

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



Proyecto Especial de Graduación

**Evaluación de la relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina
en los fitoesteroles de palma (*Elaeis guineensis*) encapsulados con
caseína**

Estudiante

María Camila Mosquera Caza

Asesores

Luis F. Maldonado, Ph.D.

Jorge Cardona, Ph.D.

Honduras, agosto 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

Contenido.....	3
Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figura.....	6
Índice de Anexos.....	7
Resumen	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	13
Localización del Estudio	13
Materiales	13
Fase Preliminar	13
Elaboración de los Tratamientos	13
Preparación de la Fase Orgánica.....	13
Preparación de la Fase Acuosa	14
Preparación de la Microencapsulación de Fitoesteroles.....	14
Secado por Aspersión	14
Análisis Químicos	15
<i>Análisis de Fitoesteroles</i>	15
<i>Capacidad de Carga</i>	16
<i>Solubilidad</i>	17
<i>Actividad de Agua (A_w)</i>	17

<i>Tamaño y Morfología de Partículas</i>	17
Análisis Estadístico	17
Resultados y Discusión.....	19
Fase preliminar	19
Fase 1. Análisis Físicos y Químicos.....	19
Solubilidad.....	19
Actividad de Agua	20
Tamaño de Partícula	22
Capacidad de Carga.....	24
Conclusiones	26
Recomendaciones.....	27
Referencias.....	28
Anexos.....	33

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Niveles del factor relación etanol: agua evaluados en la encapsulación de fitoesteroles...	14
Cuadro 2. Niveles del factor relación etanol:agua y porcentaje de maltodextrina evaluados en la encapsulación de fitoesteroles.	14
Cuadro 3. Condiciones de operación de cromatógrafo de gases Agilent 6890 Serie GC System, para análisis de fitoesteroles.....	16
Cuadro 4. Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la solubilidad promedio de los tratamientos.....	20
Cuadro 5. Probabilidad de interacción de los factores de solubilidad	20
Cuadro 6. Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la actividad de agua promedio de los tratamientos.	21
Cuadro 7. Probabilidad e interacción de los factores de actividad de agua.....	22
Cuadro 8. Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en el tamaño de partícula promedio de los tratamientos.	23
Cuadro 9. Probabilidad e interacción de los factores de tamaño de partícula.	23
Cuadro 10. Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la capacidad de carga promedio de los tratamientos.....	25
Cuadro 11. Probabilidad e interacción de los factores de capacidad de carga.	25

Índice de Figura

Figura 1 Tamaño y morfología de microcápsulas de fitoesteroles	24
---	----

Índice de Anexos

Anexo A. Cromatograma del perfil de fitoesteroles usado para determinar la capacidad de carga....	33
Anexo B. Morfología y tamaño A) 5% MD, RLC 2:1 B)10% MD, RLC: 2:1	34

Resumen

La tendencia actual es el consumo de alimentos funcionales enriquecidos con nutraceuticos, que presentan grandes beneficios para la salud humana. Se recomienda el consumo de 2 g al día de fitoesteroles para reducir la cantidad de colesterol LDL de nuestro organismo, sin embargo, estos compuestos son pocos solubles en matrices alimenticias acuosas. Debido a esto, el presente estudio tuvo como finalidad la evaluación del efecto de la relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina en la microencapsulación de los fitoesteroles. Se usaron dos porcentajes de maltodextrina (5 y 10%), dos relaciones etanol: agua (1:1 y 2:1) y relación proteína: fitoesterol (2:1). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 2×2 con tres repeticiones, y para la interacción entre la relación y el porcentaje de maltodextrina, se utilizó una separación de medias ajustadas (LSMEANS) y la prueba Duncan para comparar las medias de los factores. Los parámetros evaluados fueron solubilidad, actividad de agua, tamaño de partícula, y capacidad de carga. Se obtuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la actividad de agua, siendo menor para los tratamientos con mayor porcentaje de maltodextrina. En la solubilidad se obtuvo diferencias significativas ($P \leq 0.05$), con un rango de solubilidad de 86 a 91%. El tamaño de partículas no mostró diferencias significativas y se encontró en un rango de 231 a 267 μm , de acuerdo con el porcentaje de maltodextrina. La capacidad de carga fue mayor con 5% de maltodextrina, obteniendo valores en el rango de 60 – 63 mg/g.

Palabras clave: Alimentos funcionales, capacidad de carga, solubilidad.

Abstract

A current trend is the consumption of functional foods enriched with nutraceuticals that have great benefits for human health. The consumption of 2 g per day of phytosterols is recommended to reduce the amount of LDL cholesterol in our body; however, these compounds are not very soluble in aqueous food matrices. The present study aimed to evaluate the effect of the ethanol: water ratio and maltodextrin percentage in the microencapsulation of phytosterols. Two percentages of maltodextrin (5 and 10%), two ethanol: water ratios (1:1 and 2: 1) and protein: phytosterol ratio (2: 1) were used. A Completely Randomized Design was used with a 2×2 factorial arrangement with three repetitions, and for the interaction between the relationship and the percentage of maltodextrin, a separation of adjusted means (LSMEANS) and a Duncan test were used to compare the means of the factors. The evaluated parameters were solubility, water activity, particle size, and loading capacity. Significant differences ($P \leq 0.05$) were obtained for water activity, being lower for the treatments with a higher percentage of maltodextrin. For solubility, significant differences were obtained ($P \leq 0.05$) with a solubility range between 86 and 91%. The particle size did not show significant differences and was found in a range from 231 to 267 μm , according to the percentage of maltodextrin. The loading capacity was higher with 5% maltodextrin, obtaining values in the range of 60 - 63 mg/g.

Keywords: Functional food, loading capacity, solubility.

Introducción

La tendencia actual es el consumo de alimentos funcionales, los cuales consumidos como parte de una dieta equilibrada, ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y/o prevenir ciertas enfermedades (Aranceta Bartrina y Rodríguez Vicente 2011). Entre estos se pueden mencionar a los fitoesteroles, los cuales son compuestos de origen vegetal que presentan una estructura química muy similar a la del colesterol, pero cumplen la función de inhibir la absorción intestinal de este último (Valenzuela B. y Ronco M. 2004). Altos niveles de colesterol en la dieta humana han sido asociados con las ENT (Enfermedades No Transmisibles), las cuales son las principales causas de muerte a nivel mundial, siendo las principales las enfermedades cardíacas, pulmonares, cáncer y diabetes. Las ENT matan a más de 41 millones de personas cada año, lo que equivale al 71% de las muertes que se producen en el mundo. En la región de las Américas, son 5.5 millones las muertes por ENT cada año (OMS 2021b).

Entre las principales causas, está la inadecuada alimentación por parte de las personas, generando así problemas de sobrepeso, obesidad y enfermedades cardiovasculares. Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de defunción en todo el mundo. Cada año mueren más personas por alguna de estas enfermedades que por cualquier otra causa (OMS [updated 2021a]). Algunas de estas se dan por el colesterol elevado como la hipercolesterolemia, hipertensión, hipotiroidismo, entre otras. Entre las alternativas para combatir estas enfermedades está la correcta alimentación, por ejemplo, la ingesta adecuada de frutas, leguminosas y verduras crudas, alimentos que son ricos en carbohidratos complejos, se asocian con una menor mortalidad global (López-Jaramillo et al. 2018). Sin embargo, como principal recomendación tenemos el consumo de fitoesteroles, ya que ayudan a reducir o controlar el colesterol en la sangre.

Diversas investigaciones han demostrado que el consumo de ésteres de estanol vegetal en la alimentación es una alternativa para la prevención y control de dichas enfermedades, por el gran impacto que tienen en la reducción de lípidos, la cual puede ser del 14% en las concentraciones de

lípidos plasmáticos, reduciendo el colesterol total entre 10 y 20% y el colesterol LDL (Low Density Lipoprotein) aproximadamente en 10% (Romero Palacio y Vásquez Trespacios 2011). La ingesta de 2 gramos diarios de EV o estanoles vegetales (Rango 2.6-3.4 g/día) en las matrices aprobadas por el Reglamento (CE) nº 376/2010 (Grasas amarillas para untar, productos lácteos, mayonesa y aderezos para ensaladas) de la Unión Europea, disminuye el colesterol LDL en un 11.3% (Perales-Albert et al. 2013).

La adición de los fitoesteroles en los alimentos puede ser mediante la microencapsulación. Este proceso se define como una tecnología de empaque de materiales sólidos, líquidos o gaseosos en miniatura, cápsulas selladas que pueden liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Esquivel-González et al. 2015).

La variedad de materiales que pueden emplearse para la microencapsulación se ha ampliado gradualmente en la medida en que surgen nuevos biomateriales y se perfilan nuevas aplicaciones de esta técnica (Hernández-Torres et al. 2016). Para la microencapsulación se pueden utilizar polisacáridos, proteínas, lípidos y combinaciones de estos. Los polisacáridos y proteínas son compuestos versátiles que permiten la encapsulación de diversos compuestos bioactivos con características hidro- y liposolubles.

La caseína es el componente proteico más importante de la leche siendo considerada una proteína muy nutritiva. Poseen una excelente estabilidad durante el procesamiento térmico, lo que permite sus aplicaciones en alimentos y bebidas (Chen et al. 2019). La caseína exhibe excelentes propiedades de gelificación, que se han utilizado junto con la emulsificación para encapsular bacterias probióticas (Głąb y Boratyński 2017). La micela de caseína tiene la capacidad de servir como un sistema de encapsulación y las proteínas de caseína, como un sistema de entrega potencial (Roach et al. 2009).

La maltodextrina es el resultado de la hidrólisis de almidones. La maltodextrina es insípida y tiene facilidad de disolverse en agua. La hidrólisis utiliza agua, enzimas y ácidos para romper el almidón en partes más pequeñas (Muhamad et al. 2018). Es utilizado por su bajo valor económico y fácil

adquisición. Posee funciones como permitir la formación de una película o barrera protectora que reduce la permeabilidad del oxígeno y maximiza la incorporación y retención de compuestos funcionales (Saikia *et al.* 2015).

Debido a sus propiedades, en el presente estudio se utilizó caseína y maltodextrina como materiales pared para la encapsulación de fitoesteroles de palma africana. Facilitando así, su uso en estudios posteriores con el fin de agregar fitoesteroles a los alimentos líquidos. En la presente investigación se consideraron los siguientes objetivos:

Evaluar el efecto de la relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina en la solubilidad y actividad de agua.

Determinar el efecto de la relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina sobre la capacidad de carga de las microcápsulas.

Evaluar el tamaño de partícula y morfología de las microcápsulas de fitoesteroles.

Materiales y Métodos

Localización del Estudio

La investigación se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Específicamente, en las instalaciones del Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) para realizar los análisis físicos y químicos para el estudio y en la Planta de Innovación de Alimentos (PIA), donde se realizó el proceso de secado de las muestras.

Materiales

Fitoesteroles de Palma (BIOSA[®], Honduras), Caseína y Span[®] 20 (Sigma-Aldrich, MO, EE. UU.), Maltodextrina (DE 10-15, Shandong Bangye Co Ltd., Shandong, China), Etanol EMSURE[®] (99%, UN1170, Alemania), y agua desionizada.

Fase Preliminar

Esta fase consistió en una serie de pruebas para determinar la relación etanol: agua con mejor solubilidad y eficiencia de encapsulación. Las relaciones de solventes evaluadas fueron de 1:1, 1.5:1, 2:1. De las cuales se escogieron la relación 1:1 y 2:1. Para la fase acuosa se usó la proteína caseína como material encapsulante, la cual se preparó a concentraciones de 3.75 mg/mL, disuelta en 25 mL de agua desionizada. Los fitoesteroles se disolvieron inicialmente en etanol al 99%, y su adición en los tratamientos dependió de la relación 3.75, 5 y 7.50 mL, respectivamente.

Elaboración de los Tratamientos

Preparación de la Fase Orgánica

Esta fase consistió en la mezcla de fitoesteroles disueltos en etanol al 99%. La concentración se mantuvo constante, una parte de fitoesteroles por cada dos parte de caseína (2:1). La cantidad total añadida dependió de la relación etanol: agua (Cuadro 1). Se preparó en un matraz de 1000 mL, para ello se agregaron los fitoesteroles previamente pesados y se adicionó la cantidad de etanol según cada relación. Finalmente, se mezcló la solución con un magneto en una plancha marca Thermo Scientific a temperatura ambiente y 600 rpm.

Cuadro 1

Niveles del factor relación etanol: agua evaluados en la encapsulación de fitoesteroles.

Tratamiento	Descripción de los niveles de la relación etanol: agua (mL)
1	1:1
2	2:1

Preparación de la Fase Acuosa

La fase acuosa consistió en la combinación de caseína (proteína) con agua desionizada. Se pesaron las cantidades respectivas de caseína para cada tratamiento en matraces de 1000 mL. Una vez disuelta la proteína, se midió el pH y se subió a un valor de 12 y posteriormente se bajó a 7, usando NaOH 0.1 M y HCl 0.1 M, respectivamente. Este procedimiento se realizó con el objetivo de disolver la caseína completamente. Finalmente, se añadió 1 g de Span® 20 a la fase orgánica.

Preparación de la Microencapsulación de Fitoesteroles

La fase acuosa se mantuvo en movimiento constante en la plancha magnética a 600 rpm y se agregó la fase no soluble (orgánica). Posteriormente, se evaporó el etanol de cada muestra en un roto-evaporador® R-100 (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Suiza). Finalmente se agregó la maltodextrina, para ello, se usaron los porcentajes descritos en el Cuadro 2.

Cuadro 2

Niveles del factor relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina evaluados en la encapsulación de fitoesteroles.

Tratamientos	Descripción de niveles	
	Relación Etanol: agua (mL)	Porcentaje de maltodextrina (%)
1	1:1	5
2		10
3	2:1	5
4		10

Secado por Aspersión

El secado de las muestras se realizó en el secador por aspersión (LabPlant SD-Basic, UK). La muestra se colocó en un matraz de 1000 mL, la cual estuvo colocada en una plancha magnética, para

mantenerla en agitación constante, y se introdujo la manguera de absorción. Una vez encendida la bomba peristáltica, está ayudó a la absorción de la muestra. Al entrar a la cámara de secado, la solución entró en contacto con el aire caliente, generando así una deshidratación de la muestra y formando las partículas secas. Estas fueron depositadas en el frasco portador de la muestra y se procedió a retirar la muestra en una bolsa; posteriormente, se realizó el pesado.

Análisis Químicos

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 haciendo uso del método de la AOCS Ce 12-16. Se preparó una solución estándar interno (IS) con Epicoprostanol, 5 β -colestano-3 α -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; se agregó 5 mL del estándar interno, se colocaron tres perlas de cristal y 5 mL de HCl a 3 N. Posteriormente, se colocó la muestra en un condensador de reflujo y con una plancha se calentó hasta 100 °C por 45 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 agregó la solución saturada hasta el cuello del matraz, se agitó por 3 min y se dejó en reposo 2 min. Luego se retiró la fase orgánica, se colocó en otro matraz de 50 mL, al cual se agregó 5 mL de NaOH metanólico a 3 N y 3 perlas de cristal. Se colocó nuevamente en el condensador de reflujo, se calentó a 100 °C por 15 min; pasado el tiempo se dejó en enfriamiento por 20 min y se realizó el segundo lavado con NaCl. Para la derivatización de los fitoesteroles, se extrajeron 300 μ L de la fase orgánica, los cuales se mezclaron 250 μ L de Piridina, 500 μ L de BSTFA al 1% (N, O-Bistrifluoroacetamida), 0.001 g de sulfato de sodio y se colocaron 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. Los fitoesteroles se presentarán en picos como se

observan en el Anexo A, en el cuál determina la cantidad de cada fitoesterol presentes en la muestra. Las condiciones de operación del CG se detallan en el Cuadro 3.

Cuadro 3

Condiciones de operación de cromatógrafo de gases Agilent 6890 Serie GC System, para análisis de fitoesteroles.

Módulos	Parámetros
Gases de arrastre	Hidrógeno
Columna	SP - 30 m × 0.320 mm × 0.25 μm
Horno	Temperatura inicial 55 °C, tiempo 3 minutos Temperatura final 120 °C., tiempo 2 minutos Velocidad de calentador 20 °C/min
Detector (FID)	Temperatura 250 °C Presión del aire 450 mL/min Presión del hidrógeno 40.0 mL/min
Inyector (Split)	Temperatura 175 °C Split radio 80.0 Velocidad lineal 39 cm/seg
Duración del método	8.25 min
Volumen de inyección	1.0 μL

Análisis de pH

La metodología se efectuó sobre la fase soluble, a los 600 mL de agua desionizada con la caseína y el Span® 20 en constante agitación, se ajustó el pH. Se subió hasta 12 con ayuda de NaOH a concentración de 0.1 M y se bajó a siete utilizando HCl a 0.1 M. La medición fue a través de un potenciómetro, usando la metodología oficial AOAC 981.12 (AOAC International 2019).

Capacidad de Carga

Para determinar la capacidad de carga de los fitoesteroles encapsulados, se comparó la cantidad de fitoesterol encapsulado (mg) con la cantidad de muestra (1 g) usada para el análisis por cromatografía de gases (Ecuación 1).

$$\text{Capacidad de carga} = \frac{(\text{FR})}{(\text{CMC})} \quad [1]$$

Donde: FR = Fitoesteroles recuperados por cromatografía de gases, mg., CMC = Cantidad de muestra utilizada para cromatografía de gases, g.

Solubilidad

Se pesó 2 g de muestra obtenida en el proceso de secado por atomización, en tubos cónicos de centrífuga, a los que se agregó 24 mL de agua desionizada. Se agitó a 5,000 rpm por cinco minutos, en un Vortex. Luego se llevaron a un baño maría a 30 °C por 30 min, para finalmente centrifugar a 5,000 rpm por 15 min. El sobrenadante se extrajo y se secó en un plato Petri en un horno a 105 °C por 24 horas. Posteriormente se pesó el plato después de sacar del horno. Para determinar el porcentaje de solubilidad se usó la Ecuación 2.

$$\% \text{ Porcentaje de solubilidad} = \frac{P_i - \text{PMI}}{P_i} * 100 \quad [2]$$

Donde:

P_i = Peso inicial, g.

PMI = Peso del material insoluble, g.

Actividad de Agua (A_w)

Se realizó la medición de la actividad de agua a través del método de la AOAC 978.18 con el uso de un Aqualab Serie 3 (Decagon Devices WA, EE. UU.). Para ello, se puso la muestra en las copas plásticas del equipo, con nivel hasta la mitad de esta. La muestra permaneció en el equipo hasta que se alcanzó el equilibrio indicado en el aparato.

Tamaño y Morfología de Partículas

Las partículas fueron medidas en una escala de 1000 μm, para lo cual se usó un microscopio invertido marca Mshot MI11, con aumento de 40×. Para la captura de imágenes se usó una cámara Dino-Eye AM-423X. La medición de las imágenes se realizó con el programa Dino Capture versión 2.0 con escala en micrómetros.

Análisis Estadístico

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 2×2, utilizando dos niveles de relación etanol: agua (1:1, 2:1), y el factor porcentaje de maltodextrina de 5 y 10% (p/v),

representando lo anterior cuatro tratamientos, con tres repeticiones por cada tratamiento, para un total de 12 unidades experimentales. Los datos fueron analizados con el programa "Statistical Analysis System" (SAS® versión 9.4), por medio de una separación de medias ajustadas (LSMEANS) para la interacción de los niveles de los factores y análisis Duncan para comparar las medias de los factores con un nivel de significancia de 95%.

Resultados y Discusión

Fase preliminar

En la fase preliminar se realizaron tres relaciones etanol: agua de las cuales se escogieron solamente dos, 1:1 y 2:1. Se escogieron dichas relaciones dado que las muestras no se precipitaron. De acuerdo con los resultados obtenidos, se estableció la relación (p/p) 2:1 entre la caseína y los fitoesteroles, obteniendo dos partes de caseína por una de fitoesteroles. La relación se mantuvo constante para todos los tratamientos.

Debido a que la caseína es insoluble en agua, se modificó su pH inicial utilizando NaOH 0.1 M para subir este parámetro de 4 a 12. Posteriormente, se bajó a siete con HCl 0.1 M, con el objetivo de disolver totalmente la caseína.

Fase 1. Análisis Físicos y Químicos

Solubilidad

De acuerdo con los resultados que se muestran en el Cuadro 4, se observó que los cuatro tratamientos presentaron una solubilidad mayor al 85%. Según (Rahman Mazumder y Ranganathan 2020), la maltodextrina tiene baja viscosidad y buena solubilidad incluso en altas concentraciones. Esta macromolécula no modifica características inherentes en los alimentos, como lo son el sabor y el color. De acuerdo con Mezdour et al. (2006), la solubilidad de las principales fracciones de caseína en agua es una función del pH, la temperatura y su punto isoeléctrico. Debido a esto, se realizó la modificación del pH de 4 – 12 – 7 para garantizar la disolución de la caseína. El rango de solubilidad obtenido en este estudio fue de 86.24 a 91.35%, el cuál presentó un rango menor al obtenido por Castro-Muñoz et al. (2015) de 67.71 a 99.71%, donde utilizaron como material encapsulante gelatina y maltodextrina. Así mismo, según (Di Battista et al. 2018), las maltodextrinas tienen una alta solubilidad en agua y se utilizan para la microencapsulación en la industria alimentaria, esto debido a su gran similitud con almidones modificados extraídos por medio de una hidrólisis ácida.

Cuadro 4

Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la solubilidad promedio de los tratamientos.

Relación Etanol: agua	Maltodextrina (%) (p/v)	Solubilidad (%) Media \pm D.E.
1:1	5	86.24 \pm 0.38 ^b
	10	91.35 \pm 0.63 ^a
2:1	5	89.31 \pm 1.79 ^{ab}
	10	88.49 \pm 4.46 ^{ab}
C.V. (%)		2.42

Nota: C.V.: Coeficiente de Variación, D.E.: Desviación Estándar, a-b: Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) en el porcentaje de solubilidad de los tratamientos.

En el Cuadro 5, se observó que en la relación etanol: agua, al igual que en el porcentaje de maltodextrina no se presentó diferencia significativa ($P \geq 0.05$), lo cual significa que en la solubilidad las variables utilizadas no generaron un cambio en el porcentaje de solubilidad. En el caso de la interacción entre la relación de solventes y maltodextrina se encontró que podría ser significativa, sin embargo, esta diferencia es poco representativa, ya que el error humano pudo afectar en la probabilidad obtenida.

Cuadro 5

Probabilidad de interacción de los factores de solubilidad.

Variable	Valor -p
Relación etanol: agua	0.9433
Maltodextrina	0.1331
Relación*Maltodextrina	0.0546
C.V. (%)	2.42

Nota. C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje.

Actividad de Agua

De acuerdo con los resultados en el Cuadro 6, se pudo observar que hubo diferencia significativa entre los tratamientos. A partir de estos resultados, se puede inferir que a mayor porcentaje de maltodextrina existe una menor actividad de agua, sin embargo, en este estudio esto sólo aplica en la relación 2:1. Heidebach et al. (2010), en su investigación de la influencia de la microencapsulación en microcápsulas a base de caseína, demostraron que la actividad de agua

después del secado no difirieron entre las muestras libres y encapsuladas en todos los casos evaluados. De acuerdo con Souza et al. (2015), la maltodextrina 10-DE es uno de los materiales más utilizados en el secado por atomización, debido a su baja higroscopicidad. Resultados similares presentaron Tonon et al. (2008), quienes encontraron que a menores valores de higroscopicidad, existe mayor aumento de las concentraciones de maltodextrina. En este estudio se obtuvieron valores con un rango de 0.26 a 0.33, esto se puede comparar con el estudio de (Tolve et al. 2018), donde obtuvieron un rango de 0.24 a 0.44, esto indicó que el polvo obtenido es estable desde el punto de vista microbiológico.

Cuadro 6

Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la actividad de agua promedio de los tratamientos.

Relación Etanol: agua	Maltodextrina (%) (p/v)	a_w Media \pm D.E.
1:1	5	0.30 ± 0.01^b
	10	0.27 ± 0.02^{cb}
2:1	5	0.33 ± 0.03^a 0.26 ± 0.01^c
	10	
C.V. (%)		4.50

Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje., D.E.: Desviación Estándar, a-b-c: Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) en el porcentaje de a_w de los tratamientos.

De acuerdo con el Cuadro 7 y el análisis realizado, se observó que la relación etanol: agua no presentó diferencia significativa ($P \geq 0.05$) para la actividad de agua, lo cual significa que las dos relaciones evaluadas no modificaron este parámetro. En el porcentaje de maltodextrina, al igual que en la interacción entre la relación de solventes y maltodextrina, se observó que hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$), indicando así que el porcentaje de maltodextrina influyó en la reducción de la actividad de agua, de acuerdo con al Cuadro 7.

Cuadro 7

Probabilidad e interacción de los factores de actividad de agua.

Variable	Valor - <i>p</i>
Relación etanol: agua	0.221
Maltodextrina	0.0006
Relación*Maltodextrina	0.0146
C.V. (%)	4.5

Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje.

Tamaño de Partícula

De acuerdo con el Cuadro 8, se observó que no hubo diferencia significativa entre relación etanol: agua y porcentaje de maltodextrina. El tamaño de partícula se observó con un objetivo de 40x. El rango obtenido en este estudio fue de 231.61 – 267.62 μm , comparando con los datos obtenidos por Di Battista et al. (2015). Asimismo, se determinó que a mayor porcentaje de maltodextrina existe un mayor tamaño de partícula. De acuerdo con la literatura, se indica que los tamaños medios de las partículas inferiores a 25 μm favorecen la biodisponibilidad de los fitoesteroles (Di Battista et al. 2015). Indicando así, que las partículas obtenidas en esta investigación no están dentro de los parámetros para la microencapsulación óptima de los fitoesteroles. Cabe recalcar que, en esta investigación, el secado se realizó con una temperatura de entrada de 150 °C y una temperatura de salida de 90 °C. Al comparar estos parámetros con el estudio realizado por Chen et al. (2013), en el cual utilizaron una temperatura de entrada de 170 °C y una temperatura de salida de 70 °C, se pudo determinar que al utilizar estas dos temperaturas (150 – 90 y 170 - 70 °C) se obtienen microcápsulas con los parámetros deseados. Estos parámetros pueden ser la consistencia de la microcápsula.

Así mismo, de acuerdo con Kitabatake y Doi (1982), los materiales a base de proteínas tienen la característica de disminuir la tensión superficial entre el núcleo y el material de recubrimiento y dar lugar a partículas más pequeñas, contribuyendo así a la estabilidad de la emulsión. Según Akdeniz et al. (2018), en las cápsulas con la combinación MD-caseína, el diámetro medio Sauter aumentó con el incremento de la concentración de caseína.

Cuadro 8

Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en el tamaño de partícula promedio de los tratamientos.

Relación etanol: agua	Maltodextrina (%) (p/v)	Tamaño (μm) Media \pm D.E. ^{ns}
1:1	5	231.61 \pm 32.31
	10	257.66 \pm 32.10
2:1	5	248.94 \pm 32.93
	10	267.62 \pm 26.96
C.V. (%)		12.37

Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje. ns: no significativo ($P > 0.05$).

De acuerdo con los resultados presentados en el Cuadro 9 y el análisis realizado, se observó que la relación etanol:agua, el porcentaje de maltodextrina y la interacción entre la relación de solventes y maltodextrina no presentaron diferencia significativa ($P \geq 0.05$), lo cual indica que en el tamaño de partícula las variables utilizadas no alteraron los resultados obtenidos.

Cuadro 9

Probabilidad e interacción de los factores de tamaño de partícula.

Variable	Valor -p
Relación etanol: agua	0.4764
Maltodextrina	0.2595
Relación*Maltodextrina	0.8442
C.V. (%)	12.37

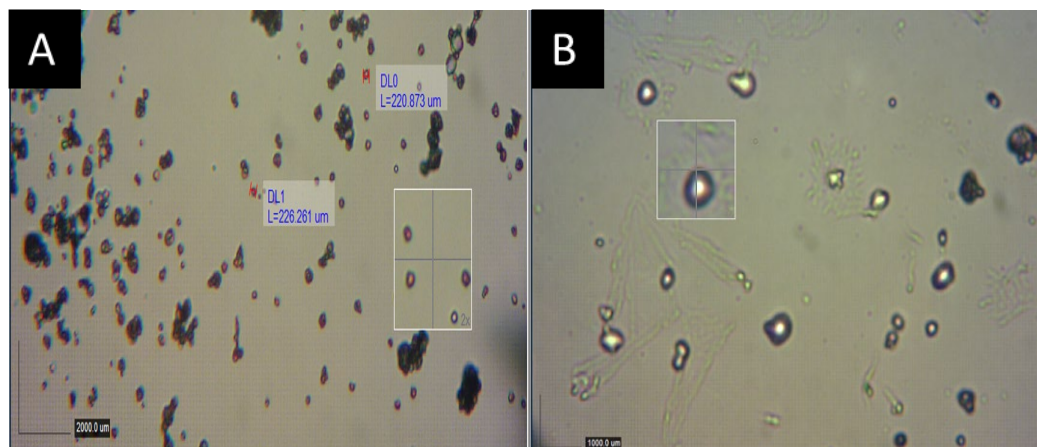
Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje.

En la Figura 1 se pudo observar que las partículas en su mayoría son circulares en el tratamiento con 10% de maltodextrina, esto concuerda con el estudio de Pérez (2020), en donde encontró que las formas de las partículas observadas en su mayoría eran circulares y ovaladas. En cambio, en el tratamiento con 5% de maltodextrina, se pudo observar aglomeración en las partículas comparando con los resultados de Alemán y Bardales (2020), en el cual se encontraron microcápsulas de forma irregular, de igual manera, en el estudio presentado por Cevallos (2019), evidenció la agrupación de las partículas en forma de una matriz conjunta, por ende, las microcápsulas en este estudio pueden ser clasificadas como figuras amorfas. Así mismo, la morfología fue similar en todos

los tratamientos como se pueden observar en el Anexo B, en el cual se encuentran las imágenes de los tratamientos faltantes, encontrando así similitud entre los 4 tratamientos realizados.

Figura 1

Tamaño y morfología de microcápsulas de fitoesteroles.



Nota: A) 5% MD, 1:1 RLC. Donde MD: Maltodextrina y RLC: Relación etanol: agua. B) Tamaño y morfología de microcápsulas de fitoesteroles. 10% MD, 1:1 RLC. Donde MD: Maltodextrina y RLC: Relación etanol: agua

Capacidad de Carga

De acuerdo con los resultados en el Cuadro 10, la capacidad de carga presentó diferencias significativas y se demostró que, a menor porcentaje de maltodextrina, mayor capacidad de carga. Esto se debe a que al colocar más material encapsulante ocupa mayor espacio que la proteína. (Tolve et al. 2019) demostraron que utilizando solo la proteína de suero como encapsulante tuvieron mayor capacidad de carga, estos resultados se pueden comparar con este estudio, ya que en ambos casos se demostró que a menor concentración de sólidos totales y menor viscosidad se obtiene mayor capacidad de carga en las partículas. De igual forma, (Barthold et al. 2019) utilizaron dos porcentajes de maltodextrina como encapsulantes, encontrando que, a menor porcentaje de maltodextrina tuvieron mayor capacidad de carga. De acuerdo con los estudios anteriores, se puede indicar que a mayor cantidad de material encapsulante menor será la cantidad de fitoesteroides por gramo de muestra.

Cuadro 10

Porcentaje de maltodextrina y relación etanol: agua en la capacidad de carga promedio de los tratamientos.

Relación etanol: agua	Maltodextrina (%) (p/v)	Capacidad de carga (mg ft./g de muestra) Media \pm DE
1:1	5	60.00 \pm 4.16 ^a
	10	37.00 \pm 5.13 ^b
2:1	5	63.33 \pm 8.08 ^a
	10	38.33 \pm 4.73 ^b
C.V. (%)		11.4

Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje., a-b: Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) la cantidad de capacidad de carga de los tratamientos.

De acuerdo con el Cuadro 11 y el análisis realizado, se pudo observar que la relación etanol: agua y la interacción entre la relación de solventes y maltodextrina no presentaron diferencia significativa ($P \geq 0.05$), lo cual indica que no tuvieron interacción en los resultados. Sin embargo, en el porcentaje de maltodextrina se observó que hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$), lo cual indica que el porcentaje sí presentó variabilidad en la capacidad de carga.

Cuadro 11

Probabilidad e interacción de los factores de capacidad de carga.

Variable	Valor -p
Relación etanol: agua	0.9618
Maltodextrina	0.0004
Relación*Maltodextrina	0.6690
C.V. (%)	11.4

Nota: C.V. (%) = Coeficiente de Variación en porcentaje

Conclusiones

Se comprobó que con mayor porcentaje de maltodextrina existe una menor actividad de agua.

Asimismo, en todos los tratamientos evaluados se obtuvo una solubilidad mayor al 85%.

Se verificó que a menor porcentaje de maltodextrina (5%), hubo mayor capacidad de carga, sin embargo, la relación etanol:agua no influyó en la capacidad de carga.

El tamaño de partícula no es afectado por el porcentaje de maltodextrina ni por la relación etanol: agua.

El rango de tamaño de partículas se estableció entre los 232 y 268 μm .

Recomendaciones

Incrementar la cantidad de proteína utilizada en el estudio, con el objetivo de aumentar la capacidad de carga durante la encapsulación.

Realizar un proceso de homogenización para reducir el tamaño de partícula.

Referencias

- Akdeniz B, Sumnu G, Sahin S. 2018. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from onion (*Allium cepa*) skin. *Journal of Food Processing and Preservation*. 42(7). doi:10.1111/jfpp.13648.
- Alemán J, Bardales A. dic. 2020. Evaluación de la encapsulación de fitoesteroles de palma africana (*Elaeis guineensis*) utilizando diferentes concentraciones de gelatina, maltodextrina y relaciones de acetona: agua [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado el 9 de jun. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6917>.
- AOAC International. 2019. pH of brewing sugar and syrups. [sin lugar]: [sin editorial].
- Aranceta Bartrina J, Rodríguez Vicente JM. 2011. Guía de buena práctica clínica en alimentos funcionales. Madrid: OMC; IM&C. 106 p. (Atención primaria de calidad). ISBN: 978-84-694-9799-9.
- Barthold S, Hittinger M, Primavessy D, Zapp A, Groß H, Schneider M. 2019. Preparation of maltodextrin nanoparticles and encapsulation of bovine serum albumin - Influence of formulation parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 142:405–410. eng. doi:10.1016/j.ejpb.2019.07.003.
- Castro-Muñoz R, Barragán-Huerta BE, Yáñez-Fernández J. 2015. Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). *LWT - Food Science and Technology*. 62(1):242–248. doi:10.1016/j.lwt.2014.09.042.
- Cevallos J. nov. 2019. Optimización de la encapsulación de fitoesteroles de palma africana (*Elaeis guineensis*), con alginato de sodio como material encapsulante para su adición en yogur natural. [sin lugar]; [consultado el 9 de jun. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6508>.
- Chen H, Wooten H, Thompson L, Pan K. 2019. Nanoparticles of casein micelles for encapsulation of food ingredients. En: *Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes*. [sin lugar]: Elsevier. p. 39–68.

- Chen Q, McGillivray D, Wen J, Zhong F, Quek SY. 2013. Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*. 117(4):505–512. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.011.
- Di Battista CA, Constenla D, Ramírez-Rigo MV, Piña J. 2015. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*. 286:193–201. doi:10.1016/j.powtec.2015.08.016.
- Di Battista CA, Ramírez-Rigo MV, Piña J. 2018. Microencapsulation of Phytosterols by Spray Drying. En: Vol. 56. [sin lugar]: Elsevier. p. 437–468 (Studies in Natural Products Chemistry).
- Esquivel-González BE, Ochoa Martínez LA, Rutiaga-Quiñones OM. 2015. Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*; [consultado el 6 de sep. de 2021]. 16(2):180–192. <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>.
- Głąb TK, Boratyński J. 2017. Potential of Casein as a Carrier for Biologically Active Agents. *Top Curr Chem (Cham)*. 375(4):71. eng. doi:10.1007/s41061-017-0158-z.
- Heidebach T, Först P, Kulozik U. 2010. Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. *Journal of Food Engineering*. 98(3):309–316. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.01.003.
- Hernández-Torres CdJ, Iliina A, Ventura-Sobrevilla JM, Belmares-Cerda RE, Contreras-Esquivel JC, Michelena AG, Martínez-Hernández JL. 2016. La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*; [consultado el 9 de jun. de 2021]. 50(1):12–19. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420003.pdf>.
- Kitabatake N, Doi E. 1982. Surface Tension and Foaming of Protein Solutions. *Journal of Food Science*. 47(4):1218–1221. doi:10.1111/j.1365-2621.1982.tb07651.x.

- López-Jaramillo P, Otero J, Camacho PA, Baldeón M, Fornasini M. 2018. Reevaluating nutrition as a risk factor for cardio-metabolic diseases. *Colombia medica*. 49(2):175–181. eng. doi:10.25100/cm.v49i2.3840.
- Mezdour S, Brulé G, Korolczuk J. 2006. Physicochemical analysis of casein solubility in water-ethanol solutions. *Lait*. 86(6):435–452. doi:10.1051/lait:2006022.
- Muhamad II, Jusoh YMM, Nawi NM, Aziz AA, Padzil AM, Lian HL. 2018. Advanced Natural Food Colorant Encapsulation Methods: Anthocyanin Plant Pigment. En: Grumezescu A, Holban AM, editores. *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*. 1ª ed. [sin lugar]: Elsevier. p. 495–526.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. [actualizado 2021a]. ¿Qué son las enfermedades cardiovasculares? [sin lugar]: Organización Mundial de la Salud; [consultado el 8 de feb. de 2021]. https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2021b. Enfermedades no transmisibles. [sin lugar]: Organización Mundial de la Salud; [actualizado 2021; consultado el 8 de feb. de 2021]. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>.
- Perales-Albert A, Bernácer-Martínez R, García-Gómez J, Álvarez-Dardet C, Ortiz-Moncada R. 2013. Actualizaciones sobre declaraciones nutricionales y de propiedades saludables. *Rev Esp Nutr Hum Diet*. 17(4):179. doi:10.14306/renhyd.17.4.45.
- Pérez A. dic. 2020. Evaluación de la relación etanol:agua y porcentaje de maltodextrina en las propiedades físico-químicas de fitoesteroles de palma (*Elaeis guineensis*) microencapsulados con gelatina [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado el 9 de jun. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6920>.
- Rahman Mazumder MA, Ranganathan TV. 2020. Encapsulation of isoflavone with milk, maltodextrin and gum acacia improves its stability. *Curr Res Food Sci*. 2:77–83. eng. doi:10.1016/j.crfs.2019.12.003.

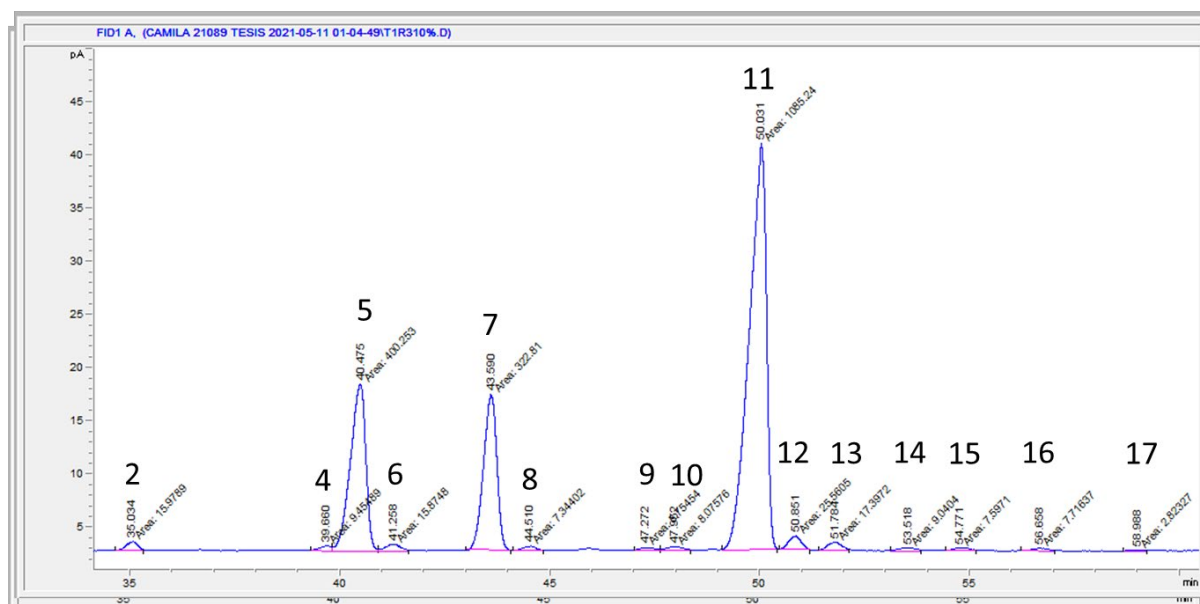
- Roach A, Dunlap J, Harte F. 2009. Association of triclosan to casein proteins through solvent-mediated high-pressure homogenization. *J Food Science*. 74(2):N23-9. eng. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01048.x.
- Romero Palacio J, Vásquez Trespacios EM. 2011. Fitoesteroles y Fitoestanoles: eficaces para disminución de lípidos plasmáticos. *Revista CES Salud Pública*; [consultado el 9 de jun. de 2021]. 3(2):165–173. es. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4163333>.
- Saikia S, Mahnot NK, Mahanta CL. 2015. Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chem*. 171:144–152. eng. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.064.
- Souza VB de, Thomazini M, Balieiro JCdC, Fávoro-Trindade CS. 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*). *Food and Bioproducts Processing*. 93:39–50. doi:10.1016/j.fbp.2013.11.001.
- Tolve R, Condelli N, Can A, Tchienbou-Magaia FL. 2018. Development and Characterization of Phytosterol-Enriched Oil Microcapsules for Foodstuff Application. *Food Bioprocess Technol*. 11(1):152–163. doi:10.1007/s11947-017-1990-4.
- Tolve R, Condelli N, Caruso MC, Genovese F, Di Renzo GC, Mauriello G, Galgano F. 2019. Preparation and characterization of microencapsulated phytosterols for the formulation of functional foods: Scale up from laboratory to semi-technical production. *Food research international*. 116:1274–1281. eng. doi:10.1016/j.foodres.2018.10.016.
- Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*. 88(3):411–418. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.02.029.

Valenzuela B. A, Ronco M. AM. 2004. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la proteccion de la salud cardiovascular. Revista chilena de nutrición. 31(1). doi:10.4067/S0717-75182004031100003.

Anexos

Anexo A

Cromatograma del perfil de fitoesteroles usado para determinar la capacidad de carga.



Nº Pico	FITOESTEROL
2	<i>Cholesterol*</i>
4	<i>Ergosterol*</i>
5	24-Methylene Cholesterol
6	Campesterol
7	Campestanol
8	Stigmasterol
9	Δ 22-Stigmastenol
10	Δ 7-Campesterol
11	Clerosterol + Δ 5,23-Stigmastadienol
12	b-Sitosterol
13	Sitostanol
14	Δ 5-Avenasterol
15	Fucoesterol + Unidentified
16	Δ 7-Stigmastenol
17	Δ 7-Avenasterol

Anexo B

Morfología y tamaño A) 5% MD, RLC 2:1 B) 10% MD, RLC: 2:1

