)

Temperatura 175 °C, Split ratio 80.0 y velocidad lineal 39 cm/s; Duración del método, 8.25 min;  
Volumen de inyección, 1.0 µL.

### ***Diseño Experimental***

Para analizar las diferencias entre la muestra del yogur control sin fitoesteroles encapsulados y el yogur con adición del mejor tratamiento, según su capacidad de carga de fitoesteroles encapsulados, los datos se analizaron por medio de una Prueba T- estudiante con el programa "Statistical Analysis System" (SAS® versión 9.4). De esta manera se comparó y se definió si existe diferencias significativas entre ambas muestras en los parámetros fisicoquímicos como: Textura, ATECAL (%) y cuantificación de fitoesteroles.

## Revisión Bibliográfica

### *Generalidades de los Fitoesteroles*

#### ¿Qué son Fitoesteroles?

El término fitoesteroles se refiere a compuestos esteroideos de origen vegetal. Los esteroideos pertenecen a los lípidos y su estructura está compuesta por tres anillos C6 y un anillo C5, usualmente están unidos a grupos metilo en las posiciones 10 y 13, y en la posición 17 se encuentra una cadena lateral alquilo. En el caso de los esteroides, están compuestos por 28 a 29 átomos de carbono y la estructura difiere en el grupo hidroxilo que está presente en la posición tres del anillo A (Da Silva Marineli et al. 2015).

Función en las Plantas. Tanto los fitoesteroles y los fitoestanoles son el producto de su reducción química, tienen una amplia distribución en la naturaleza. Estos compuestos responden a metabolitos secundarios en las plantas; a pesar de no ser esenciales, son usados por sus células en procesos fundamentales para su supervivencia desempeñando funciones metabólicas importantes. Los fitoesteroles son claves para la formación de agregados lípidos que complementan procesos en la membrana plasmática de la célula, denominados micro dominios. También tienen un papel importante para la regulación en la fluidez y permeabilidad de la membrana. Son precursores de las hormonas, por ello influyen en el proceso de embriogénesis, crecimiento, desarrollo a través de la división celular y morfogénesis. Por otra parte, colaboran en la defensa de la planta ante el estrés, haciendo señales moleculares dentro de la planta o entre la planta (Tolve et al. 2020).

La función de los fitoesteroles en las plantas es muy similar a la del colesterol en la estructura de las membranas celulares animales. Los primeros pueden encontrarse principalmente en frutos, semillas, hojas y tallos de la mayoría de los vegetales. Es por esta razón que están normalmente presentes en nuestra alimentación, teniendo una ingesta diaria desde 160 a 500 mg/día, dependiendo de nuestros hábitos alimenticios (Silva et al 2016).



### **Fuentes de Fitoesteroles.**

El estudio de Silva P. y colaboradores indica que los fitoesteroles son producidos en las plantas por biosíntesis de los isoprenoides, esto ocurre en el citoplasma de la célula y se generan más de 25 reacciones catalizadas por diferentes enzimas (Silva et al. 2016). Surgen a partir de moléculas de acetil-CoA y la actividad enzimática de acetil-CoA carboxilasa, convirtiendo la Acetil-CoA en 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA, el cual se reduce a melovato. El melovato pasa por procesos sucesivos de fosforilaciones y una descarboxilación hasta que es transformado en isoprenoide, que finalmente da origen a los fitoesteroles.

Los alimentos vegetales son las principales fuentes de fitoesteroles, abundantes en estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol y campesterol. Las fuentes vegetales con mayor contenido de fitoesteroles son los aceites, frutos secos, semillas, legumbres y cereales (Merino et al. 2014). Dado que la dieta mediterránea está compuesta por una gran variedad y abundancia de estos alimentos ricos en fitoesteroles, proporciona un aporte importante de estos componentes en la ingesta (Tolve et al. 2020).

En el Cuadro 2 se presenta una lista de alimentos con su contenido de fitoesteroles por cada 100 g, los aceites tienen una mayor concentración de fitoesteroles en comparación con las frutas y vegetales. Tomando en cuenta que la recomendación de consumo de fitoesteroles por día debe ser mayor a 1 g (Ramírez Botero y Román Morales 2018) para apreciar sus beneficios, la cantidad de alimento a ingerir sería demasiado elevada.

Tipos de Fitoesteroles y sus Estructuras Químicas. Las investigaciones indican que existen más de 200 tipos de esteroides vegetales, estos compuestos son miembros de los triterpenos y tienen una estructura similar a la del colesterol; sin embargo, incluyen un grupo metilo o etilo en el Carbono 24. Los fitoesteroles más conocidos y abundantes son:  $\beta$ -sitosterol, campesterol y estigmasterol. Se ha comprobado que existe una gran variación de esteroides en semillas y frutos, ya que su perfil depende de los factores genéticos y ambientales, que se dan en los cultivos.

**Cuadro 2***Contenido medio de fitoesteroles en algunos alimentos vegetales (mg/100g)*

Alimento	Fitoesteroles (mg/100 g)
Aceite de salvado de arroz	1,190
Semillas de sésamo	714
Semillas de girasol	534
Aceite de soya	250
Aceite de oliva	221
Pistacho	214
Margarina	210
Almendra	114
Aceite de girasol	100
Zanahoria deshidratada	94
Pan trigo integral	86
Lentejas	57
Lechuga	38
Garbanzos	35
Arroz	28
Espárragos	24
Naranja	24
Plátano	16
Cebolla	15
Manzana	12

*Nota.* Tomado de USDA 2019

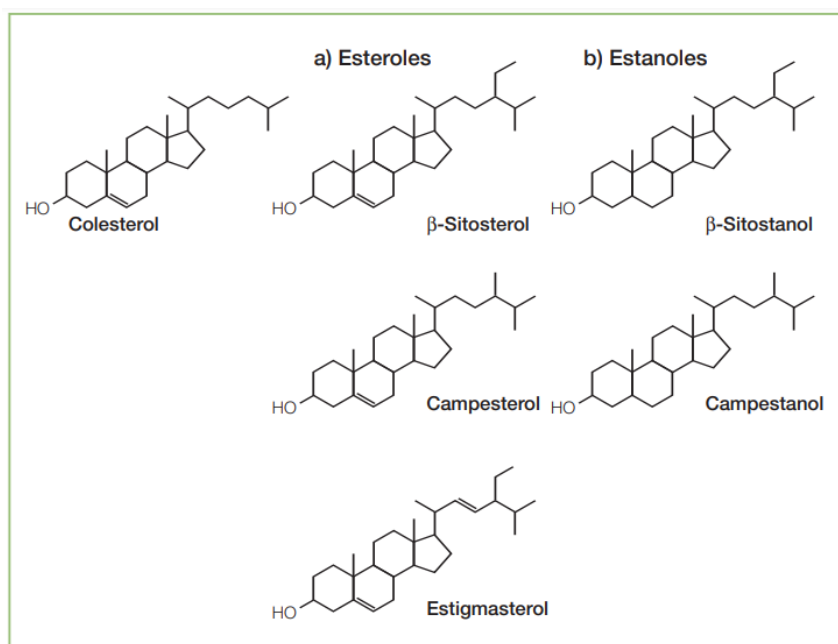
Las dos categorías de esteroides vegetales (esteroides y estanoles) se reflejan en los nombres del compuesto, por ejemplo, campesterol y campestanol (Figura 2). Los esteroides vegetales son complejos debido a su asimetría estérica, la adición de grupos alquilo en la cadena lateral da lugar a la aparición de un carbono asimétrico. Tanto esteroides como estanoles tienen estructuras similares, sin embargo, tienen un doble enlace en la posición 5, mientras los estanoles no lo tienen, ya que son la forma reducida de la molécula de fitoesterol y muchas veces se encuentran en menores cantidades. Los esteroides se convierten a estanoles con hidrogenación química. La diferencia entre ellas radica en la saturación entre los carbonos C-5 y C-6, además de la presencia del grupo metilo en la cadena lateral (Hernandez Olate et al. 2013).

Los fitoesteroides pueden incluir en su estructura grupos metilo en el carbono 4, dividiéndose en tres tipos: los 4,4 dimetilesteroides con dos grupos metilo, los 4-monometil-esteroides con uno, y los 4-desmetilesteroides que no poseen ningún grupo metilo adicional. Las primeras dos clases mencionadas se encuentran en minoría porque son intermediarios durante la síntesis de los esteroides

(Figura 3). Por otra parte, los 4-desmetil-esteroles poseen un esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno. En su estructura presentan un grupo -OH en el carbono 3, grupos metilo en los carbonos 10 y 13, y una cadena alifática en el carbono 17, cuya longitud varía de entre 8 y 10 carbonos (Figura 4) (Fernández de la Cuesta, A. 2014).

## Figura 2

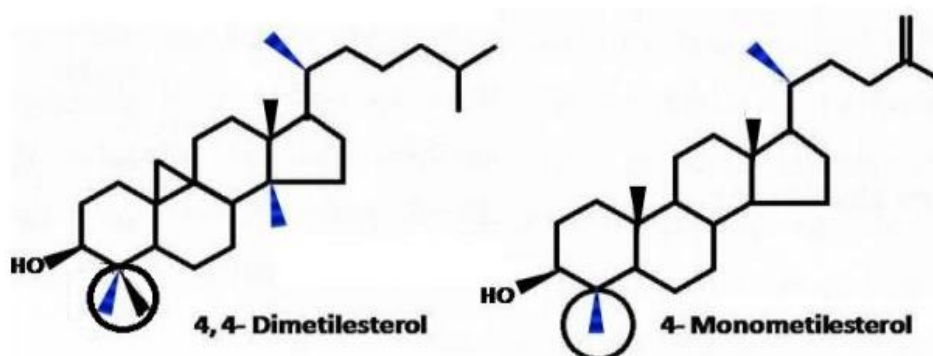
*Estructura del colesterol y esteroides vegetales.*



Nota. Tomado de Oliver et al. (2021)

## Figura 3

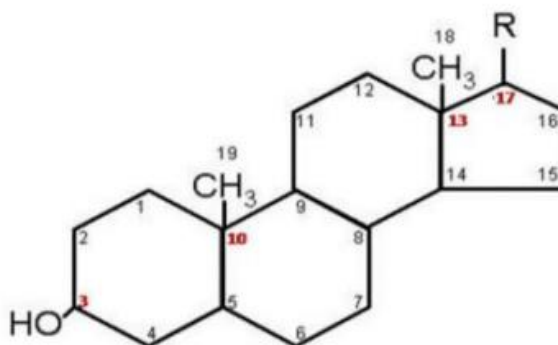
*Estructura de esteroides vegetales minoritarios.*



Nota. Tomado de Fernández de la Cuesta (2014)

**Figura 4**

*Estructura de 4-desmetil-esteroles.*

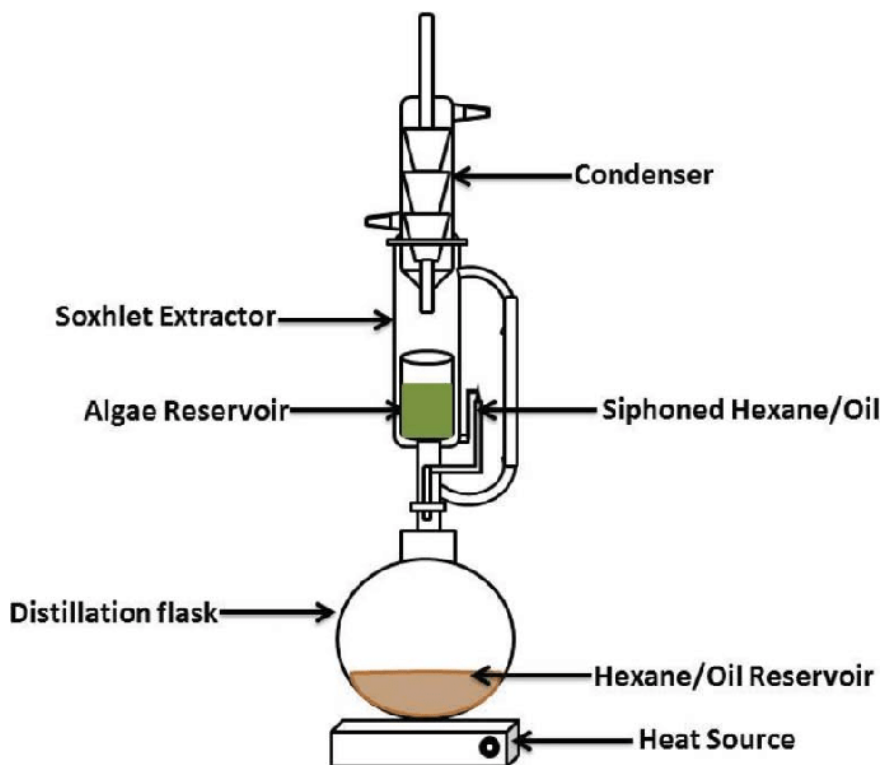


*Nota.* Tomado de Fernández de la Cuesta (2014)

Extracción de Fitoesteroles. Varias técnicas cromatográficas pueden analizar rápidamente compuestos bioactivos. Sin embargo, sus eficiencias pueden depender de los métodos de extracción, incluidos varios parámetros de extracción, la naturaleza del compuesto de interés y la matriz de la planta. Los estudios cualitativos y cuantitativos de compuestos bioactivos de materiales vegetales se basan principalmente en la selección de métodos de extracción adecuados (Uddin et al. 2018). El método de extracción a utilizar se elige dependiendo de las características del medio del compuesto a extraer, debe ser eficiente, factible, que conserve la bioactividad del extracto y que sea económico. Uno de los métodos convencionales es la extracción por Soxhlet (Figura 5), la cual consiste en poner la matriz en contacto con un solvente orgánico durante un tiempo en específico, usando el equipo requerido para este fin (Duarte Trujillo et al. 2020). “Los métodos de extracción convencionales (Maceración, reflujo o extracción Soxhlet) requieren tiempos largos de extracción, los rendimientos son bajos y el consumo energético es alto, pero son populares porque son fáciles de operar (Yang et al. 2011).

Figura 5

*Método de Soxhlet.*

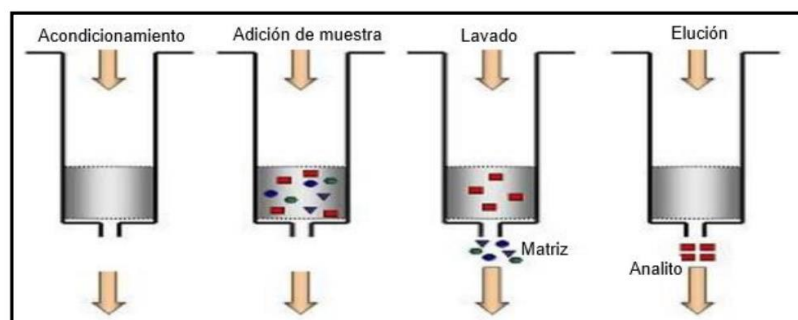


*Nota.* Tomado de Kofi Tulashie & Salifu (2017)

En un estudio donde se extrajeron los fitoesteros de la semilla de aguacate, se usó la Extracción en Fase Solida (SPE por sus siglas en inglés), la cual está basada en fundamentos de cromatografía líquida (Figura 6). Esta técnica es utilizada en la preparación de muestras para otros análisis, logrando una separación selectiva de los compuestos de interés. Consiste en el paso de la muestra a través de un soporte sólido donde los analitos se absorberán, posteriormente son extraídos según sea la afinidad entre la fase móvil y el sólido absorbente. Las cuatro etapas de este proceso son: calibración del instrumento, carga de la muestra, lavado de material indeseado y extracción selectiva de la sustancia objetivo. Esta técnica es usada para la preparación de lípidos y extracción de esteroides vegetales, utilizando solventes orgánicos como hexano y acetato de etilo como fase móvil (Martínez Hernandez y Santana Parra 2019).

**Figura 6**

*Extracción con método de cromatografía líquida.*

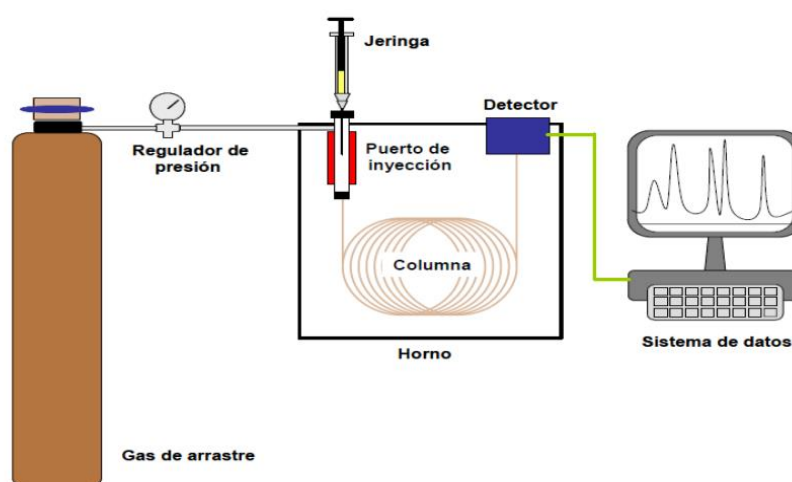


*Nota.* Tomado de Martínez y Santana (2019)

Otra técnica de separación es la cromatografía de gases (CG) (Figura 7), la cual logra una separación física de los componentes de una mezcla gaseosa y son distribuidos entre dos fases, una de ellas es líquida (Fase estacionaria) y la otra es un gas (Fase móvil). Los componentes de la muestra se separan entre sí, debido a las presiones de vapor y a su afinidad con la fase estacionaria. La cromatografía de gases se emplea en el análisis de mezclas complejas tipo esteroides en muestras vegetales y animales porque presenta alta sensibilidad y se obtiene una separación efectiva (Arias González et al. 2013).

**Figura 7**

*Esquema de un cromatógrafo de gases.*



*Nota.* Tomado de Martínez y Santana (2019)

En la investigación de Uddin y colaboradores, en el 2018, se resumen los principales métodos de extracción usados en fitoesteroides. En su estudio establecen tanto los métodos convencionales como Soxhlet y la maceración, y métodos no convencionales como la Extracción Asistida por Ultrasonidos (UAE, Ultrasound-Assisted Extraction), la Extracción Asistida por Microondas (MAE, Microwave-Assisted Extraction), la Extracción con Fluidos Supercríticos (SFE, Supercritical Fluid Extraction), la Extracción con Líquidos Presurizados (PLE, Pressurized Liquid Extraction), Extracción Asistida con Enzimas (EAE; Enzyme-assisted extraction), entre otros. No obstante, la mayoría de dichas técnicas requiere alta inversión por el costo del equipo (Núñez Moreira et al. 2019).

La Extracción Asistida por Microondas (MAE por sus siglas en inglés) se realiza en tres pasos secuenciales: Separación de solutos de la matriz de la muestra bajo presión y temperaturas aumentadas, difusión del solvente a través de la matriz de la muestra y liberación de solutos de la matriz de la muestra al solvente. La ventaja particular del calentamiento por microondas en la extracción es la ruptura mejorada de enlaces de hidrógeno débiles por la rotación dipolo de las moléculas. Cuando se ejecuta radiación de microondas, a través de la muestra portadora de disolvente, llega directamente a la muestra sólida sin ser absorbida por el disolvente. Esto provoca un calentamiento rápido de la humedad en la muestra sólida, lo que resulta en la evaporación creando una alta presión de vapor (Uddin et al. 2018).

Para la extracción asistida por enzimas (EAE) se toma en cuenta que algunos fitoquímicos en la célula vegetal están presentes como unidos a los componentes de la pared celular, no se extraen fácilmente con los métodos convencionales de extracción con solventes. Sin embargo, el pretratamiento de la muestra con una enzima es una forma eficaz de liberar algunos compuestos ligados al disolvente y, por lo tanto, aumenta el rendimiento total del compuesto de interés. Los compuestos presentes en las células salen fácilmente al solvente debido a la rotura de las paredes celulares de la planta por tratamiento enzimático (Uddin et al. 2018).

En el caso de la Extracción Asistida por Ultrasonidos (UAE por sus siglas en inglés) consiste en una onda con más de 20 kHz que pasa al disolvente, bajo la onda ultrasónica, las partículas sólidas y

líquidas vibran y aceleran y luego el soluto de la muestra sale rápidamente de la fase sólida al solvente. La intensidad del ultrasonido reduce las fuerzas intermoleculares resultando en una ruptura de la estructura molecular. Existen varias hipótesis posibles para la mejora de la extracción por ultrasonidos, como la ruptura de la pared celular, el aumento de la penetración y la hinchazón y los procesos de hidratación, entre otros (Uddin et al. 2018).

La Extracción Asistida por Campo Eléctrico Pulsado (PEFAE por sus siglas en inglés) se basa en el uso de campos eléctricos externos, que provocan la electro-poración de las membranas celulares biológicas potenciando la difusión de solutos. En este método se coloca una suspensión de células vivas en una cámara de tratamiento, que consta de dos electrodos con un circuito simple que produce pulsos de desintegración exponencial. La ventaja de PEFAE es que minimiza la degradación de compuestos termolábiles debido a su capacidad para funcionar a intensidades de campo eléctrico moderadas (Uddin et al. 2018).

En la Extracción de Líquido Presurizado (PLE por sus siglas en inglés) se utilizan presiones y temperaturas elevadas, que aumentan drásticamente el proceso de extracción. La alta presión facilita la extracción al conducir el solvente hacia los poros de la matriz de la muestra. En contraste, las altas temperaturas reducen la viscosidad del solvente y aumentan la difusividad del solvente, lo que resulta en una mejor penetración del solvente en la matriz, lo que mejora la eficiencia de extracción. La técnica PLE puede reducir el tiempo de extracción y el solvente requisitos, porque la combinación de altas presiones y temperaturas mejora la tasa de extracción (Uddin et al. 2018).

Por último, la Extracción de Fluidos Supercríticos (SFE por sus siglas en inglés) es una alternativa eficaz para la extracción de compuestos funcionales de fuentes naturales con disolventes orgánicos. Las propiedades gaseosas de viscosidad, difusión, tensión superficial y la densidad líquida y el poder de solvatación hacen que el fluido supercrítico sea un solvente adecuado para extraer compuestos bioactivos en períodos más cortos de tiempo con mayores rendimientos. Generalmente, una unidad SFE consta de varias partes básicas que incluyen un tanque para CO<sub>2</sub>, una bomba de alta presión, un enfriador, el CO<sub>2</sub>, un horno o baño de agua para controlar la temperatura, una bomba de



cosol-venteo, un regulador de contrapresión para controlar el caudal de CO<sub>2</sub>, un recipiente extractor y un separador (Uddin et al. 2018).

### ***Los Fitoesteroles y la Hipercolesterolemia.***

Los Fitoesteroles y la Dieta Humana. Los fitoesteroles se encuentran en casi todos los tallos, frutos y hojas verdes. Las principales fuentes son los aceites vegetales, semillas oleaginosas, cereales, legumbres y frutos secos (Muñoz Jáuregui et al. 2011). El consumo de fitoesteroles se ha visto relacionado con la disminución de la hipercolesterolemia, en especial por la reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), dicha reducción algunos terapeutas la utilizan para tratar enfermedades cardiovasculares. No obstante, el consumo de esteroides vegetales en la dieta habitual es insuficiente para lograr la reducción del colesterol. Debido a esta información se han realizado estudios que fomenten el desarrollo de alimentos funcionales orientados a la hipocolesterolemia y prevención de enfermedades cardiovasculares (Meco López et al. 2016). La producción de alimentos enriquecidos con fitoesteroles se ha incrementado en los últimos años de forma considerable debido al interés que suscita la capacidad que tienen estos compuestos para reducir las concentraciones de colesterol LDL. Actualmente, los productos enriquecidos con esteroides o estanoles utilizan las formas esterificadas debido al aumento de su solubilidad, hecho que permite su incorporación a alimentos tales como yogures, margarinas, mayonesa, cremas para untar, leche y aderezos para ensaladas (Merino et al. 2014).

En la dieta mediterránea, se reconocen los fitoesteroles como uno de los mejores componentes bioactivos; esto se debe al importante consumo de aceite de oliva, cereales, frutos secos y legumbres. En estudios se ha relacionado inversamente la ingesta de fitoesteroles con los niveles plasmáticos de colesterol. Una de las primeras descripciones de la adición de fitoesteroles en una matriz alimentaria fue en 1977 (Lees et al. 1977), en la cual prepararon un derivado de aceite de soja enriquecido con fitoesteroles (3 g/día) y observaron una disminución significativa del colesterol LDL. Otras investigaciones demostraron que el aceite de girasol suplementado con ésteres de sitosterol, usando

una dosis de 1.5 g/día, reducía el colesterol LDL en un 15% en adultos hipercolesterolemicos (Merino et al. 2014).

“Considerando la baja biodisponibilidad de los fitoesteroles en los alimentos de la dieta habitual, y su competencia con los receptores de colesterol a nivel celular, es recomendable la ingestión de leche y derivados lácteos para favorecer la biodisponibilidad de estos e incrementar el efecto terapéutico (San Mauro-Martín et al. 2016)”. Así mismo, se debe considerar que los fitoesteroles por sí solos no logran reducir sustancialmente el colesterol LDL, estos son solo un complemento que colabora con la reducción paulatina del colesterol malo o LDL.

#### **Efecto de los Fitoesteroles en la Absorción del Colesterol.**

Aunque las estructuras del colesterol y los esteroides son similares se metabolizan de diferente forma (Muñoz Jáuregui et al. 2011). La manera en la que accionan los fitoesteroles y fenoles para disminuir las concentraciones de colesterol LDL se conocen de forma parcial (Merino et al. 2014) . “El colesterol proviene de la dieta diaria y la biliar, está conformado por micelas que están constituidas por agregados de sales biliares y fosfolípidos, cuyo núcleo contiene colesterol, ácidos grasos y monoglicéridos”, por el contrario, los fitoesteroides como:  $\beta$ -sitosterol y el campesterol, comprenden del 30 al 65% de ingesta de esteroides vegetales siendo los más abundantes (Muñoz Jáuregui et al. 2011). Debido a que son compuestos insolubles en medio acuoso, tanto el colesterol como los fitoesteroides son solubilizados a través de las micelas mixtas (Fosfolípidos, ácidos grasos, ácidos biliares) para después ser absorbidos en el intestino. A causa del carácter hidrofóbico y su dificultad de absorción, los fitoesteroides compiten con el colesterol para unirse a las micelas, este hecho afecta la solubilidad y absorción del colesterol en el intestino, promoviendo su eliminación por las heces y así su disminución en los niveles plasmáticos (González Hernández 2017).

El mecanismo de acción de los fitoesteroides, sobre la disminución del colesterol en el cuerpo sucede al interferir en el proceso de absorción del colesterol a nivel intestinal, compitiendo con el colesterol por la unión a las micelas mixtas transportadoras de ácidos grasos. En consecuencia, aumentan la expresión de genes codificadores de proteínas transportadoras NPC1L1, ABCG5 y ABCG8,

promoviendo la expulsión del colesterol desde los enterocitos al lumen intestinal y disminuyendo la re-esterificación del colesterol en los enterocitos y aumenta la excreta del colesterol vía el tracto intestinal (Badal y Delgoda 2016). De manera más sencilla, la acción hipolipemiente de los fitoesteroles se debe a la similitud estructural con el colesterol. Su estructura le permite competir con este compuesto en el interior de las micelas encargadas de transportar los lípidos insolubles en el tracto intestinal; las micelas tienen mayor afinidad por los fitoesteroles que por el colesterol. El efecto de la reducción de la absorción del colesterol intestinal combinado con la disminución de la circulación enterohepática del colesterol biliar promueve la síntesis endógena de colesterol, junto con la estimulación de la expresión de receptores hepáticos de LDL, lo cual permite el aumento de la captación de la LDL circulante en exceso en la sangre. El resultado final es un descenso de entre el 10 – 15% de la LDL plasmática, siempre y cuando se consuma al menos 1 gramo diario de fitoesteroles (Ramírez Botero y Román Morales 2018).

#### ***Estrategias de Encapsulación de Fitoesteroles para su uso en la Industria Alimentaria***

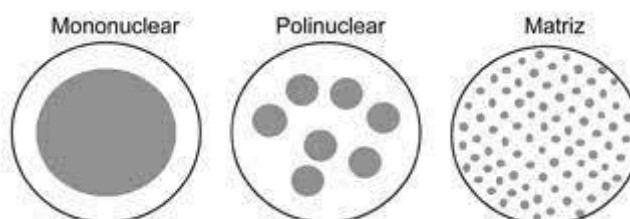
Importancia de la Encapsulación de los Fitoesteroles. La encapsulación de compuestos es una técnica muy utilizada en el desarrollo de productos de ingeniería en diversas industrias alimentarias, en especial en la fabricación de alimentos funcionales, el procesamiento de alimentos y la innovación de productos. Consiste en atrapar un material de núcleo funcionalmente activo en una matriz de un material inerte. El material que se desea encapsular se conoce como núcleo o material activo. También se conoce como llenado, fase interna o carga útil. Por otro lado, el material que se utiliza para encapsular el ingrediente activo se denomina material de revestimiento, pared, cápsula, membrana, cubierta, matriz o material de soporte. La tecnología de microencapsulación recibió importancia en la aplicación industrial debido a su capacidad para brindar protección a los componentes bioactivos inestables (Factores ambientales como el oxígeno, la radiación, la luz, la humedad y las condiciones adversas de pH), incorporar nuevas propiedades funcionales en los productos alimenticios y el control de la liberación de los activos de las matrices alimentarias en el lugar correcto, en el momento correcto y en la tasa deseada (Timilsena et al. 2020). En la investigación de Nedovic y colaboradores se

establece que la industria alimentaria aplica el proceso de encapsulación por varios motivos. Entre ellos se destaca que es una herramienta útil para mejorar la entrega de moléculas bioactivas, no solamente se usa en fitoesteroles sino también antioxidantes, minerales, vitaminas, luteína, ácidos grasos, licopeno e incluso células vivas como probióticos. La encapsulación proporciona protección eficaz a las condiciones ambientales, de procesamiento y condiciones gastrointestinales; de esa manera se preserva la estabilidad de los compuestos bioactivos y ralentiza procesos de degradación. Además, esta tecnología puede proporcionar barreras entre los materiales bioactivos sensibles y el medio ambiente, por lo tanto, permitir el sabor y el aroma de diferenciación, enmascarar el mal sabor u olor, estabilizar los ingredientes alimentarios o aumentar su biodisponibilidad (Nedovic et al. 2011).

Las microcápsulas formadas pueden ser clasificadas en tres categorías según sea su morfología: mononuclear, polinuclear y tipo matriz (Figura 8). Las capsulas mononucleares tienen una cubierta del material encapsulante alrededor del núcleo; las capsulas polinucleares tienen múltiples núcleos dentro de la cubierta, y en la microcápsula tipo matriz el material del núcleo se distribuye de manera homogénea en el material de la pared y forma distintas estructuras. Por otra parte, los principales métodos para realizar la encapsulación se dividen en procesos físicos (Secado por aspersión, extrusión, recubrimiento por aspersión), procesos químicos (Polimerización interfacial, inclusión molecular) y procesos fisicoquímicos (Coacervación, atrapamiento en liposomas o micelas). Cada uno de estos procesos en combinación con el material encapsulante dan distintas características y aplicaciones en el producto (Nava Reyna et al. 2015).

### Figura 8

#### *Tipos de microcápsulas*



*Nota.* Tomado de Nava Reyna et al. (2015)

### **Encapsulación de Fitoesteroles con Carbohidratos.**

En la investigación de Nava Reyna y colaboradores se menciona que los carbohidratos más usados como recubrimiento son almidones, dextranos, sacarosa y jarabes de maíz (Nava Reyna et al. 2015). Tolve, en 2020, estableció que los carbohidratos con cadenas más cortas actúan como formadores de matriz. Entre esto, la inulina es un polímero interesante, ya que actúa en el cuerpo como una fibra dietética, contribuyendo a la mejora de las condiciones del sistema gastrointestinal y modula positivamente metabolismo del colesterol. Desafortunadamente, la inulina, como la mayoría de los carbohidratos, carecen de propiedades emulsionantes y se están estudiando cada vez más para su uso en polímeros mezclas o en combinación con otros polímeros encapsulantes, como proteínas.

Un estudio realizado por Di Battista y colaboradores logró la microencapsulación de fitoesteroles mediante secado por atomización, utilizando como agente de cobertura una mezcla de maltodextrina y goma arábiga con bajas y distintas concentraciones de un tensoactivo: Tween 20 o Dodecilsulfato de Sodio (SDS). Para el estudio utilizaron fitoesteroles en polvo cuya composición fue principalmente  $\beta$ -Sitosterol (35-55%), Campesterol (18-27%) y Estigmasterol (21-35%). Los resultados de dicho estudio encontraron que la temperatura de entrada del aire de secado a 130 °C proporciona valores óptimos, tanto para la fracción de fitoesteroles encapsulados en el producto (De 12.95%) como para el tamaño de partículas (7.98  $\mu$ m). Los resultados son adecuados para asegurar la absorción de fitoesteroles en el intestino y evitar la sensación arenosa en el paladar (Di Battista et al. 2013).

La investigación de Tolve y colaboradores, estudió la viabilidad de encapsular aceite de soya enriquecido con fitoesteroles mediante secado por atomización utilizando microcápsulas de proteína aislada de soya, inulina y quitosano. Se estudió el efecto de diferentes formulaciones y condiciones de secado por atomización sobre las propiedades de las microcapsulas, la eficiencia de encapsulación, el contenido de aceite superficial y la estabilidad a la oxidación. El aceite de soja se fortificó con 5 o 10% de fitoesteroles y la fase acuosa contenía 6.75% de proteína, 0.125% de quitosano y 1 o 2% de inulina. Las micropartículas resultantes eran esféricas y uniformes, con un tamaño medio inferior a 50  $\mu$ m. Se encontró un efecto significativo de la formulación, la concentración de fitoesteroles y la temperatura

de secado del aire de entrada sobre las propiedades de las microcápsulas. Se logró una eficiencia de encapsulación de aceite del 85% con una carga de fitoesteroles de 0.95 g / g de polvo (Tolve et al. 2018).

En 2013 se realizó una investigación por Fujiwara y colaboradores donde la microencapsulación se realizó específicamente en estigmasterol, usando como material encapsulante alginato de sodio, almidón y quitosano por un proceso de una etapa usando la técnica de gelificación externa. La preparación comenzó en un sistema dispersando 20 g de aceite de canola que contenía 0.2 g de estigmasterol en 80 g de una solución con a 1% alginato de sodio, 0.3% almidón de maíz y 0.3% poloxámero. Dicha fase se mantuvo a 60 °C hasta ser enfriada espontáneamente a 800 rpm por 15 minutos en un agitador mecánico y después la mezcla se llevó con una jeringa al baño gelificante. Posterior a ese proceso, las micropartículas se lavaron dos veces con  $\text{CaCl}_2$  0.05 M. y fueron secadas en una columna de aire a 50 °C. Los resultados del estudio indicaron que las microcápsulas obtenidas fueron de forma esférica, levemente ovaladas, con una media de humedad residual de 60.59% y una eficiencia de encapsulación de 90.42% (Fujiwara 2012).

El estudio por Hussain y colaboradores en 2020, realizó la microencapsulación de fitoesteroles con maltodextrina y goma arábiga en una proporción 1:1 usando agua destilada, posteriormente la emulsión se secó usando un secador por aspersion. Los fitoesteroles se agregaron durante el proceso de producción de queso cheddar. Los tamaños de las microcápsulas en dicho estudio oscilaban entre 0.1 y 1.8  $\mu\text{m}$  de diámetro, con un tamaño medio de partícula de aproximadamente 0.66  $\mu\text{m}$ . Al comparar el queso control con el enriquecido con fitoesteroles se obtuvo que el pH, la proteína y el contenido de humedad del control no fueron significativamente diferentes, mientras que la grasa del queso con 4 y 5% de fitoesteroles fue significativamente más alto que el del control y el queso que contenía 1% de fitoesterol. Para el análisis de textura, la dureza se tomó como la fuerza máxima (N) durante la deformación de muestras de queso y se observó que la dureza aumentó con el porcentaje de fitoesterol incorporado. En el análisis sensorial se usó una escala del 1 al 9, no se observaron cambios significativos con respecto al sabor y atributos de color en todas las muestras de queso. La

aceptabilidad general fue un poco menor en el queso con un 5% de fitoesterol añadido. El experimento también evaluó los efectos del consumo de queso cheddar con adición de fitoesteroles en ratas, obteniendo que los fitoesteroles tienen capacidades para reducir el colesterol, especialmente cuando está encapsulado, sin influir significativamente en el peso corporal. Además, los fitoesteroles encapsulados pueden incorporarse en productos lácteos especialmente en queso y consumirse para el manejo de la hiperglucemia (Hussain et al. 2020).

#### **Encapsulación de Fitoesteroles con Gomas.**

Las gomas son polisacáridos con alto peso molecular, las cuales se obtienen de plantas o por microorganismos. Las características de estos compuestos son hidrofílicas o hidrofóbica, usualmente también cuentan con propiedades coloidales, capaces de crear geles al combinarse con los solventes adecuados y se pueden dispersar en agua fría o caliente (García-Ceja y López-Malo 2012). En la encapsulación de fitoesteroles las gomas más utilizadas son agar, alginato de sodio, carragenina y goma arábiga (Nava Reyna et al. 2015).

La investigación realizada por Carla Di Battista, usó goma arábiga, maltodextrina y tensioactivos (T20 y SDS) para el proceso de encapsulación usando secado por atomización. Los análisis evaluados fueron: ángulo de contacto, viscosidad de la suspensión, distribución del tamaño de partícula, rendimiento del proceso y retención de fitoesteroles. Los resultados demostraron ser afectados por la concentración y el tipo de tensioactivo. Tween 20 resultó permitir mayores rendimientos, sin embargo, la adición de SDS produjo mejores resultados en todos los demás análisis (Di Battista et al. 2015).

La investigación de Talita Aline Comunian en 2017 se centró en tres fases, donde la primera evaluó la encapsulación de aceite de Echium (*Echium plantagineum* L.) por doble emulsión y coacervación compleja para evaluar compuesto fenólico hidrofílico, el cual resultó ser el ácido sinápico. Posteriormente se evaluó la microencapsulación del mismo aceite usando gelatina - goma arábiga y gelatina – goma de anacardo como materiales encapsulantes, también se usó ácido sinápico y transglutaminasa como catalizadores. El tercer objetivo de la investigación consistió en estudiar el

efecto del ácido sinápico en las micropartículas obtenidas por emulsión y secado por aspersión o enfriamiento para comparar diferentes técnicas de microencapsulación. La última parte de la investigación comparo las técnicas de microencapsulación mencionadas, donde los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento de coacervación compleja, usando ácido sinápico como catalizador y goma arábica de material encapsulante. Esto se usó para la microencapsulación de aceite de Echio y fitoesteroles y se agregaron en un yogur. Se determinó que tuvo buena aceptación sensorial y pueden ser añadidos sin comprometer las propiedades reológicas y fisicoquímicas (Aline Comunian 2017).

#### **Encapsulación de Fitoesteroles con Proteínas.**

Las proteínas son alimentos hidrocoloides muy utilizados como microencapsulantes. Las principales proteínas usadas como material encapsulante para fitoesteroles son gluten, caseína, albumina y gelatina (Nava Reyna et al. 2015). La gelatina es ampliamente utilizada por sus buenas propiedades de emulsificación, formación de películas, solubilidad en agua y biodegradabilidad (Favaro-Trindade et al. 2010). Hay diferentes tipos de proteínas que se usan como agentes encapsulantes tales como las proteínas lácteas y las de origen vegetal. En el caso de las proteínas lácteas son vehículos naturales porque sus propiedades estructurales y fisicoquímicas permiten que sean utilizadas en una gran diversidad de productos. Las proteínas del suero se conocen por formar películas transparentes, flexibles y sin sabor, con alta resistencia a la transferencia de oxígeno, aromas y lípidos (García-Ceja y López-Malo 2012).

Sharifi y colaboradores en 2020 realizaron un estudio encapsulando el probiótico *Lactobacillus plantarum* y fitoesteroles por coacervación compleja utilizando proteínas aisladas de suero y goma arábica. El proceso para obtener las microcápsulas comenzó con la preparación del *Lactobacillus plantarum* para obtener una concentración final de  $2^9$ , luego se preparó la emulsión de fitoesteroles que sería añadida a los tratamientos que lo requieran y se siguió el método de coacervación compleja para cada muestra. Por último, se secaron las partículas por secado por aspersión y liofilización y posteriormente se realizaron los análisis de eficiencia de encapsulación, viabilidad del *L. plantarum*,



actividad de agua, tamaño de partícula y contenido total de fitoesteroles. Las microcápsulas obtenidas se añadieron durante el procesamiento de queso blanco iraní, obteniendo que el tratamiento con fitoesteroles tuvo una viabilidad más alta en comparación con el *Lactobacillus* encapsulado solo, además, se observó que la viabilidad fue más alta en los tratamientos secados con liofilización. Las capsulas secadas por liofilización tuvieron una morfología porosa y no tenían una forma en particular, sin embargo, los resultados del secado por aspersión daban una partícula más esférica y una superficie arrugada (Sharifi et al. 2021).

Otro estudio realizado en Zamorano, tuvo una fase preliminar que consistió en elegir la relación etanol:agua con mejor eficiencia en el secado y para la fase acuosa se usó proteína gelatina como material encapsulante. Para la fase preliminar se eligieron las relaciones con menor porcentaje de precipitación y que se mantuvieran mayor tiempo sin separación de fases, siendo estas 2:1, 3:1 y 4:1. La relación de gelatina y fitoesteroles fue 2:1, el método de microencapsulación usado fue "Flash desolvation" y se usó el deshidratado en un secador por aspersión. En dicho estudio se determinó que el tamaño de la partícula fue afectado por la interacción entre los factores etanol:agua y el porcentaje de maltodextrina, y de los factores evaluados, únicamente la maltodextrina afectó la solubilidad las microcápsulas (Perez Valladares 2020).

#### **Encapsulación de Fitoesteroles con Complejo Proteínas-Carbohidratos.**

Muchas proteínas y carbohidratos como los derivados del almidón son utilizados para la microencapsulación de compuestos. En un estudio realizado por Akhavan, encontraron que existía un aumento en la eficiencia de encapsulación de antocianinas al utilizar gelatina y maltodextrina (Akhavan Mahdavi et al. 2016). La gelatina es bastante soluble en agua y según Comunian (2016), no existe efectos negativos en las propiedades físico-químicas, reológicas y sensoriales al adicionarlo a matrices alimenticias como un yogur (Comunian et al. 2016). La maltodextrina ayuda a aumentar rendimientos en el secado por aspersión ya que también favorece la solubilidad de la gelatina (Chuaychan y Benjakul 2016).

Chen y colaboradores investigaron la encapsulación de aceite de pescado con fitoesteroles, usando liofilización o secado por aspersion y el material encapsulante fue aislado de proteína de suero y fibra de maíz soluble. Los resultados demostraron que la liofilización no produjo polvos con propiedades superiores y no muestran una mejor protección hacia los materiales del núcleo que el secado por atomización (Chen et al. 2013). Devi y colaboradores en su revisión de literatura mencionan que la gelatina es comúnmente usada acompañada de goma arábica, quitosano, pectinas, alginatos, goma xantana o carragenina (Devi et al. 2017).

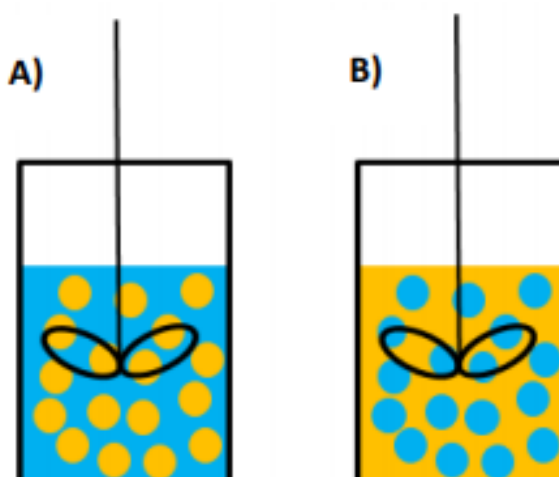
### **Encapsulación de Fitoesteroles con Lípidos.**

Los lípidos más utilizados en procesos de encapsulación son ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteáricos y trisetearina (Nava Reyna et al. 2015), cada uno de ellos son capaces de cubrir partículas individuales y así causar una encapsulación uniforme.

Las emulsiones simples o convencionales son las más comunes, ya que son la unión de dos líquidos inmiscibles entre sí, debido a la acción de emulsificante que poseen, así como se muestra en la Figura 9.

**Figura 9**

*A) Aceite en agua. B) agua en aceite.*



*Nota.* Tomado de Gomez y Pérez (2020)

En cada emulsión se diferencian dos fases, una que representa la fase dispersa, que es la que forma las gotas de la emulsión y la fase continua, que es el medio donde están distribuidas las gotas de la emulsión. Cuando se encapsula un compuesto bioactivo en una emulsión simple o convencional, el compuesto activo se disolvería en la fase dispersa y entonces se produciría una emulsión. “Puesto que la mayoría de compuestos, que necesitan encapsularse para mejorar su compatibilidad con la matriz donde se desean incluir, son liposolubles, las emulsiones o/w son en la práctica las más abundantes” (Gómez y Pérez 2020).

Uno de los usos que se le confiere a las emulsiones simples o convencionales en el campo de la encapsulación es el del control de la digestión, liberación y absorción de componentes lipofílicos dentro del tracto gastrointestinal. Este sistema sirve para controlar la liberación de fármacos y algunos componentes bioactivos lipofílicos como fitoesteroles entre otros (Ácidos grasos, carotenoides, antioxidantes liposolubles, vitaminas, entre otros). Cada uno de estos presentan sus propios desafíos al momento de agregarlos directamente a una matriz alimentaria como, por ejemplo: solubilidad baja en agua, desestabilización química, alto punto de fusión y baja disponibilidad del compuesto activo en el alimento. Las emulsiones en el campo de la encapsulación, cuando se controla la liberación de los compuestos bioactivos como lo son los fitoesteroles, pueden ser útiles para el desarrollo de alimentos funcionales para tratar problemas de salud como la obesidad (Gómez y Pérez 2020).

## Resultados y Discusión

### FASE 1. Encapsulación de Fitoesteroles

#### *Análisis Físicos y Químicos de la Microencapsulación de Fitoesteroles*

##### **Actividad de Agua ( $a_w$ ).**

Actividad de agua hace referencia a la presión parcial de vapor de agua en equilibrio con el alimento, dividido por la presión parcial de vapor de agua en condiciones estándar (Agua pura); tomando valores en una escala de 0 - 1, sabiendo que en cuanto más se aleja de 1, mucho más difícil es la actividad microbológica, y por lo tanto la conservación de los alimentos es más fácil y la vida útil se prolonga por mucho más tiempo (Cardona 2019).

Según los resultados del análisis estadístico, se encontró diferencias significativas en la actividad de agua de los tratamientos. En el Cuadro 3, el tratamiento con una relación etanol:agua de 3:1 y 8% de maltodextrina obtuvo una menor actividad de agua (0.17), y el tratamiento con una relación etanol:agua de 2:1 y 6% de maltodextrina obtuvo mayor actividad de agua (0.26). En el Cuadro 4 se puede observar que las relaciones etanol:agua y los porcentajes de maltodextrina utilizados, sí tuvieron efecto sobre la actividad de agua. Además, en los Anexos A y B se encuentran las medias de actividad de agua según la relación etanol:agua o porcentaje de maltodextrina.

La actividad de agua de un polvo toma rangos de 0.20-0.44, estos valores proveen reducciones en la oxidación (Caliskan y Dirim 2016). Salminen y colaboradores en el 2018 encapsularon omega-3 utilizando lecitina y maltodextrina como agentes encapsulantes. En los análisis de actividad de agua ( $a_w$ ) obtuvieron resultados de 0.13-0.29 siendo polvos microbiológicamente adecuados (Salminen et al. 2019). Asimismo, Rubiano y colaboradores en el 2015, encapsularon d-limoneno como ingrediente activo utilizando maltodextrina y goma arábiga como materiales encapsulantes e hicieron uso del método de secado por aspersión para la deshidratación de las capsulas, este estudio no tuvo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) y obtuvieron valores de actividad de agua ( $a_w$ ) de 0.112, donde la  $a_w$  no se vio influenciada por la temperatura de secado o la velocidad de atomización (Rubiano et al. 2015). En el presente estudio realizado, se obtuvieron valores de actividad de agua ( $a_w$ ) de 0.17-0.26,

esto concuerda con los rangos establecidos para alimentos en polvo siendo microbiológicamente estables.

### Cuadro 3

*Resultados del análisis de Actividad de agua en los tratamientos de microencapsulación de fitoesteroles.*

Relación Etanol:Agua	Maltodextrina (%)	Actividad de agua
		Media $\pm$ D.E.
2:1	6	0.26 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup>
	8	0.20 $\pm$ 0.004 <sup>bc</sup>
3:1	6	0.21 $\pm$ 0.010 <sup>b</sup>
	8	0.17 $\pm$ 0.010 <sup>c</sup>
Probabilidad		0.004
C.V. (%)		6.83

*Nota.* Cada medición del análisis de Actividad de agua representa la media de tres repeticiones; a-c: valores promedios seguido por diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ); D.E.: Desviación Estándar; C.V.: Coeficiente de Variación en porcentaje.

En el Cuadro 4, se indica que la relación Etanol:Agua y maltodextrina presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), en comparación con la interacción de estos dos factores observando que no hay diferencias significativas en los tratamientos. La velocidad de atomización define el tamaño de la gota del secador por aspersión y ayuda a aumentar o disminuir la funcionalidad de maltodextrina como agente protector. Cortes y colaboradores en el 2017, encapsularon Vitamina C, utilizando como material protector maltodextrina y obtuvieron una menor  $a_w$ , debido a la operación baja de la velocidad del atomizador que genero un tamaño de gota más pequeño y mayor cantidad de maltodextrina (Cortés et al. 2017).

### Cuadro 4

*Resultados de probabilidad de los factores y su interacción para la Actividad de agua.*

Variables	Valor - $p$
Relación Etanol:Agua	0.003
Maltodextrina	0.001
Relación Etanol:Agua*Maltodextrina	0.114
C.V. (%)	6.83

*Nota.* CV.: Coeficiente de Variación en porcentaje.

### **Tamaño de Partícula.**

Los resultados mostrados en el Cuadro 5, indican que no hubo diferencia significativa en el efecto de las relaciones etanol:agua y los porcentajes de maltodextrina para el tamaño de partícula. La Figura 9 demuestra algunas capturas de las mediciones de las partículas de los tratamientos, las cuales fueron tomadas durante la medición de las partículas. En el Cuadro 6, se demuestra que las relaciones etanol:agua, porcentajes de maltodextrina y la interacción de ambos factores, no tuvieron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

En el estudio realizado por Mis y colaboradores en el 2016 encontraron una relación en cuanto al tamaño de la partícula y las temperaturas de entrada y de salida del aire en el secador por aspersión. En este estudio se determinó que se obtienen partículas de mayores tamaños cuando la temperatura del equipo fue de 150 °C, en comparación con temperaturas de 130 y 140 °C que presentaron un tamaño menor (Mis et al. 2016).

Ribeiro y colaboradores en el 2020, utilizaron un microscopio óptico con un objetivo de aumento de 40x y para la captura de imágenes usaron una cámara (Olympus, SC30). Con la implementación de este equipo en su investigación, lograron la visualización de partículas de aceite de burití encapsuladas con maltodextrina. Durante el proceso de encapsulación, el secador por aspersión trabajó a una temperatura de entrada de 180 °C y temperatura de salida de 119 a 123 °C. En el estudio no se obtuvieron diferencias significativas para los tamaños de partícula en los tratamientos, los resultados determinaron que los rangos de tamaños se encontraban de 0.3-400  $\mu\text{m}$  (Ribeiro et al. 2020). Botrel y colaboradores en su investigación relataron que el tamaño de partículas depende de la temperatura del secado utilizada en el secador por aspersión y la composición del material pared (Botrel et al. 2014).

En la presente investigación es relevante destacar que la temperatura de entrada del secador por aspersión al momento de realizar el secado de los tratamientos se mantuvo constante a 150 °C para cada uno de los tratamientos. Con esta información se justifica el por qué todos los tamaños de partículas de los tratamientos no mostraron diferencias significativas, ya que no se presentó ninguna variación o cambio en la temperatura utilizada de entrada y salida del Secador por aspersión y el material encapsulante utilizado (Maltodextrina) no afectó el tamaño de las partículas.

### Cuadro 5

*Resultado de la Relación Etanol:Agua y el porcentaje de maltodextrina en el tamaño de partículas microencapsuladas de fitoesteroles.*

Relación Etanol:Agua	Maltodextrina (%)	Tamaño de partícula
		Media $\mu\text{m} \pm \text{D.E.}^{\text{ns}}$
02:01	6	209.44 $\pm$ 38.50
	8	193.04 $\pm$ 47.51
03:01	6	190.46 $\pm$ 42.23
	8	186.54 $\pm$ 35.83
C.V. (%)		4.93

*Nota.* Cada medición de la solubilidad representa la media de tres repeticiones; C.V.: Coeficiente de variación en porcentaje; D.E.: Desviación estándar; ns: no significativo ( $P \geq 0.05$ ).

### Cuadro 6

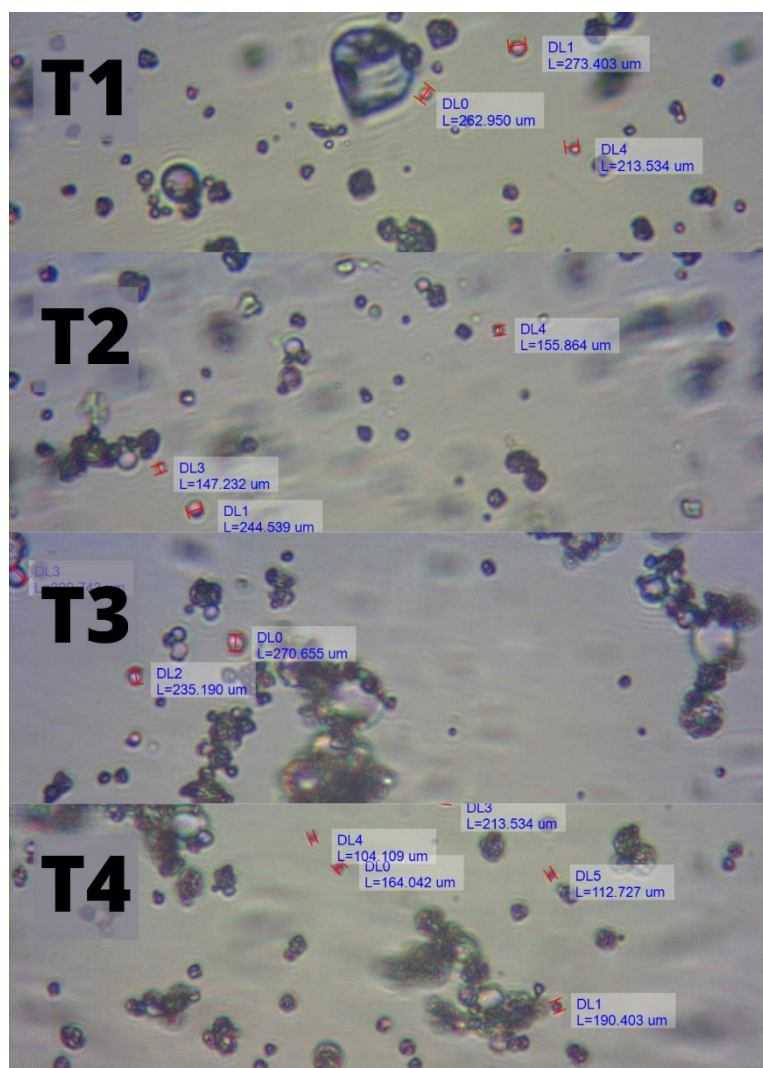
*Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para el tamaño de partículas de fitoesteroles microencapsulados.*

Variables	Valor - <i>p</i>
Relación Etanol:Agua	0.06
Maltodextrina	0.12
Relación Etanol:Agua*Maltodextrina	0.30
C.V. (%)	4.93

*Nota.* C.V.: Coeficiente de Variación en porcentaje.

Figura 10

Medidas de los tamaños de partículas de los tratamientos (Ejemplos).



Nota. Escala 1000 μm. Lente Ob. 40x

T1: tratamiento con relación etanol:agua 2:1 y maltodextrina 6%

T2: tratamiento con relación etanol:agua 2:1 y maltodextrina 8%

T3: tratamiento con relación etanol:agua 3:1 y maltodextrina 6%

T4: tratamiento con relación etanol:agua 3:1 y maltodextrina 8%

### Solubilidad.

Los resultados del análisis de solubilidad indicaron que no se encuentran diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ), por lo que la relación etanol:agua y el porcentaje de maltodextrina utilizado no tuvieron efecto en la solubilidad de las microcápsulas (Cuadro 7). De igual manera, en el Cuadro 8



se observa que la relación etanol:agua, el porcentaje de maltodextrina y la interacción entre estas variables no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos.

La solubilidad es un parámetro muy importante para la aplicación posterior de las microcápsulas (Tomsone et al. 2020), en este caso los resultados fueron positivos porque todos los tratamientos de fitoesteres microencapsulados tuvieron una solubilidad mayor a 85%. Castro-Muñoz y colaboradores determinaron que la alta solubilidad de las microcápsulas se les atribuye a las propiedades de los agentes encapsulantes, según su estudio se debe principalmente a la maltodextrina porque al aumentar la cantidad de encapsulante, aumentó la solubilidad de sus muestras (Castro-Muñoz et al. 2015).

Gallego en 2017, define la gelatina y la maltodextrina como dos agentes encapsulantes de origen natural con buenas propiedades de solubilidad y de protección al núcleo de la capsula. La maltodextrina es uno de los principales encapsulantes usados en secado por aspersión debido a que es altamente soluble en agua (Souza et al. 2015).

### Cuadro 7

*Resultado de la Relación Etanol:Agua y del porcentaje de maltodextrina en la solubilidad de los tratamientos de microencapsulación de fitoesteres.*

Relación Etanol:Agua	Maltodextrina (%)	% de Solubilidad
		Media $\pm$ D.E. <sup>ns</sup>
02:01	6	87.96 $\pm$ 1.75
	8	85.91 $\pm$ 7.86
03:01	6	87.68 $\pm$ 1.48
	8	89.80 $\pm$ 1.03
C.V. (%)		4.52

*Nota.* Cada medición de la solubilidad representa la media de tres repeticiones. C.V.: Coeficiente de Variación en porcentaje. D.E.: Desviación Estándar. ns: no significativo ( $P > 0.05$ ).

En el Cuadro 8 se observa que la relación etanol:agua, el porcentaje de maltodextrina y la interacción entre estas variables no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos. Por otro lado, la gelatina posee partes hidrofóbicas que se orientan a los fitoesteres y partes hidrofílicas que interactúan con la maltodextrina, aumentando su solubilidad (Meng y Cloutier 2014).

**Cuadro 8**

*Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para la solubilidad de fitoesteroles microencapsulados.*

Variables	Valor - <i>p</i>
Relación Etanol:Agua	0.46
Maltodextrina	0.9871
Relación Etanol:Agua*Maltodextrina	0.398
C.V. (%)	4.52

*Nota. C.V.: Coeficiente de variación en porcentaje.*

**Capacidad de Carga.**

Este concepto hace referencia a la cantidad de miligramos de compuesto bioactivo cargado por cada gramo de partículas. En los resultados de las medias por tratamiento (Cuadro 9), se observa que los mejores tratamientos son los de relación etanol:agua de 2:1. Además, para cada relación etanol:agua, el menor porcentaje de maltodextrina (aritméticamente) generó una menor capacidad de carga. Los resultados son acordes a las investigaciones de Kusmayadi y colaboradores, y Carneiro y colaboradores; donde se encontró que la cantidad de maltodextrina es directamente proporcional a la capacidad de carga de las microcápsulas, es decir, la capacidad de carga aumento al usar más maltodextrina (Kusmayadi et al. 2019; Carneiro et al. 2013). Además, en los Anexos C y D se encuentran las medias de capacidad de carga según la relación etanol:agua o porcentaje de maltodextrina.

El Cuadro 10 señala que los tratamientos se ven afectados por el porcentaje de maltodextrina y la relación etanol:agua ( $P > 0.05$ ), se observa que el factor más influyente es la relación de etanol:agua. Jyothi y colaboradores, en sus resultados, atribuyen dicha significancia a la alta solubilidad del etanol en el agua al momento de mezclar las dos fases (Orgánica y acuosa), lo que permite una transferencia de masas más rápida y con ello, una mejor capacidad de carga (Jyothi et al. 2010). Además, según Encina y colaboradores, también es importante el mecanismo de secado. En el secado por atomización, la interacción entre el núcleo y el polímero puede ocurrir a través de interacciones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals (Encina et al. 2018).

**Cuadro 9**

*Resultado de la Relación Etanol:Agua y del porcentaje de maltodextrina en la Capacidad de carga de los tratamientos de microencapsulación de fitoesteroles.*

Relación Etanol:Agua	Maltodextrina (%)	Capacidad de carga
		Media $\pm$ D.E.
2:1	6	46.66 $\pm$ 5.03 <sup>ab</sup>
	8	52.33 $\pm$ 0.94 <sup>a</sup>
3:1	6	36.66 $\pm$ 2.49 <sup>c</sup>
	8	42.00 $\pm$ 1.63 <sup>bc</sup>
Probabilidad		0.02
C.V. (%)		7.76

*Nota:* Cada medición de la solubilidad representa la media de tres repeticiones. C.V.: Coeficiente de Variación en porcentaje. a-b-c: valores promedios seguido por diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ); D.E.: Desviación Estándar.

Los resultados de significancia para el porcentaje de maltodextrina coinciden con Rosenberg y colaboradores, donde la composición de la capsula afectó significativamente la capacidad de carga y se les atribuyó a las propiedades del material encapsulante y la relación entre el núcleo y el material pared (Rosenberg et al. 2016). Fadel y colaboradores señalan que la maltodextrina tiene propiedades de formación de película, por lo tanto, conducen a la formación de una membrana permeable que favorece la retención del compuesto (Fadel et al. 2019). En cuanto a la relación entre el material encapsulante y el núcleo, es importante tomar en cuenta la gelatina debido a que sus partes hidrofóbicas anclan el polisacárido sobre la superficie del fitoesterol y las cadenas hidrofílicas de la maltodextrina evitan la agregación formando una capa gruesa cargada, proporcionando un mecanismo de estabilización, característico de pocos sistemas polisacárido-proteína (Cano-Higueta et al. 2015).

**Cuadro 10**

*Resultado de la probabilidad de los factores y su interacción para la Capacidad de carga de microencapsulación de fitoesteroles.*

Variables	Valor - $p$
Relación Etanol:Agua	0.0022
Maltodextrina	0.0327
Relación Etanol:Agua*Maltodextrina	0.936
C.V. (%)	7.76

*Nota.* C.V.: Coeficiente de Variación en porcentaje.

## FASE 2. Análisis Físicos y Químicos a Yogur Natural con Fitoesteroles Microencapsulados Añadidos

### Textura

En los resultados de la prueba “t-estudiante” para el análisis de textura (Cuadro 11) se determinó que en los parámetros de firmeza y cohesividad no hubo diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ). Los resultados concuerdan a lo reportado por Domagała y colaboradores, quienes estudiaron la textura y reología del yogur con adición de maltodextrina y encontraron que la cohesividad no tuvo diferencias significativas (Domagała et al. 2006). Así mismo, Costa y colaboradores determinaron que la firmeza del yogur no se ve afectada por la adición de maltodextrina (Costa et al. 2016). Por otra parte, las muestras presentaron diferencia significativa en adhesividad, así mismo, Bisar y colaboradores evaluaron los efectos de la adición de maltodextrina en leche fermentada, encontrando que su agregación aumentó la adhesividad (Bisar et al. 2015). Según Batawy y Khalil, el cambio en textura en el yogur podría atribuirse a la hidrólisis parcial del almidón a partir de una variedad de iniciación y aceleración de la formación de gel de maltodextrina (Batawy y Khalil 2018).

### Cuadro 11

*Diferencias entre los parámetros de Adhesividad, Firmeza y Cohesividad, del yogur control sin fitoesteroles añadidos entre el yogur con adición del mejor tratamiento de fitoesteroles encapsulados.*

Parámetros	Control	Tratamiento	Probabilidad
	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	
Adhesividad (mJ)	0.36 $\pm$ 0.03	0.53 $\pm$ 0.02	0.001
Firmeza (N)	0.13 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.68
Cohesividad (%)	0.85 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.07	0.116

*Nota.* D.E.: Desviación Estándar

### Acidez Titulable Expresada Como Ácido Láctico (%ATECAL)

En el Cuadro 12 para el análisis de porcentaje de ATECAL, entre el control y el tratamiento con fitoesteroles encapsulados no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Défaz y Moreira en el 2017, utilizaron de igual manera un polisacárido para la encapsulación de *Lactobacillus Plantarum*

y se determinó que el yogur no es afectado químicamente por la presencia de capsulas, por lo cual pueden ser agregadas al yogur sin alterar su acidez (Défaz y Moreira 2017).

La acidez de un yogur debe de oscilar entre 0.9-1.1% ATECAL. El porcentaje de ácido láctico es importante en relación con la calidad del yogur. Un adecuado porcentaje de acidez en el yogur permite obtener una mayor calidad en el sabor, cuerpo y textura, para que el producto no sea afectado por el porcentaje de sinéresis que se forma en el almacenamiento (Mori Nuñez 2017).

## Cuadro 12

*Diferencias entre la acidez del yogur control sin fitoesteroles añadidos entre el yogur con adición del mejor tratamiento de fitoesteroles encapsulados.*

Parámetro	Control	Tratamiento	Probabilidad
	Media ± D.E.	Media ± D.E.	
ATECAL (%)	1.00 ± 0.00	1.06 ± 0.05	0.184

*Nota.* ATECAL: Acidez titulable expresada como ácido láctico. D.E.: Desviación Estándar.

## Cuantificación de Fitoesteroles en el Yogur

Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 13, los cuales indican que existe diferencia significativa entre el control y el tratamiento con adición de fitoesteroles ( $P < 0.05$ ). Según el RTCA 67.01.60:10, la recomendación del consumo diario de fitoesteroles de 1.3 g, además, un alimento debe contener un mínimo de 0.65 g de fitoesteroles para ser incluido en la etiqueta y recomendar dos porciones de dicho alimento al día. El tratamiento añadido al yogur se eligió según la capacidad de carga (52 mg/g), con base en esto, se realizó la conversión de gramos de microcápsulas necesarias para llegar al contenido mínimo de fitoesteroles requerido por el RTCA. Basado en un yogur con tamaño de porción de 225 g, se requieren 12.5 gramos de encapsulado para contener 0.65 g de fitoesteroles. Para este análisis el control representa la cantidad objetivo de fitoesteroles. En la investigación de Saraiva y colaboradores, se analizó el contenido de fitoesteroles en diferentes marcas de yogur del mercado de Portugal, en dicho estudio se señaló que los fitoesteroles encontrados en mayor proporción fueron campesterol, estigmasterol y  $\beta$ -sitosterol. Lo anterior se validó con los

resultados obtenidos mediante la cuantificación de fitoesteroles en el cromatógrafo de gases (Saraiva et al. 2011).

En el Cuadro 13 se muestra que el tratamiento obtuvo 0.42 g de fitoesteroles/porción, la pérdida de fitoesteroles posiblemente se deba a errores humanos al momento de realizar el vial para la cuantificación de fitoesteroles en el cromatógrafo de gases.

### **Cuadro 13**

*Diferencia en el contenido de fitoesteroles entre el yogur control sin fitoesteroles añadidos y el yogur con adición de fitoesteroles encapsulados (100 g).*

Cuantificación	Control Media ± D.E.	Tratamiento Media ± D.E.	Probabilidad
Contenido de fitoesteroles (g/porción)	0.01	0.42 ± 0.03	0.002

*Nota. D.E.: Desviación Estándar.*

### Conclusiones

En la revisión bibliográfica, se recopiló información de más de 40 artículos de bases de datos científicas confiables. Los materiales encapsulantes para fitoesteros más utilizados son carbohidratos, proteínas, gomas, lípidos y complejos proteína-carbohidrato.

La actividad de agua ( $a_w$ ) de los tratamientos se vio reducida directamente por los porcentajes de maltodextrina utilizados y las diferentes relaciones etanol:agua; mientras la capacidad de carga no mostro diferencia estadística entre los tratamientos.

El tamaño de la partícula y la solubilidad no mostraron un efecto por la relación etanol:agua y el porcentaje de maltodextrina.

La adición de fitoesteros microencapsulados no afecta la acidez, firmeza y cohesividad del yogur natural Zamorano.

Adicionar fitoesteros microencapsulados afectó la adhesividad del yogur natural Zamorano.

El yogur natural Zamorano se enriqueció con 0.42 g de fitoesteros por porción.

### **Recomendaciones**

Evaluar en un análisis sensorial el efecto de la adición de fitoesteroles microencapsulados en el yogur natural de Zamorano.

Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas del yogur a través del tiempo con adición de fitoesteroles.

Estudiar el efecto del colesterol ante el consumo del yogur natural Zamorano con adición de fitoesteroles encapsulados en una población uniforme.

Evaluar la integración de fitoesteroles microencapsulados en el yogur antes del proceso de fermentación.



## Referencias

- Akhavan Mahdavi, S.; Jafari, S. M.; Assadpoor, E.; Dehnad, D. (2016): Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. En: *International journal of biological macromolecules* 85, pág. 379–385. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011.
- Aline Comunian, T. (2017): Simultaneous encapsulation of echium seed oil (<em>Echium Plantagineum L</em>.), phytosterols and phenolic compounds: Characterization and application of microcapsules. Tesis de doctorado. Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil. Disponible en línea en <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74132/tde-23022018-135021/>, Última comprobación el 22/06/2021.
- Arias González, A. M.; Gil Cañas, D. M.; Arrubla Vélez, J. P. (2013): Análisis de fitoesteroles en la semilla del estropajo, <em>luffa cylindrica</em> por cromatografía de gases capilar. En: *Scientia Et Technica* 18 (3), pág. 535–541. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/849/84929154014.pdf>, Última comprobación el 26/05/2021.
- Arroyo Lobo, J. L. (2015): Conservación de alimentos mediante microencapsulación por emulsificación. Universidad de Córdoba. Disponible en línea en <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1057/TRABAJO%20DE%20GRADO%20%20JOE%20ARROYO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Babio, N.; Mena-Sánchez, G.; Salas-Salvadó, J. (2017): Más allá del valor nutricional del yogur: ¿Un indicador de la calidad de la dieta? En: *Nutricion hospitalaria* 34 (Suppl 4), pág. 26–30. DOI: 10.20960/nh.1567.
- Badal, S. Delgoda, R. (2016): Pharmacognosy - fundamentals, applications and strategies: Elsevier Science Publishing Co.
- Batawy, O. E.; Khalil, O. F.S. (2018): Manufacture and Properties of Low-Fat Bio Yoghurt Containing Probiotic Strains and Maltodextrin as Prebiotic Osama El. En: *J Prob Health* 06 (01). DOI: 10.4172/2329-8901.1000192.
- Bisar, G.; El-Saadany, K.; Khattab, A.; El-Kholy, W. (2015): Implementing Maltodextrin, Polydextrose and Inulin in Making a Synbiotic Fermented Dairy Product. En: *BMRJ* 8 (5), pág. 585–603. DOI: 10.9734/BMRJ/2015/16950.
- Botrel, Diego Alvarenga; Barros Fernandes, Regiane Victória de; Borges, Soraia Vilela; Yoshida, Maria Irene (2014): Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. En: *Food Research International* 62, pág. 344–352. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.02.003.
- Caliskan, Gulsah; Dirim, S. Nur (2016): The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. En: *Powder Technology* 287, pág. 308–314. DOI: 10.1016/j.powtec.2015.10.019.

- Cano-Higuita, D. M.; Vélez, H.A.V.; Telis, V.R.N. (2015): Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum arabic, maltodextrin and modified starch. En: *Ciênc. agrotec.* 39 (2), pág. 173–182. DOI: 10.1590/S1413-70542015000200009.
- Cardona, F. (2019): Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones. Universidad de Valencia. Valencia, ES, Última comprobación el 31/07/2021.
- Carneiro, H.C.F.; Tonon, R. V.; Grosso, C.R.F.; Hubinger, M. D. (2013): Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. En: *Journal of Food Engineering* 115 (4), pág. 443–451. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033.
- Castro-Muñoz, R.; Barragán-Huerta, B. E.; Yáñez-Fernández, J. (2015): Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). En: *LWT* 62 (1), pág. 242–248. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.09.042.
- Chen, Q.; Zhong, F.; Wen, J.; McGillivray, D.; Quek, S. Y. (2013): Properties and Stability of Spray-Dried and Freeze-Dried Microcapsules Co-Encapsulated with Fish Oil, Phytosterol Esters, and Limonene. En: *Drying Technology* 31 (6), pág. 707–716. DOI: 10.1080/07373937.2012.755541.
- Chuaychan, S.; Benjakul, S. (2016): Effect of maltodextrin on characteristics and antioxidative activity of spray-dried powder of gelatin and gelatin hydrolysate from scales of spotted golden goatfish. En: *Journal of food science and technology* 53 (9), pág. 3583–3592. DOI: 10.1007/s13197-016-2340-7.
- Comunian, T. A.; Boillon, M.R.G.; Thomazini, M.; Nogueira, M. S.; Castro, I. A.; Favaro-Trindade, C. S. (2016): Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. En: *Food research international (Ottawa, Ont.)* 88 (Pt A), pág. 114–121. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.03.008.
- CORTÉS R, Misael; HERNÁNDEZ, Gustavo; ESTRADA M, Eliana M. (2017): OPTIMIZATION OF THE SPRAY DRYING PROCESS FOR OBTAINING CAPE GOOSEBERRY POWDER: AN INNOVATIVE AND PROMISING FUNCTIONAL FOOD. En: *Vitae* 24 (1), pág. 59–67. DOI: 10.17533/udea.vitae.v24n1a07.
- Costa, Marion P.; Frasao, Beatriz S.; Rodrigues, Bruna L.; Silva, Adriana Co; Conte-Junior, Carlos A. (2016): Effect of different fat replacers on the physicochemical and instrumental analysis of low-fat cupuassu goat milk yogurts. En: *The Journal of dairy research* 83 (4), pág. 493–496. DOI: 10.1017/S0022029916000674.
- Da Silva Marineli, R.; Furlan, C.P.B.; Marques, A. y. C.; Bicas, J.; Pastore, G. M.; Maróstica, M. R. (2015): Phytosterols. En: Vijai Kumar Gupta y Maria G. Tuohy (eds.): *Biotechnology of Bioactive Compounds*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pág. 565–581.
- de Ancos, B., A.; Fernández-Jalao, I.; Sánchez-Moreno, C. (2016): Compuestos funcionales en productos de IV y V gama. En: *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 17 (2), pág. 130–148. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/813/81349041002.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.

- Descalzo, A. M.; Rizzo, S. A.; Servent, A.; Rossetti, L.; Lebrun, M.; Pérez, C. D. et al. (2018): Oxidative status of a yogurt-like fermented maize product containing phytosterols. En: *Journal of food science and technology* 55 (5), pág. 1859–1869. DOI: 10.1007/s13197-018-3102-5.
- Devi, N.; Sarmah, M.; Khatun, B.; Maji, T. K. (2017): Encapsulation of active ingredients in polysaccharide-protein complex coacervates. En: *Advances in colloid and interface science* 239, pág. 136–145. DOI: 10.1016/j.cis.2016.05.009.
- Di Battista, C. A.; Trapé, D.; Constenla, D. T.; Ramírez Rigo, V.; Piña J. (2013): Microencapsulación de fitoesteroles mediante secado por atomización: influencia de la temperatura de secado. Universidad Nacional del Sur. Argentina. Disponible en línea en [http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/04\\_025/papers/09d/09d\\_1470\\_529.pdf](http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/04_025/papers/09d/09d_1470_529.pdf), Última actualización el 2013, Última comprobación el 05/05/2021.
- Di Battista, Carla Agustina; Constenla, Diana; Ramírez-Rigo, María Verónica; Piña, Juliana (2015): The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. En: *Powder Technology* 286, pág. 193–201. DOI: 10.1016/j.powtec.2015.08.016.
- Domagała, J.; Sady, M.; Grega, T.; Bonczar, G. (2006): Rheological Properties and Texture of Yoghurts When Oat-Maltodextrin is Used as a Fat Substitute. En: *International Journal of Food Properties* 9 (1), pág. 1–11. DOI: 10.1080/10942910600588776.
- Duarte Trujillo, A. S.; Jiménez Forero, J. A.; Pineda Insuasti, J. A.; González Trujillo, C. A.; García Juárez, M. (2020): Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (<em>Pleurotaceae</em>) por maceración dinámica. En: *Acta biol. Colomb.* 25 (1), pág. 61–74. DOI: 10.15446/abc.v25n1.72409.
- Encina, C.; Márquez-Ruiz, G.; Holgado, F.; Giménez, B.; Vergara, C.; Robert, P. (2018): Effect of spray-drying with organic solvents on the encapsulation, release and stability of fish oil. En: *Food chemistry* 263, pág. 283–291. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.026.
- EsquivelGonzález, B. E.; Ochoa Martínez, L. A.; Rutiaga-Quiñones, O.M (2015): Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. En: *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 16 (2), pág. 180–192. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>, Última comprobación el 28/04/2021.
- Fadel, H. M.; Hassan, I. M.; Ibraheim, M. T.; Abd E.M., Magda A.; Saad, R. (2019): Effect of using cinnamon oil encapsulated in maltodextrin as exogenous flavouring on flavour quality and stability of biscuits. En: *Journal of food science and technology* 56 (10), pág. 4565–4574. DOI: 10.1007/s13197-019-03931-2.
- Favaro-Trindade, C. S.; Santana, A. S.; Monterrey-Quintero, E. S.; Trindade, M. A.; Netto, F. M. (2010): The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. En: *Food Hydrocolloids* 24 (4), pág. 336–340. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.10.012.
- Fernández de la Cuesta, A. (2014): Desarrollo y aplicación de métodos analíticos para la caracterización y mejora de semillas y aceites vegetales. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, Medellín.

Disponible en línea en <https://1library.co/document/q2g41p6y-desarrollo-aplicacion-metodos-analiticos-caracterizacion-semillas-aceites-vegetales.html>, Última comprobación el 22/06/2021.

Fujiwara, G. M. (2012): Microencapsulacao de estigmasterol utilizando alginato de sodio, quitosana e amido. Tesis de posgrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Disponible en línea en <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/28180/R%20-%20D%20-%20GISLENE%20MARI%20FUJIWARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, Última comprobación el 22/06/2021.

García-Ceja, A.; López-Malo, A. (2012): Biopolímeros utilizados en la encapsulación. En: *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 6 (1), pág. 84–91, Última comprobación el 22/06/2021.

Gesteiro, E.; Galera-Gordo, J.; González-Gross, M. (2018): Aceite de palma y salud cardiovascular: consideraciones para valorar la literatura. En: *Nutrición hospitalaria* 35 (5), pág. 1229–1242. DOI: 10.20960/nh.1970.

Gómez Llorente H, Pérez Esteres E. (2020): Sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos basados en emulsiones. Universidad de Valencia.

González Hernández, S. (2017): Evidencias científicas del efecto hipocolesterolemiante de los fitosteroles. Universidad de la Laguna. España. Disponible en línea en <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/6797/EVIDENCIAS%20CIENTIFICAS%20DEL%20EFECTO%20HICOLESTEROLEMIANTE%20DE%20LOS%20FITOSTEROLES.pdf?sequence=1>, Última actualización el 2017, Última comprobación el 05/05/2021.

Hernandez Olate, M.; Jara Quezada, R.; Muñoz Voisin, A. (2013): Fitoesteroles y fitoestanoles. Universidad UCINF. Chile. Disponible en línea en <https://hdl.handle.net/20.500.12743/1444>, Última comprobación el 26/05/2021.

Hernández-Torres, C. J.; Iliina, A.; Ventura-Sobrevilla, J. M.; Belmares-Cerda, R. E.; Contreras-Esquivel, J. C.; Michelena Álvarez, G.; Martínez-Hernández, J. L. (2016): La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. En: *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* 50 (1), pág. 12–19. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420003.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.

Herrera Chalé, F.; Betancur Ancona, D.; Segura Campos, M. R. (2014): Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. En: *Nutrición Hospitalaria* 29 (1), pág. 10–20. Disponible en línea en <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/6990.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.

Hussain, M.; Li, X.; Liu, L.; Wang, L.; Qayum, A.; Purevsuren, B.; Hussain, A. (2020): Characterization and anti-hyper-lipidemic effect of micro encapsulated phytosterol enriched cheddar cheese. En: *LWT* 134, pág. 110114. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110114.

Jyothi, N.V.N.; Prasanna, P. M.; Sakarkar, S. N.; Prabha, K. S.; Ramaiah, P. S.; Srawan, G. Y. (2010): Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. En: *Journal of microencapsulation* 27 (3), pág. 187–197. DOI: 10.3109/02652040903131301.

- Kusmayadi, A.; Adriani, L.; Abun A.; Muchtaridi, M.; Hidayat Tanuwiria, U. (2019): The microencapsulation of mangosteen peel extract with maltodextrin from arenga starch: formulation and characterization. En: *J App Pharm Sci* 9 (3), pág. 33–40. DOI: 10.7324/JAPS.2019.90306.
- Lees, Ann M.; Mok, Henry Y.I.; Lees, Robert S.; McCluskey, Martha A.; Grundy, Scott M. (1977): Plant sterols as cholesterol-lowering agents: Clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. En: *Atherosclerosis* 28 (3), pág. 325–338. DOI: 10.1016/0021-9150(77)90180-0.
- López Córdoba, A. F. (2012): Desarrollo de sistemas de encapsulación compuestos para la protección de extractos antioxidantes de yerba mate. Universidad Nacional De La Plata. Argentina. Disponible en [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/24904/Documento\\_completo\\_.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/24904/Documento_completo_.pdf?sequence=1&isAllowed=y), Última comprobación el 15/02/2021.
- Martínez Hernandez, A. T.; Santana Parra, A. C. (2019): Evaluación de un proceso para la obtención de fitoesteroles partiendo de la semilla del aguacate (<em>persea americana mill. Var</em> <em>hass</em>) a escala laboratorio. Tesis de pregrado. Universidad de America, Bogotá, Colombia. Disponible en <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7709/1/6141271-2019-2-IQ.pdf>, Última comprobación el 05/05/2021.
- Meco López, J. F.; Pascual Fuster, V.; Solà Alberich, R. (2016): La utilización de los esteroides vegetales en la práctica clínica: de la química a la clínica. En: *Clinica e investigacion en arteriosclerosis : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis* 28 (6), pág. 283–294. DOI: 10.1016/j.arteri.2016.04.001.
- Meng, Yang; Cloutier, Sylvie (2014): Gelatin and Other Proteins for Microencapsulation. En: *Microencapsulation in the Food Industry*: Elsevier, pág. 227–239.
- Merino, J.; Masana, L.; Guijarro, C.; Ascaso, J.; Lagares, M.; Civeira, F. (2014): Recomendaciones para la utilización clínica de los alimentos enriquecidos con fitoesteroides/fitoestanoles en el manejo de la hipercolesterolemia. En: *Clinica e investigacion en arteriosclerosis : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis* 26 (3), pág. 147–158. DOI: 10.1016/j.arteri.2014.03.001.
- Mondragón, A.; Pinilla, C. (2015): Aceite de palma alto oleico: propiedades fisicoquímicas y beneficios para la salud humana. En: *Revista Palmas* 36 (4), pág. 55–66. Disponible en <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/11645/11637>, Última comprobación el 28/04/2021.
- Mori Nuñez, C. (2017): EFECTO DE LA CARRAGENINA Y SACAROSA EN LA ACTIVIDAD DE AGUA, pH, SINÉRESIS Y ACIDEZ DEL YOGURT. Tesis doctoral. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Disponible en línea en <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3166/Q04-M675-T.pdf?sequence=4&isAllowed=y>, Última comprobación el 31/07/2021.

- Muñoz Jáuregui, A. M.; Alvarado-Ortíz Ureta, C.; Encina Zelada, C. (2011): Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. En: *Horizonte Médico* 11 (2), pág. 93–100. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/3716/371637122007.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.
- Murillo Serna, A. M.; Rodríguez Salazar, D. (2018): Alimentación saludable, la gran tendencia del consumo actual. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma de Occidente, Santiago de Cali, Colombia. Disponible en línea en <https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/10621/T08290.pdf;jsessionid=3287A94257826863ADB081D5FC89D2D4?sequence=5>, Última comprobación el 20/02/2021.
- Muzo Moreta, A. G. (2016): Elaboración de una forma farmacéutica para disminuir niveles de colesterol en sangre a partir del extracto de hojas de la biblia, planta nativa del centro cultural Unishu de la comuna chiguilpe de santo domingo de los tsáchilas NIVELES DE COLESTEROL EN SANGRE A PARTIR DEL EXTRACTO DE HOJAS DE LA BIBLIA, PLANTA NATIVA DEL CENTRO CULTURAL UNISHU DE LA COMUNA CHIGUILPE DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS. Tesis de pregrado. Universidad Regional Autónoma de los Andes, UNIANDES, Ecuador. Disponible en línea en <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/4786/1/PIUABQF012-2016.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.
- Nava Reyna, E.; Michelena Álvarez, G.; Iliná, A.; Martínez Hernández, J. (2015): Microencapsulación de componentes bioactivos. En: *Investigación y Ciencia* 23 (66), pág. 64–70. Disponible en línea en <https://www.redalyc.org/pdf/674/67446014009.pdf>, Última comprobación el 05/05/2021.
- Navarro-González, I.; Periago, M. J. (2016): El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional? En: *Revista Española de nutrición humana y dietética* 20 (4), pág. 323–335. Disponible en línea en <https://cpncampus.com/biblioteca/files/original/29e26ecc755de11a7cab6d433ab40984.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.
- Nedovic, V.; Kalusevic, A.; Manojlovic, V.; Levic, S.; Bugarski, B. (2011): An overview of encapsulation technologies for food applications. En: *Procedia Food Science* 1, pág. 1806–1815. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.265.
- Ogbe, r. j.; Ochalefu, D. O.; Mafulul, S. G.; Olaniru, O. B. (2015): A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. En: *Asian Journal of Plant Science and Research* 5 (4), pág. 10–21. Disponible en línea en <https://www.imedpub.com/articles/a-review-on-dietary-phytosterols-their-occurrence-metabolism-and-health-benefits.pdf>, Última comprobación el 15/02/2021.
- Pascual Fuster, Vicente (2017): Utilidad de los esteroides vegetales en el tratamiento de la hipercolesterolemia. En: *Nutrición hospitalaria* 34 (Suppl 4), pág. 62–67. DOI: 10.20960/nh.1574.
- Perez Valladares, A. J. (2020): Evaluación de la relación etanol:agua y porcentaje de maltodextrina en las propiedades físico-químicas de fitoesteroides de palma (*Elaeis guineensis*) microencapsulados con gelatina. Tesis de pregrado. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. Disponible en línea en <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6920/1/AGI-2020-T037.pdf>, Última comprobación el 26/05/2021.

- Ramírez Botero, C. M.; Román Morales, M. O. (2018): Sobre los alimentos con actividad hipolipemiante. En: *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 28 (2), pág. 417–456. Disponible en línea en <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubanut/can-2018/can182l.pdf>, Última comprobación el 05/05/2021.
- Ramírez Ortiz, M. E. (2017): Propiedades funcionales de hoy: OmniaScience.
- Ribeiro, Mírian Luisa Faria Freitas; Roos, Yrjö Henrik; Ribeiro, Ana Paula Badan; Nicoletti, Vânia Regina (2020): Effects of maltodextrin content in double-layer emulsion for production and storage of spray-dried carotenoid-rich microcapsules. En: *Food and Bioprocess Processing* 124, pág. 208–221. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.09.004.
- Rosenberg, M.; Rosenberg, Y.; Frenkel, L. (2016): Microencapsulation of model oil in wall matrices consisting of SPI and maltodextrins. En: *AIMS Agriculture and Food* 1 (1), pág. 33–51. DOI: 10.3934/agrfood.2016.1.33.
- Rubiano K; Cárdenas J; Ciro V. H. (2015): Encapsulación de sabores de d-limoneno mediante secado por aspersión: efecto de la adición de emulsificantes 17, pág. 77–89. Disponible en línea en <http://www.scielo.org.co/pdf/inco/v17n2/v17n2a08.pdf>, Última comprobación el 31/07/2021.
- Salminen, Hanna; Ankenbrand, Juliane; Zeeb, Benjamin; Badolato Bönisch, Gabriela; Schäfer, Christian; Kohlus, Reinhard; Weiss, Jochen (2019): Influence of spray drying on the stability of food-grade solid lipid nanoparticles. En: *Food research international (Ottawa, Ont.)* 119, pág. 741–750. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.10.056.
- San Mauro-Martín, I.; Collado-Yurrita, L.; Blumenfeld-Olivares, J. A.; Cuadrado-Cenzual, M.Á.; Calle-Purón, M. E.; Hernández-Cabria, M. et al. (2016): Efecto de esteroides vegetales en la reducción del colesterol plasmático: ensayo clínico, controlado, aleatorizado, cruzado y doble ciego. En: *Nutricion hospitalaria* 33 (3), pág. 279. DOI: 10.20960/nh.279.
- Sanchez Molina, D.; Vargas-Porras, M.; Ortega-Toro, R.; Piñeros-Castro, Y. (2018): Extracción y encapsulación de compuestos fenólicos provenientes de cascarilla de arroz. En: *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 47 (3), pág. 410–423. DOI: 10.15446/rcciquifa.v47n3.77373.
- Saraiva, D.; Da Conceição Castilho, M.; do Rosário Martins, M.; Da Silveira, M.I.N.; Ramos, F. (2011): Evaluation of Phytosterols in Milk and Yogurts Used as Functional Foods in Portugal. En: *Food Anal. Methods* 4 (1), pág. 28–34. DOI: 10.1007/s12161-010-9131-y.
- Sharifi, S.; Rezazad-Bari, M.; Alizadeh, M.; Almasi, H.; Amiri, S. (2021): Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese. En: *Food Hydrocolloids* 113, pág. 106496. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106496.
- Silva, P.; Pinheiro, A. C.; Rodríguez, L.; Figueroa, V.; Baginsky, C. (2016): Fuentes naturales de fitoesteroides y factores de producción que lo modifican. En: *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 66 (1). Disponible en línea en [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222016000100002&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222016000100002&script=sci_arttext&tlng=en), Última comprobación el 15/02/2021.

- Souza, V. B. de; Thomazini, M.; Balieiro, J. de C.C.; Fávaro-Trindade, C. S. (2015): Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). En: *Food and Bioproducts Processing* 93, pág. 39–50. DOI: 10.1016/j.fbp.2013.11.001.
- Timilsena, Y. P.; Haque, M. A.; Adhikari, B. (2020): Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. En: *FNS* 11 (06), pág. 481–508. DOI: 10.4236/fns.2020.116035.
- Tolve, R.; Cela, N.; Condelli, N.; Di Cairano, M.; Caruso, M. C.; Galgano, F. (2020): Microencapsulation as a Tool for the Formulation of Functional Foods: The Phytosterols' Case Study. En: *Foods (Basel, Switzerland)* 9 (4). DOI: 10.3390/foods9040470.
- Tolve, R.; Condelli, N.; Can, A.; Tchuenbou-Magaia, F. L. (2018): Development and Characterization of Phytosterol-Enriched Oil Microcapsules for Foodstuff Application. En: *Food and Bioprocess Technology* 11, pág. 152–163. Disponible en línea en <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-017-1990-4>, Última comprobación el 26/05/2021.
- Tomson, L.; Galoburda, R.; Kruma, Z.; Durrieu, V.; Cinkmanis, I. (2020): Microencapsulation of Horseradish (*Armoracia rusticana* L.) Juice Using Spray-Drying. En: *Foods (Basel, Switzerland)* 9 (9). DOI: 10.3390/foods9091332.
- Uddin, M. S.; Ferdosh, S.; Haque Akanda, M. J.; Ghafoor, K.; Rukshana, A. H.; Ali, M. E. et al. (2018): Techniques for the extraction of phytosterols and their benefits in human health: a review. En: *Separation Science and Technology* 53 (14), pág. 2206–2223. DOI: 10.1080/01496395.2018.1454472.
- Wang, L.; Chang, Y.; Osmanson, A. T.; Zhang, J.; Li, L. (2018): Facile continuous production of soy peptide nanogels via nanoscale flash desolvation for drug entrapment. En: *International journal of pharmaceutics* 549 (1-2), pág. 13–20. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.07.044.
- Yang, B.; Jiang, Y.; Shi, J.; Chen, F.; Ashraf, M. (2011): Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit — A review. En: *Food Research International* 44 (7), pág. 1837–1842. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.10.019.



## Anexos

### Anexo A

*Resultados de la Relación etanol:agua en la Actividad de agua promedio de los tratamientos de microencapsulado.*

Relación Etanol: Agua	Actividad de agua
	Media $\pm$ D.E.
2:1	0.23 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
3:1	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
C.V. (%)	6.83

*Nota:* C.V.: Coeficiente de variación; D.E.: Desviación estándar. a-b: valores seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

### Anexo B

*Resultado del porcentaje de maltodextrina en la Actividad de agua promedio de los tratamientos de microencapsulado de fitoesteroles.*

Maltodextrina (%)	Actividad de agua
	Media $\pm$ D.E.
6	0.24 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
8	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
C.V. (%)	6.83

*Nota.* a-b: valores seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ); C.V.: Coeficiente de variación, en porcentaje; D.E.: Desviación estándar.

### Anexo C

*Resultados de la Relación etanol:agua en la capacidad de carga promedio de los tratamientos de microencapsulado (mg/g).*

Relación Etanol: Agua	Capacidad de carga
	Media $\pm$ D.E.
2:1	49.5 $\pm$ 4.50 <sup>a</sup>
3:1	39.3 $\pm$ 3.72 <sup>b</sup>
C.V. (%)	6.83

*Nota.* Cada capacidad de carga representa la media de los tratamientos de cada relación etanol:agua. C.V.: Coeficiente de variación. D.E.: Desviación estándar. a-b: Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en capacidad de carga, según la relación etanol:agua de cada tratamiento.

### Anexo D

*Resultado del porcentaje de maltodextrina en la Capacidad de carga promedio de los tratamientos de microencapsulado de fitoesteroles (mg/g).*

Maltodextrina (%)	Capacidad de carga
	Media $\pm$ D.E.
6	47.167 $\pm$ 6.62 <sup>a</sup>
8	41.667 $\pm$ 5.84 <sup>b</sup>
C.V. (%)	6.83

Nota. Cada capacidad de carga representa la media de los tratamientos de cada porcentaje de maltodextrina. C.V.: Coeficiente de variación.

D.E.: Desviación estándar. a-b: Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en capacidad de carga, según el porcentaje de maltodextrina de cada tratamiento.