

Comparación de dos materiales encapsulantes por el método de gelificación iónica normal e inversa

Claudia Sofía Solís Orellana

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Comparación de dos materiales encapsulantes por el método de gelificación iónica normal e inversa

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Claudia Sofía Solís Orellana

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2016

Comparación de dos materiales encapsulantes por el método de gelificación iónica normal e inversa

Claudia Sofía Solís Orellana

Resumen: La encapsulación es una técnica antigua utilizada para la conservación de compuestos bioactivos y alimentos. Ésta permite asegurar características organolépticas, aumentar vida anaquel, disminuyendo daños físicos o químicos de los nutrientes. El objetivo de este estudio fue comparar dos materiales encapsulantes: alginato de sodio y pectina mediante el método de gelificación iónica normal e inversa para conocer las características que presentan estas esferas. Se evaluaron tres variables dependientes: textura, tamaño y densidad de las esferas mediante los dos métodos. Se utilizó un arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$ con dos concentraciones del material encapsulante (1.2 y 2% m/v), dos porcentajes de cloruro de calcio (1.5 y 2% m/v) y tres tiempos de gelificación (1, 3 y 5 minutos). Se realizó un análisis de superficie de respuesta donde se utilizó un modelo de dos y tres niveles combinado para determinar las concentraciones y tiempo de gelificación óptimas para la elaboración de las esferas en los rangos propuestos por el estudio. Como resultado de la investigación se obtuvo que la combinación óptima para las esferas de alginato es de 2% alginato, 2% cloruro de calcio y 5 minutos de gelificación. Ésta se utilizó para realizar una aplicación en esferas con fitoesteroles, consiguiéndose una eficiencia de encapsulación de 70%. Se recomienda realizar recubrimientos a las esferas para reducir la porosidad, además cuantificar los fitoesteroles presentes y así determinar cuántos gramos de estas se necesitan colocar en una matriz alimenticia para cubrir las necesidades diarias.

Palabras clave: Alginato, alimentos, compuestos bioactivos, pectina.

Abstract: The encapsulation is an ancient technique used for the conservation of food and bioactive compounds. This technique allows to assure organoleptic characteristics, increasing the shelf life, and decreasing the physical or chemical damage of nutrients. The objective of this study was to compare two encapsulating materials: sodium alginate and pectin by the normal and inverse ionic gelation method to know the characteristics that the spheres show. Three dependent variables were evaluated using both methods texture, size, and density of the spheres. A factorial arrangement of $2 \times 2 \times 3$ was used with two concentrations of the encapsulant material (1.2 and 2% m/v), two calcium chloride percentages (1.5 and 2% m/v) and three gelation times (1, 3 and 5 minutes). A response surface analysis was done, were a model of two and three levels combined was used to determine the optimum concentrations and gelation times for the elaboration of the spheres in the range that was proposed for this study. As a result of the investigation the optimum combination of variables was for the alginate spheres 2% alginate, 2% calcium chloride and 5 minutes of gelation. This combination was used to develop an application to the spheres with phytosterols, obtaining an encapsulation efficiency of 70%. It's recommended to make a covering to reduce the porosity of the spheres, and to quantify the phytosterols in the spheres to determine how many grams of this spheres are needed to be placed in a food matrix to cover the daily needs.

Key words: Alginate, bioactive compounds, food, pectin

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
4. CONCLUSIONES	29
5. RECOMENDACIONES	30
6. LITERATURA CITADA.....	31

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Codificaciones de las concentraciones y tiempos de gelificación.....	6
2. Concentraciones de pectina, calcio y tiempo de gelificación para la elaboración de los tratamientos para esferas de pectina.....	7
3. Concentraciones de alginato, calcio y tiempo de gelificación para la elaboración de los tratamientos para esferas de alginato.....	7
4. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la textura de las esferas de pectina.....	9
5. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado al tamaño de las esferas de pectina.....	12
6. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la densidad de las esferas de pectina.....	14
7. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la textura de las esferas de alginato.....	17
8. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado al tamaño de las esferas de alginato.....	20
9. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la densidad de las esferas de alginato.....	23
10. Perfil de fitoesteroles en aceite de palma.....	27

Figuras	Página
1. Proceso de elaboración de esferas de pectina.....	4
2. Proceso de elaboración de esferas de alginato.....	4
3. Efectos de la concentración de calcio y pectina sobre la textura de las esferas de pectina.....	10
4. Efectos de la concentración de pectina y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de pectina.....	11
5. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de pectina.....	11
6. Efectos de la concentración de pectina y calcio sobre el tamaño de las esferas de pectina.....	13

Figuras	Página
7. Efectos de la concentración de pectina y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de pectina.....	13
8. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de pectina.....	14
9. Efectos de la concentración de pectina y calcio sobre la densidad de las esferas de pectina.....	15
10. Efectos de la concentración de pectina y tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de pectina	16
11. Efectos de la concentración de calcio y tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de pectina	16
12. Efectos de la concentración de alginato y calcio sobre la textura de las esferas de alginato	18
13. Efectos de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de alginato	18
14. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de alginato	19
15. Efectos de la concentración de alginato y calcio sobre el tamaño de las esferas de alginato	21
16. Efectos de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de alginato	22
17. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de alginato	22
18. Efectos de la concentración de calcio y alginato sobre la densidad de las esferas de alginato	24
19. Efectos de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de alginato	25
20. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de alginato.....	25
21. Valores óptimos de las variables independientes sobre la textura, tamaño y densidad de las esferas de alginato.....	26
22. Cromatograma de esteroles de palma.....	28

1. INTRODUCCIÓN

La encapsulación es una tecnología que ha sido utilizada desde épocas pasadas, pero en los últimos años ha obtenido un gran apogeo en la industria alimentaria al permitir la conservación de diferentes alimentos, mantener cualidades organolépticas, reducir el daño por oxidación, y facilitar el manejo de ciertos compuestos. Entre los productos más utilizados para la encapsulación se encuentran: aceites esenciales, alimentos susceptibles, colorantes, pigmentos (Sandoval *et al.* 2003). Esta técnica permite recubrir materiales sólidos, líquidos o gaseosos (Parra 2011). El proceso consiste en el recubrimiento de una matriz mediante la formación de películas o membranas semipermeables. Para esto se pueden utilizar diferentes biopolímeros (Yua *et al.* 2010).

Los biopolímeros son macromoléculas formadas por varios monómeros. Estos pueden ser sintéticos o naturales. Los biopolímeros utilizados deben cumplir con ciertas características para poder ser utilizados en la encapsulación de alimentos o compuestos bioactivos; entre estas están: ser compatibles, biodegradable, resistencia mecánica, y baja toxicidad (Neira *et al.* 2013).

Existen varios métodos de encapsulación, físicos y químicos. En los métodos físicos se encuentran spray dryer, cool dryer, extrusión y co- cristalización. En los métodos químicos se pueden mencionar la gelificación iónica, coacervación compleja, liposomas y complejos de inclusión (Villena *et al.* 2009).

La gelificación iónica es de fácil replicación en laboratorio, permite encapsular compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos (Fuchs *et al.* 2006). Este método permite elaborar capsulas de 1 mm o más, dependiendo del elemento que se utilice para el goteo y la altura (Cuatzo 2010). Existen dos tipos de gelificación, la normal y la inversa. Para obtener una cápsula donde el material activo se combine con el material a encapsular y quede gelificado se usa la gelificación normal, (Chan *et al.* 2006). Para obtener una cápsula con centro líquido se utiliza la gelificación inversa en la cual el material activo no se mezcla con el material encapsulante (Leick *et al.* 2010).

En el proceso de gelificación, existen varios materiales que pueden ser utilizados como recubrimiento como la pectina, el alginato, y quitosano. Uno de los más utilizados es el alginato debido a que es de fácil manejo, no toxico y bajo costo. En este trabajo se compararon prototipos utilizando pectina y alginato. La pectina es un polímero hidrocoloide obtenido de las cáscaras de las frutas. Está formada por unidades de Ácido D-Galacturónico parcialmente esterificado con metanol, unidos por enlaces glucosídicos α - (1→4) entre los cuales se intercalan restos de ramnosa con ramificaciones de azúcares neutros como galactosa, arabinosa y xilosa (Contreras 2003).

Las pectinas se pueden clasificar de acuerdo a su grado de metilación en pectinas de bajo o alto metóxilo según el número de moles de metanol por 100 moles de ácido galacturónico (Ochoa 2013). Las pectinas de alto metóxilo son aquellas en que más del 50% de los grupos carboxilos están esterificados con metanol, Las pectinas de bajo metóxilo contienen menos de 50% de grupos metóxilos. Las pectinas de bajo metóxilo son las más utilizadas al momento de realizar el proceso de gelificación iónica. Mientras más bajo el grado de metoxilación de la pectina, esto conlleva a una formación de geles más compactos y la presencia de calcio es necesaria (Alves 2004). Los iones divalentes del calcio se combinan con los grupos carboxilos de las cadenas de pectina, las cuales se encajan en las estructuras del ácido galacturónico y forma la estructura tridimensional llamada caja de huevos (Braccini y Pérez 2001). La amidación de las pectinas con amonía permite la creación de geles aún más resistentes debido a las ligaciones de hidrogeno con los grupos amida (Alves 2004).

El alginato es un copolímero que presenta una estructura lineal y de alta masa molar, este presenta regiones flexibles e inflexibles. Esta estructura está formada por dos ácidos urónicos: Acido β -D manurónico y ácido α -L gulurónico. Debido a la presencia del ácido galurónico se puede obtener un gel más rígido, mientras que a mayor presencia de ácido manurónico se obtiene un gel más frágil (Tello 2014). El gel se forma cuando los bloques de ácido galurónico se unen con los cationes de calcio mediante interacciones iónicas, este modelo al igual que en la gelificación de la pectina es llamado modelo de caja de huevos (Simpson *et al.* 2004). La desventaja del uso de estos polímeros es que crean matrices muy porosas que podrían inducir la pérdida de material durante la preparación o manipulación (George *et al.* 2006). Estos dos polímeros presentan características semejantes que permiten la elaboración de cápsulas de alimentos o compuestos Por lo que en este estudio se medirá cuál polímero es más eficiente al momento de elaborar cápsulas para su futura aplicación en alimentos.

Los fitoesteroles son esteroides vegetales, presentes en una gran variedad de plantas; los más abundantes son campesterol, estigmasterol y β - sitosterol (Muñoz *et al.* 2011). Los esteroides tienen un efecto positivo en la salud debido a que son agentes que ayudan en la disminución del colesterol plasmático. Se encuentran en bajas concentraciones en los alimentos, lo que impide que la dieta diaria sea una buena fuente de estos compuestos (Romero y Vásquez 2012). El consumo diario de mínimo 1.3 g de esteroides ayuda a reducir el colesterol en la sangre reduciendo de esta manera enfermedades cardiovasculares (FDA 2015). Debido a esto se busca una forma de encapsulación que ayude a proteger los esteroides y que puedan ser agregados a una matriz alimenticia brindando la cantidad necesaria de esteroides diario.

En esta investigación se establecieron los siguientes objetivos:

- Determinar textura, densidad y tamaño de las esferas elaboradas por los dos métodos de gelificación iónica.
- Determinar la combinación óptima de concentraciones de materiales y tiempo de gelificación.
- Determinar las diferencias entre las esferas hechas por gelificación iónica normal e inversa.
- Realizar una aplicación con el tratamiento óptimo encapsulando fitoesteroides.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. La investigación se realizó en el Laboratorio de Alimentos del Centro de Ciencia de Alimentos de la Universidad Estadual de Londrina en la ciudad de Londrina estado de Paraná, Brasil. Otros análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, ubicada en San Antonio de Oriente, Honduras.

Solución de sacarosa. Se pesaron en un beaker 55 g de sacarosa y se disolvieron en 45 g de agua sobre agitación hasta que no quedó ningún gránulo. Con estas proporciones se obtuvo una solución a 55° Brix. Una vez obtenida la solución se agregaron 0.15 g de colorante alimenticio naranja.

Elaboración de solución de pectina. Se utilizó pectina de bajo metóxilo amidada. Para preparar estas soluciones se utilizaron dos concentraciones 1.2 y 2% m/v. Se prepararon 400 ml de cada solución por lo que se pesaron 4.8 y 8 g de pectina y se disolvieron en beakers con 400 ml de agua para obtener las soluciones a 1.2 y 2% respectivamente. El procedimiento fue verter la pectina en los beakers de manera pausada para evitar la formación de grumos. Se dejó el tiempo necesario sobre agitación hasta obtener una solución homogénea. Todo el procedimiento se realizó a temperatura ambiente. Debido a que la pectina mejora su poder gelificante con cambios de temperatura, se llevó a refrigeración durante toda la noche.

Elaboración de solución de alginato. Para la elaboración de la solución de alginato se llevó a cabo el mismo procedimiento arriba mencionado, pero con mayor velocidad de agitación ya que este polímero presenta mucha más viscosidad que la pectina, pero aun así la dilución se realizó a temperatura ambiente. También se llevó a refrigeración durante toda la noche.

Solución de cloruro de calcio. Para la preparación de esta solución se pesaron 4.5 y 6 g de cloruro de calcio y se disolvieron en beakers con 300 ml de agua sobre agitación para obtener soluciones al 1.5 y 2% m/v respectivamente. Para las esferas de alginato se necesitó más cloruro de calcio por lo que se prepararon 500 ml de solución a cada concentración por lo que se usaron 7.5 y 10 g respectivamente.

Elaboración de las esferas de pectina. Para la elaboración de las cápsulas de pectina, se llevó a cabo el protocolo propuesto por (Henning *et al.* 2012), usando una gelificación inversa como se muestra en la figura 1. Una vez obtenidas las diferentes soluciones se midieron 15 ml de solución de sacarosa y 10 ml de cloruro de calcio y se vertieron en un beaker, se mantuvieron sobre agitación hasta obtener una solución homogénea. En un beaker de 50 ml se colocaron 40 ml de pectina sobre agitación. Esta se encontraba a 15 °C. La velocidad de agitación utilizada fue de 250 RPM. Se procedió a llenar una pipeta Pasteur con la solución de sacarosa y cloruro de calcio y se goteó en la solución de pectina a 3 cm de distancia y de manera constante. Las cápsulas fueron retiradas de la solución de pectina y fueron pasadas a un colador y lavadas con abundante agua para eliminar el exceso de pectina en la parte externa de las cápsulas, para evitar que se pegaran entre sí. Se guardaron y se procedieron a realizar los análisis correspondientes.

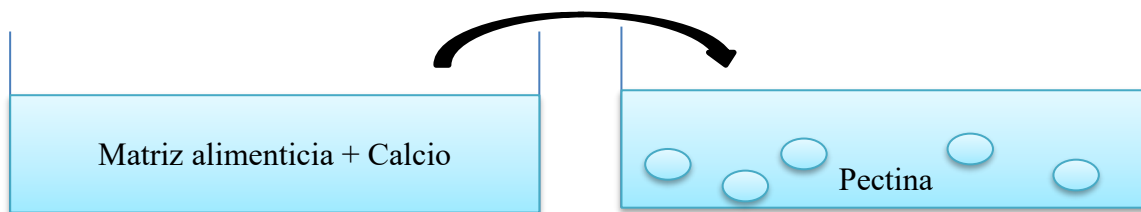


Figura 1. Proceso de elaboración de esferas de pectina.

Elaboración de esferas de alginato. Para la elaboración de las esferas con alginato se utilizó el protocolo utilizado por Pasin (2012) en este se dio una gelificación iónica externa como se muestra en la figura 2. Se midieron 100 ml de alginato a las distintas concentraciones (1.5 y 2%) y fueron agregados 3 g de solución de sacarosa, se mezclaron en un beaker y se pusieron sobre agitación hasta obtener una solución homogénea. Luego esta mezcla fue goteada en un beaker que contenía 500 ml de solución de calcio a la misma distancia y velocidad. Las cápsulas se dejaron sobre agitación de acuerdo a los tiempos de cada tratamiento, luego fueron retiradas de la solución de calcio y lavadas con abundante agua para retirar el exceso de calcio. Fueron guardadas para realizar los análisis correspondientes posteriormente.

La velocidad y distancia son dos factores muy importantes ya que de estos depende la forma y tamaño de las cápsulas que se obtendrán. A mayor altura de goteo de la solución, la forma de las esferas es menos homogénea y con tendencia a formar un rabo.

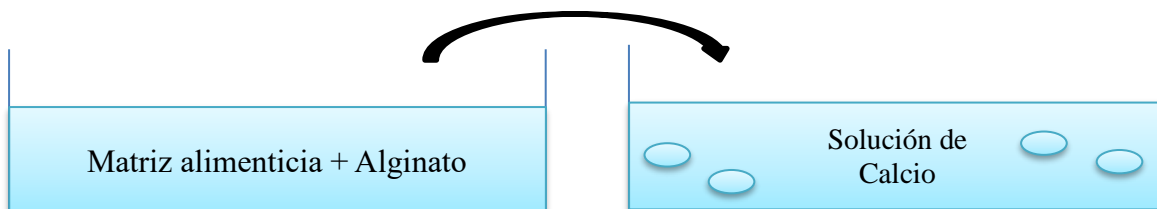


Figura 2. Proceso de elaboración de esferas de alginato.

Elaboración de esferas con fitoesteroles. Para realizar la aplicación se utilizaron fitoesteroles, se siguió la metodología de Fujiwara (2012). Se prepararon las soluciones de alginato y cloruro de calcio al 2% m/v cada una. En un beaker se pesaron 20 g de aceite de canola y a este se le agregaron 0.2 g de fitoesteroles proveídos por BIOSA. Se colocaron sobre agitación a 60 °C hasta que se obtuvo una mezcla homogénea. Una vez obtenida la mezcla se agregaron en 80 g de solución de alginato y se colocó nuevamente sobre agitación hasta obtener una mezcla homogénea. Luego esta solución fue goteada en 100 ml de cloruro de calcio, a una distancia de 5 cm y goteo constante para obtener esferas con igual tamaño y forma. Una vez obtenidas las esferas se colocaron en una malla para retirar el exceso de agua. Se obtuvieron 60 g de cápsulas húmedas las cuales se secaron en horno convectivo a 55 °C hasta obtener un peso constante. El tiempo de secado fue de dos horas y se obtuvieron 20 g de cápsulas.

Determinación de aceite encapsulado Se disolvieron 20 g de cápsulas en 80 ml de citrato de sodio al 3% sobre agitación durante dos horas. Se procedió a colocar en un beaker la solución obtenida y se realizó la separación para cuantificar la cantidad de aceite presente en las cápsulas, utilizando el método de Bligh e Dyer el cual fue probado por Brum *et al.* (2009) y comprobaron que fue el más adecuado ya que reduce la oxidación del aceite.

En un beaker fueron agregados 100 ml de CHCl₃ y 200 ml de metanol, se agitó y se dejó en reposo durante 12 horas. La solución fue colocada en un embudo de separación y se agregaron 100 ml más de CHCl₃, se agitó y se dejó en reposo hasta lograr una completa separación de fases. Luego las dos fases CHCl₃ y aceite fueron separadas y filtradas. En un embudo se colocó Na₂SO₄ y fibra de vidrio como método de filtrado. En un beaker previamente tarado se dejó caer la parte de la solución que contenía aceite, la que estaba en la parte baja del embudo de separación. Se dejó a temperatura ambiente hasta una completa evaporación del solvente. Se determinó la eficiencia de encapsulación mediante la ecuación 1:

$$EE (\%) = \frac{\text{Cantidad de aceite encapsulado (g)}}{\text{Cantidad inicial de aceite (g)}} \times 100 \quad [1]$$

Diseño experimental y análisis estadístico. Las variables dependientes a estudiar fueron: textura, tamaño y densidad de esferas. Las variables independientes: concentración de material encapsulante, concentración de calcio y tiempo de gelificación. Se utilizó un diseño factorial completo de 2×2×3. Se utilizó el programa STATISTICA 7[®], para analizar los datos obtenidos mediante superficie de respuesta para un diseño combinado de dos y tres niveles. Donde se tuvieron dos niveles o concentraciones de pectina y cloruro de calcio y tres niveles para el tiempo. Los niveles fueron codificados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Codificaciones de las concentraciones y tiempos de gelificación.

Variables independientes	-1	0	1
X ₁ : Pectina/ Alginato (%m/v)	1.2		2
X ₂ : Cloruro de Calcio (%m/v)	1.5		2
X ₃ : Tiempo (minutos)	1	3	5

Se analizaron dos vías de interacciones, lineal y cuadrática. Para conocer cómo se comportan las variables independientemente y cuando interactúan entre ellas. A través de un análisis de regresión lineal se obtuvo una ecuación para cada variable dependiente; ésta se utiliza para conocer o predecir el comportamiento de las variables dependientes.

$$Y_i = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_{11}X_3^2 + B_{12}X_1X_2 + B_{13}X_1X_3 + B_{14}X_2X_3 + X_1X_3^2 + X_2X_3^2 \quad [2]$$

Donde:

Y_i: Función respuesta.

B₀: Coeficiente relativo a la interpretación del plan con la respuesta en el eje.

X₁, X₂, X₃: Valores de las variables independientes.

B₁, B₂ B₃: Coeficientes lineales estimados por el mínimo cuadrado.

B₁₁: Coeficiente de la variable cuadrática.

B₁₂ B₁₃ B₁₄: Coeficiente de interacción entre las variables independientes.

ε: Error experimental.

Los modelos obtenidos se clasificaron como tendencioso o predictivo tomando en cuenta el valor de R², este determina qué tan ajustados están los datos al modelo. Con un R² mayor a 0.60 se clasificó el modelo como predictivo esto quiere decir que los resultados obtenidos pueden predecir el comportamiento de la variable y menor a 0.60 como tendencioso. En las figuras se utilizaron los valores codificados.

En los cuadros 2 y 3 se detallan los tratamientos utilizados para la elaboración de las esferas de pectina y alginato.

Cuadro 2. Concentraciones de pectina, calcio y tiempo de gelificación para la elaboración de los tratamientos para esferas de pectina

Tratamientos	Concentración Pectina (%)	Concentración Calcio (%)	Tiempo (min)
T1	1.2	2	1
	1.2	2	3
	1.2	2	5
T2	1.2	1.5	1
	1.2	1.5	3
	1.2	1.5	5
T3	2	1.5	1
	2	1.5	3
	2	1.5	5
T4	2	2	1
	2	2	3
	2	2	5

Cuadro 3. Concentraciones de alginato, calcio y tiempo de gelificación para la elaboración de los tratamientos para esferas de alginato.

Tratamientos	Concentración Alginato (%)	Concentración Calcio (%)	Tiempo (min)
T1	1.2	2	1
	1.2	2	3
	1.2	2	5
T2	1.2	1.5	1
	1.2	1.5	3
	1.2	1.5	5
T3	2	1.5	1
	2	1.5	3
	2	1.5	5
T4	2	2	1
	2	2	3
	2	2	5

Análisis de Textura. La textura de las esferas es uno de los aspectos más importantes ya que con esto se puede saber la capacidad de resistencia del gel. Para llevar a cabo este análisis se utilizó el Texturómetro Ta XT plus. El análisis se realizó a 20 esferas de cada tratamiento para determinar la fuerza en Newton que se necesitaba para romperlas. Se realizó un análisis de compresión aplicando los siguientes parámetros:

- Velocidad: 2 mm/s

- Distancia: 1 mm esto debido al diámetro que poseían las esferas (Rivera 2013).
- Sonda cilíndrica de acrílico TA 3/100.

Análisis de Tamaño. El tamaño de las esferas puede ser variable dependiendo la matriz alimenticia donde quiere ser utilizada. Se analizó el tamaño de las esferas obtenidas mediante los dos procesos de gelificación iónica. Para lo que se utilizó un pie de rey digital. Se realizó la medición a tres esferas por tratamiento elegidas al azar y tres repeticiones para obtener una media significativa. El diámetro fue determinado en milímetros.

Análisis de Densidad. Se utilizó el método de desplazamiento volumétrico, aplicando el principio de Arquímedes el cual dice que todo fluido experimenta un empuje vertical hacia arriba igual al del peso desalojado. Para lo cual se pesaron cinco esferas en balanza analítica, y se sumergieron en una probeta que contenía un volumen de agua conocido en este caso 20 ml. Se realizó la lectura del volumen final y el volumen del sólido representó la diferencia entre el volumen inicial y final. La densidad se calculó mediante la ecuación 3. Las unidades fueron dadas en g/ml.

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Masa de las cápsulas (g)}}{\text{Volumen de agua desplazado (ml)}} \quad [3]$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de textura en esferas de pectina. Se cuantificó la fuerza de compresión que se necesitaba para romper las esferas. En el cuadro 4 se pueden observar los coeficientes de regresión, así como las probabilidades aceptándose una significancia del 5%. El R² en este experimento fue de 0.40, por lo que se clasificó este modelo como tendencioso.

Cuadro 4. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la textura de las esferas de pectina

Variables	Coefficientes de regresión	Probabilidad
Intercepto	0.905	
X ₁	0.120	0.001*
X ₂	0.053	0.001*
X ₃	0.062	0.001*
X ₃ ²	0.027	0.045*
X ₁ X ₂	0.078	0.001*
X ₁ X ₃	-0.029	0.056
X ₁ X ₃ ²	-0.014	0.277
X ₂ X ₃	0.033	0.035*
X ₂ X ₃ ²	-0.015	0.252
R ²		0.41

X₁= Concentración de pectina(%m/v); X₂= Concentración de calcio(%m/v); X₃= Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a P <0.05

Con los valores obtenidos en el cuadro 4 se elaboró la ecuación que demuestra el comportamiento de las variables sobre la textura de las esferas.

Textura de esferas de pectina=

$$0.90 + 0.12 X_1 + 0.053 X_2 + 0.06 X_3 + 0.02 X_3^2 + 0.07 X_1 X_2 + 0.03 X_2 X_3 + \varepsilon \quad [4]$$

Se evaluaron interacciones entre factores en la variable dependiente de textura con un $P < 0.05$. Las variables influyentes en la textura de las esferas fueron la concentración de pectina, calcio, el tiempo de gelificación, el efecto cuadrático del tiempo, y las interacciones pectina- calcio y calcio- tiempo. La interacción pectina- tiempo no fue influyente.

Según lo obtenido en la figura 3, se determinó que la mejor textura se obtuvo al combinar las mayores concentraciones de pectina y cloruro de calcio, y se obtuvieron valores de compresión de hasta 1.2 N. A mayor concentración de calcio se crean geles con mayor elasticidad por lo que se requiere una mayor fuerza de compresión siempre y cuando existe una concentración considerable de pectina (Urias *et al.* 2009). A mayor concentración del material encapsulante se obtiene una textura más fuerte (Barros 2012); por lo que la menor fuerza de compresión necesaria para la ruptura de las esferas se obtuvo cuando se utilizaron las menores concentraciones de pectina.

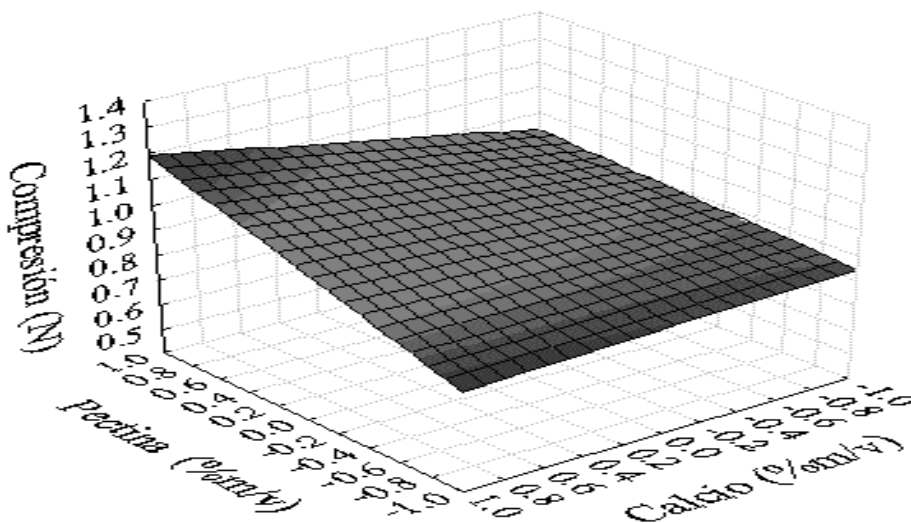


Figura 3. Efectos de la concentración de calcio y pectina sobre la textura de las esferas pectina.

En las figuras 4 y 5 se observa que para los tiempos de gelificación de tres y cinco minutos no hubo diferencias en la fuerza de compresión necesaria para romper las esferas, pero después de los 5 minutos se observó que el efecto cuadrático del tiempo tuvo significancia, por lo que es probable que exista una reducción total de la fuerza de compresión necesaria después de un tiempo. Esto se debe a un reordenamiento de la membrana que provoca el debilitamiento de la misma (Serp *et al.* 2000). El valor máximo de fuerza de compresión necesaria fue de 1.26 N con el tratamiento de mayores concentraciones y una mínima de 0.625 N con una baja concentración de pectina y alta concentración de calcio.

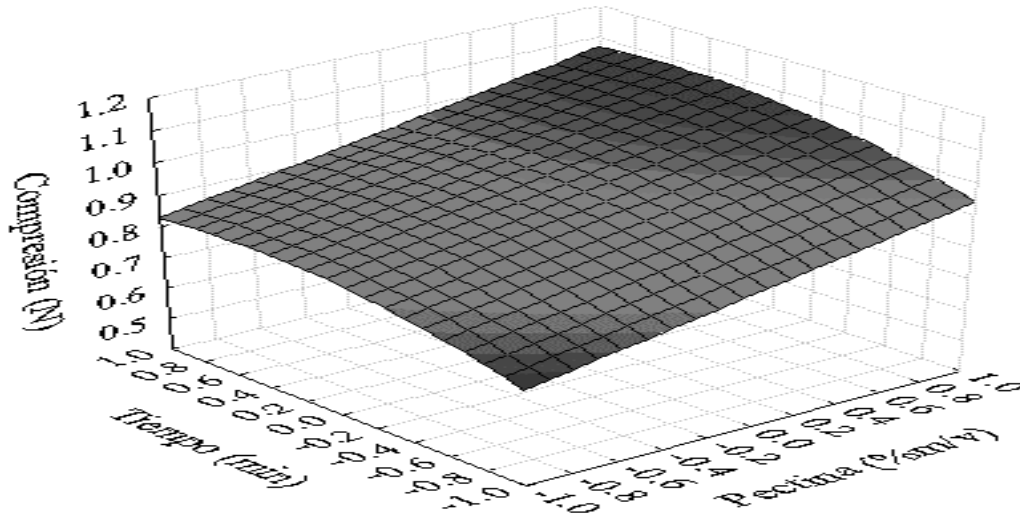


Figura 4. Efectos de la concentración de pectina y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de pectina

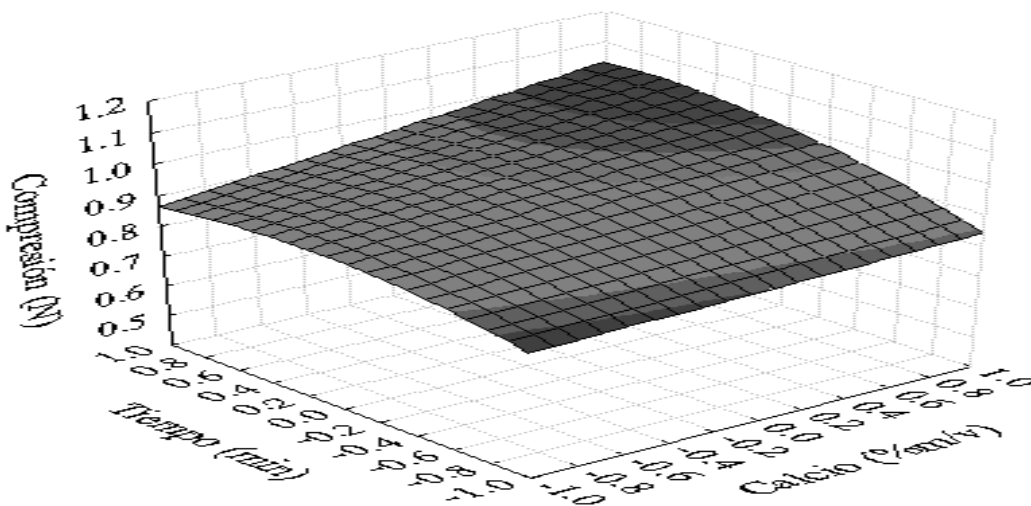


Figura 5. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de pectina

Análisis de tamaño de las esferas de pectina. El tamaño de las esferas depende de la utilización a la cual se destine. Este va ligado directamente con el instrumento que se utilice para gotear las soluciones. En el cuadro 5 se observan las variables que tuvieron un efecto significativo en el tamaño de las esferas con un $P < 0.05$ y obtuvo un R^2 de 0.54 por lo que se clasificó el modelo como tendencioso. Las variables significativas para esta variable fueron la concentración de pectina, calcio, tiempo de gelificación, el efecto cuadrático del tiempo, y las interacciones pectina – calcio y pectina – tiempo.

Cuadro 5. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado al tamaño de las esferas de pectina

Variab les	Coeficientes de regresión	Probabilidad
Intercepto	5.046	
X ₁	0.082	0.005*
X ₂	0.016	0.576*
X ₃	0.337	0.001*
X ₃ ²	0.100	0.001*
X ₁ X ₂	0.066	0.024*
X ₁ X ₃	-0.085	0.019*
X ₁ X ₃ ²	-0.044	0.149
X ₂ X ₃	-0.024	0.492
X ₂ X ₃ ²	-0.028	0.348
R ²		0.54

X₁= Concentración de pectina(% m/v); X₂= Concentración de calcio(% m/v); X₃= Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a P <0.05

Con los valores obtenidos en el cuadro 5 se elaboró la ecuación que demuestra el comportamiento de las variables sobre la densidad de las esferas.

Tamaño de esferas de pectina =

$$5.04+0.08X_1+0.33X_3+0.10X_3^2+0.06X_1X_2-0.08X_1X_3+\varepsilon \quad [5]$$

En la interacción pectina con calcio se observó que se obtuvieron tamaños de esferas mayores a 5.2 mm de diámetro utilizando cualquiera de las dos concentraciones del polisacárido y cloruro de calcio (Figura 6).

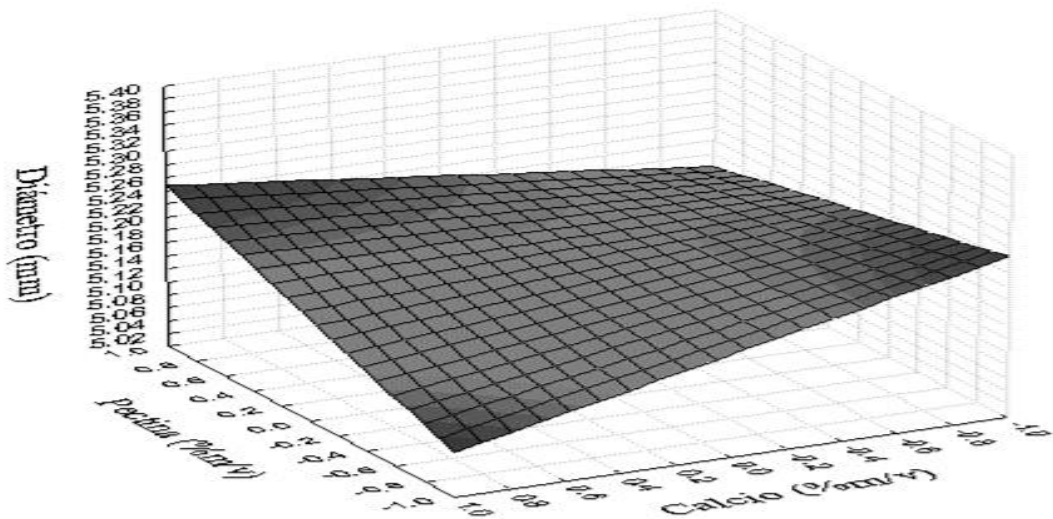


Figura 6. Efectos de la concentración de pectina y calcio sobre el tamaño de las esferas de pectina.

En las figuras 7 y 8 se observó que el efecto cuadrático del tiempo tuvo significancia en esta variable por lo que después de los 5 minutos el diámetro de las esferas fue afectado y comenzó a reducirse. En otro estudio ocurrió el mismo comportamiento y afirmaron que obtuvieron esferas más pequeñas después de 5 minutos, esto debido a una saturación de calcio que hizo que existiera un reordenamiento en la estructura y por ende una pérdida de material (Serp *et al.* 2000).

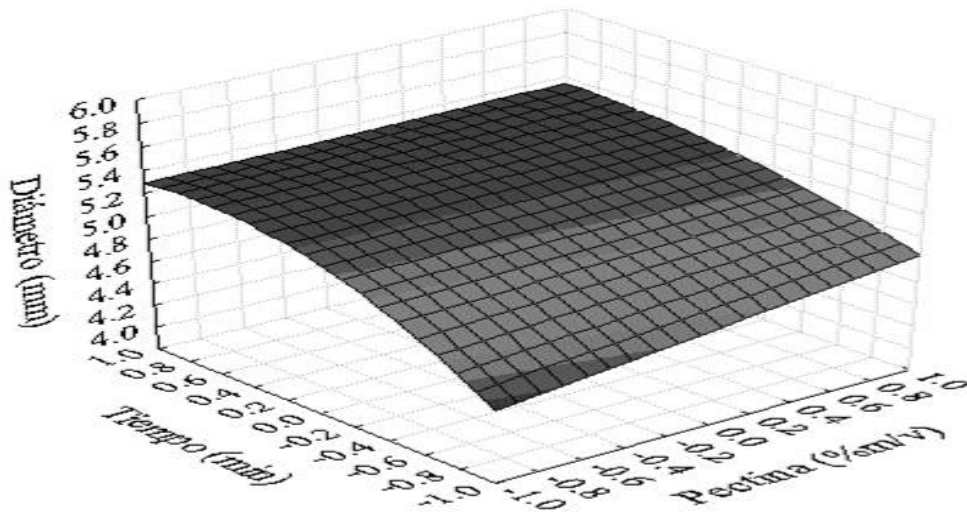


Figura 7. Efectos de la concentración de pectina y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de pectina.

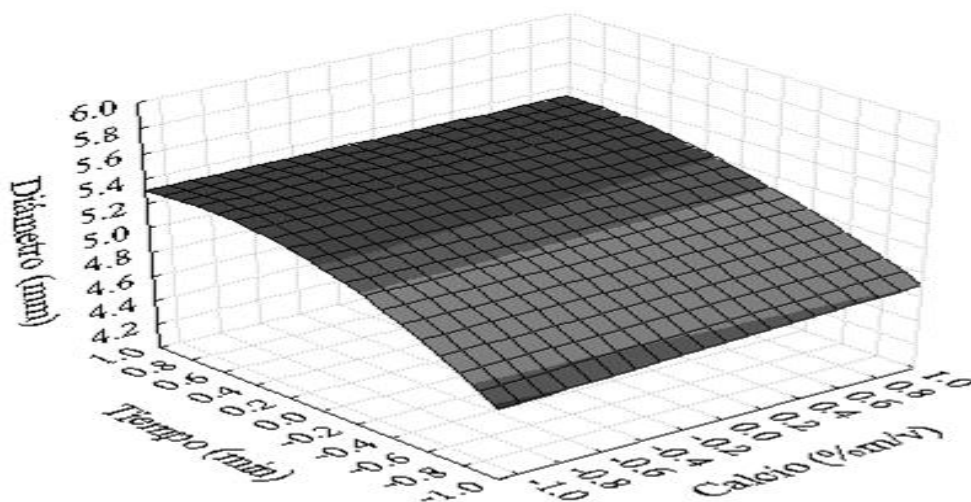


Figura 8. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de pectina.

Para esta variable se obtuvieron valores máximos de 5.46 mm y mínimos de 4.39 mm de diámetro, asemejándose a los resultados obtenidos por Rivera (2013) con diámetros de 4.37 a 4.67 mm en esferas hechas a base de quitosano.

Análisis de densidad de las esferas de pectina. Las variables independientes que tuvieron un efecto significativo en la densidad de las esferas con un $p < 0.05$, fueron concentración de pectina, tiempo, la interacción pectina - calcio, pectina - tiempo, pectina - calcio y el efecto cuadrático del tiempo (Cuadro 6). Se obtuvo un R^2 de 0.78 y se clasificó el modelo como predictivo.

Cuadro 6. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la densidad de las esferas de pectina

Variables	Coefficientes de regresión	Probabilidad
X ₁	0.082	0.005*
X ₂	0.016	0.576
X ₃	0.337	0.001*
X ₃ ²	0.100	0.001*
X ₁ X ₂	0.066	0.024*
X ₁ X ₃	-0.085	0.019*
X ₁ X ₃ ²	-0.044	0.149
X ₂ X ₃	-0.024	0.492
X ₂ X ₃ ²	-0.028	0.348
R ²		0.78

X₁= Concentración de pectina(%m/v); X₂= Concentración de calcio(%m/v); X₃= Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a P <0.05

Con los valores obtenidos en el cuadro 6 se elaboró la ecuación que demuestra el comportamiento de las variables sobre la densidad de las esferas.

Densidad esferas de pectina =

$$1.10 - 0.11X_1 - 0.09X_3 + 0.06X_1X_2 + 0.05X_1X_3 - 0.08X_1X_3^2 + 0.07X_2X_3^2 + \varepsilon \quad [6]$$

De acuerdo a la figura 9, la mayor densidad se obtuvo cuando se utilizó la menor concentración de pectina (1.2%) y la mayor concentración de la fuente de calcio. Las densidades más bajas se obtuvieron al combinar 2% de pectina y 1.5% de calcio.

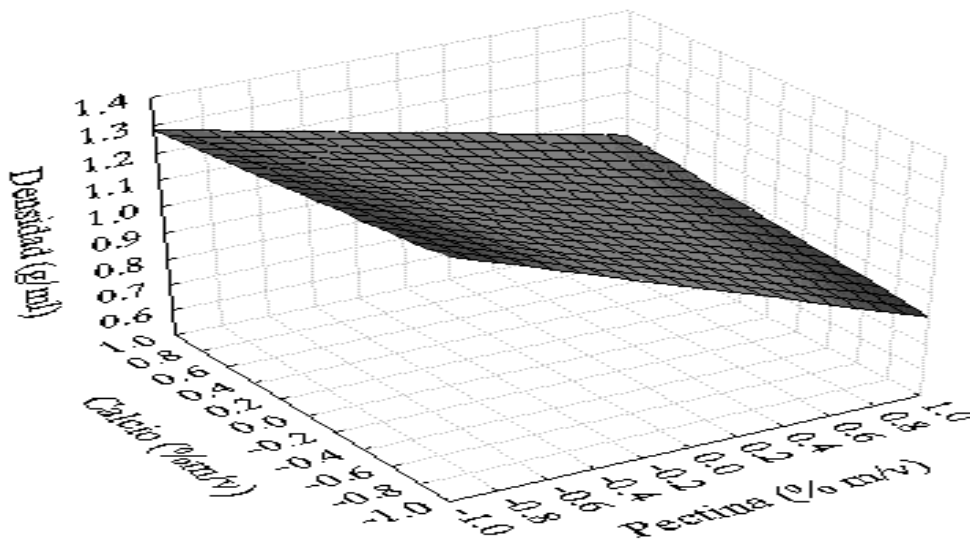


Figura 9. Efectos de la concentración pectina y calcio sobre la densidad de las esferas de pectina.

En la figura 10 se puede apreciar que el tiempo tuvo un efecto cuadrático ya que después de los 3 minutos ocurrió una reducción en la densidad de las esferas, esto puede atribuirse como a un reordenamiento de la membrana, lo que ocasionó una disminución de tamaño y por ende reducción de la densidad (Serp *et al.* 2000). Esto también apoya la teoría que estos materiales tienen una alta porosidad por lo que entre más tiempo, más paso de material y por lo tanto disminución de densidad (George 2006).

Se obtuvieron valores máximos de 1.42 g/ml y mínimos de 0.690 g/ml. La media obtenida por Rivera (2013) utilizando 1.5% de calcio fue de 0.88 g/ml por lo que los datos obtenidos están dentro de ese rango.

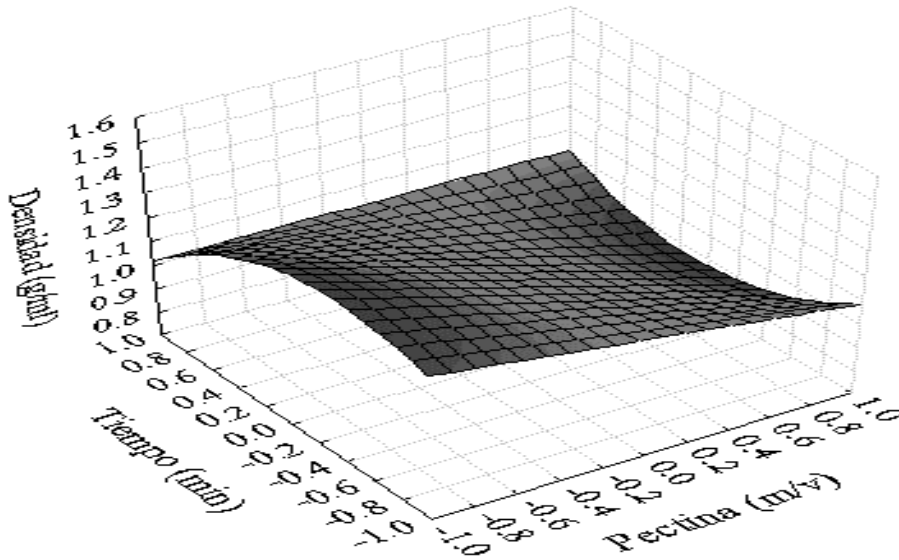


Figura 10. Efectos de la concentración de pectina y tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de pectina.

En la figura 11 se puede observar que las mayores densidades se obtuvieron al menor tiempo de gelificación, esto porque no ha existido suficiente exposición a la solución de calcio por lo que la densidad no se vio afectada, según Serp *et al.* (2012) a mayor tiempo de gelificación, la membrana tiene un reordenamiento y existe pérdida de material.

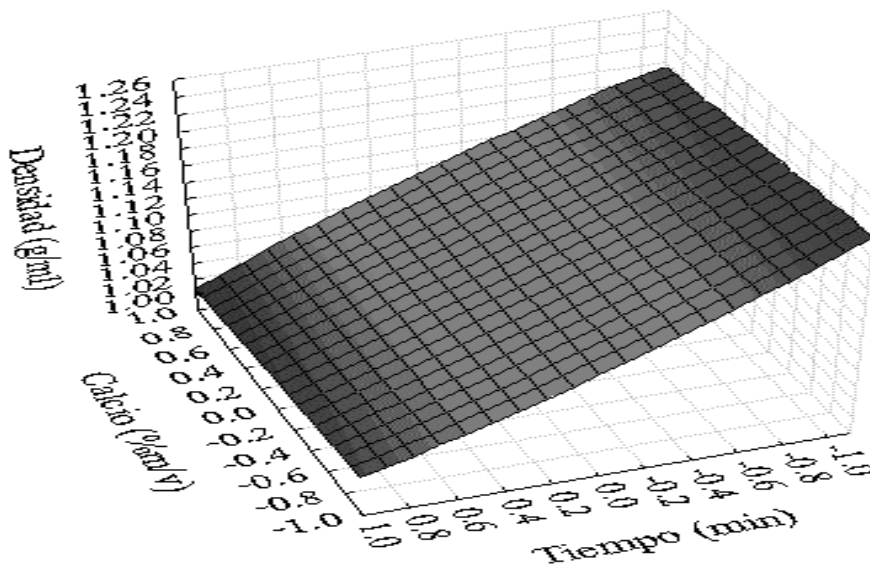


Figura 11. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de pectina

Análisis de textura en esferas de alginato. Para la medición de textura se determinaron las variables que afectaron la fuerza de compresión necesaria para romper las esferas de manera significativa con un $p < 0.05$, las cuales fueron la concentración de alginato, calcio, el tiempo de gelificación, el efecto cuadrático del tiempo y las interacciones alginato - calcio, alginato - tiempo, calcio - tiempo y calcio (Cuadro 7). Se obtuvo un R^2 de 0.68 y se clasificó el modelo como predictivo.

Cuadro 7. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la textura de las esferas de alginato.

Variables	Coeficientes de regresión	Probabilidad
Intercepto	0.979	-
X_1	0.251	0.001*
X_2	0.113	0.001*
X_3	0.068	0.001*
X_3^2	-0.048	0.004*
X_1X_2	0.123	0.001*
X_1X_3	-0.009	0.001*
$X_1X_3^2$	-0.017	0.295
X_2X_3	-0.161	0.001*
$X_2X_3^2$	-0.088	0.001*
R^2		0.68

X_1 = Concentración de alginato(%m/v); X_2 = Concentración de calcio(%m/v); X_3 = Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a $P < 0.05$

Con los valores obtenidos en el cuadro 7 se elaboró la ecuación que demuestra el comportamiento de las variables sobre la textura de las esferas.

Textura esferas de alginato=

$$0.97 + 0.25X_1 + 0.11X_2 + 0.06X_3 - 0.04X_3^2 + 0.12X_1X_2 + 0.09X_1X_3 - 0.16X_2X_3 + 0.08X_2X_3^2 + \varepsilon \quad [7]$$

En la figura 12 se observa que con mayores concentraciones de ambas soluciones se logró alcanzar la mayor fuerza de compresión apoyando una vez más lo dicho por Urias *et al.* (2009) y Barros (2012) quienes afirmaron que a mayor cantidad de calcio y polisacárido respectivamente las fuerzas de compresión que se necesitan son más altas.

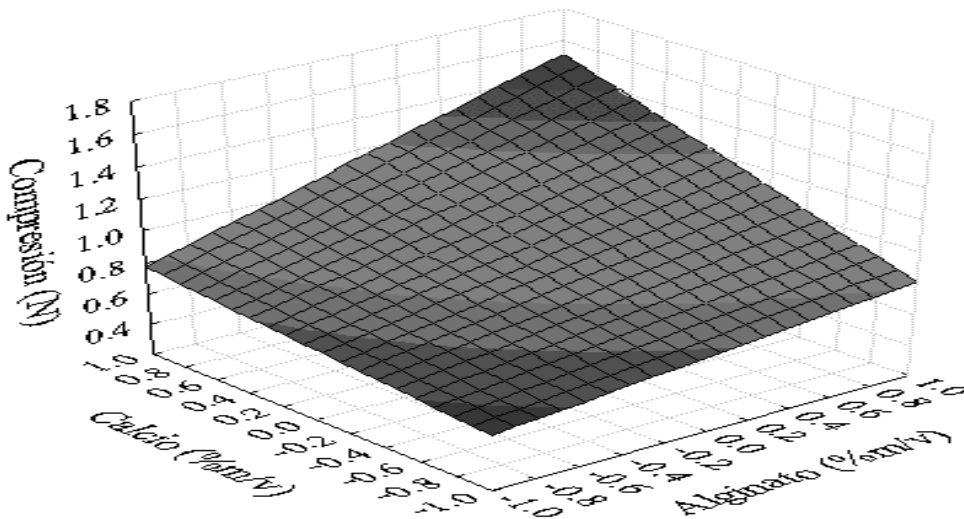


Figura 12. Efecto de la concentración de alginato y calcio sobre la textura de las esferas de pectina.

En la relación alginato - tiempo se aprecia que se obtuvieron las mayores fuerzas de compresión con mayor cantidad del polisacárido y mayor tiempo de gelificación como se observa en la figura 13. En la figura 14 se observa que se obtuvieron mayores fuerzas de compresión con mayor cantidad de calcio en los tres primeros minutos; determinando que con mayor tiempo la fuerza de compresión fue disminuyendo, esto debido a un reordenamiento de la estructura y por ende un debilitamiento del gel (Serp *et al.* 2000). Se obtuvo una fuerza de compresión máxima de 1.63N y una mínima de 0.66N.

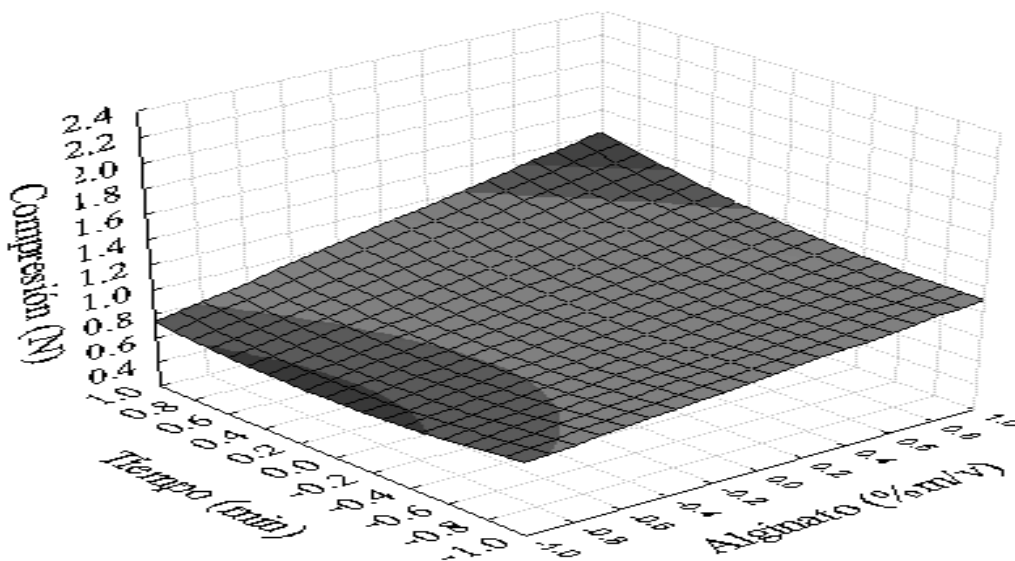


Figura 13. Efecto de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de alginato.

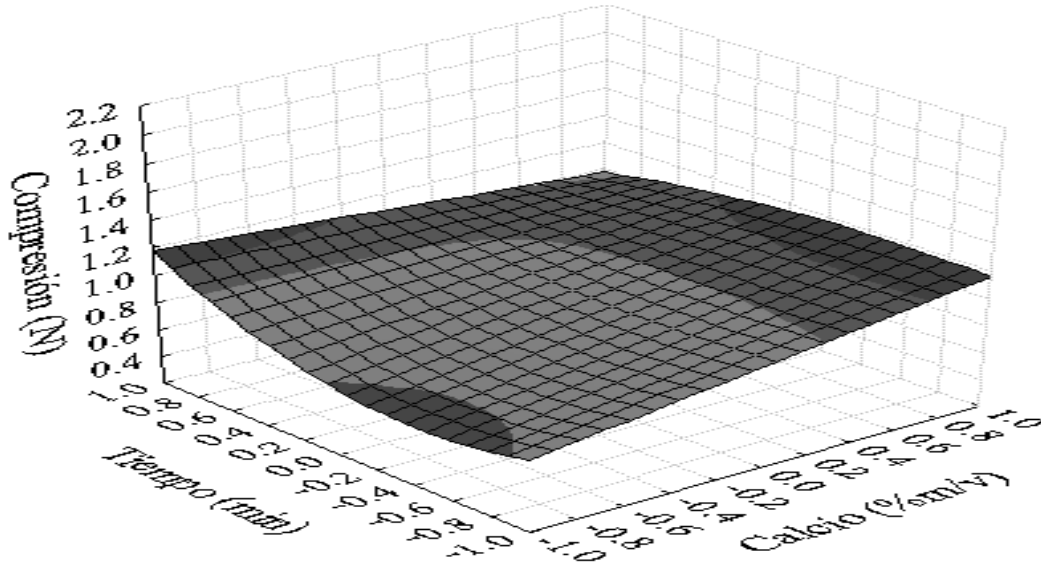


Figura 14. Efecto de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la textura de las esferas de alginato.

Análisis de tamaño de las esferas de alginato. El tamaño es un factor importante en la caracterización de las esferas, ya que dependiendo de éste se pueden realizar varias aplicaciones en los alimentos. El tamaño puede estar relacionado con la capacidad de liberación del material encapsulado y la eficiencia de la encapsulación (Saez *et al.* 2007). El tamaño de las esferas puede variar dependiendo de la velocidad de agitación, la distancia de goteo y el material que se utilice para esto (Haznedae y Dortune 2004).

El tamaño de las esferas de alginato fue afectado significativamente con valores $P < 0.05$ por la concentración de alginato y calcio, el tiempo de gelificación, la interacción alginato con el tiempo de gelificación. Para esta variable se obtuvo un R^2 de 0.79 por lo que se clasificó el modelo como predictivo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado al tamaño de las esferas de alginato.

Variabes	Coefficientes de regresión	Probabilidad
Intercepto	4.21	
X ₁	-0.080	0.001*
X ₂	-0.389	0.001*
X ₃	-0.167	0.001*
X ₃ ²	-0.028	0.211
X ₁ X ₂	-0.029	0.162
X ₁ X ₃	0.065	0.001*
X ₁ X ₃ ²	-0.020	0.371
X ₂ X ₃	0.072	0.006*
X ₂ X ₃ ²	-0.028	0.202
R ²		0.50

X₁= Concentración de alginato(%m/v); X₂= Concentración de calcio(%m/v); X₃= Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a P <0.05

Con los datos obtenidos en el cuadro 8 se elaboró la ecuación para el tamaño de las esferas la cual quedó de la siguiente manera:

$$\text{Tamaño de esferas} = 4.21 - 0.080X_1 - 0.389X_2 - 0.167X_3 + 0.065X_1X_3 + 0.072X_2X_3 \quad [8]$$

En la figura 15 se observa que se obtuvieron esferas más grandes con las menores concentraciones de calcio y alginato y un minuto de tiempo de gelificación. Las esferas más pequeñas se obtuvieron con la mayor concentración de alginato 2% y una alta concentración de cloruro de calcio con mayor tiempo de gelificación.

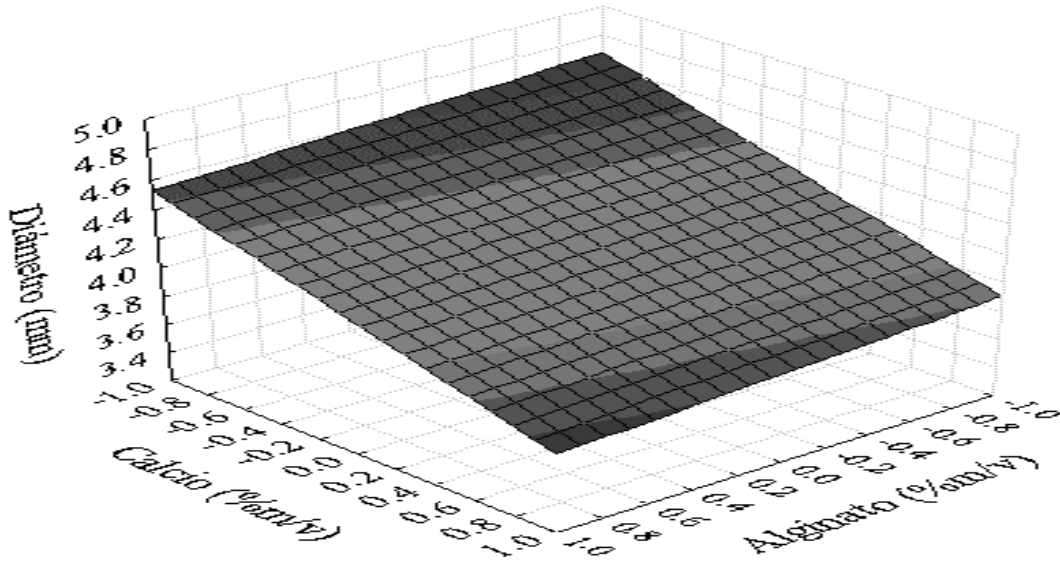


Figura 15. Efectos de la concentración de alginato y calcio sobre el tamaño de las esferas de alginato.

En las figuras 16 y 17 se puede apreciar que en cuanto a la relación tiempo de gelificación y concentraciones de alginato y calcio, el tiempo en el que se obtuvieron las esferas más grandes fue al primer minuto y luego hubo una reducción de tamaño. Estos resultados además de obtenerse por la distancia o velocidad de goteo, también pudo deberse a una saturación con iones calcio, lo que produce un reordenamiento de las cadenas de alginato y por lo tanto disminución del tamaño (Serp *et al.* 2000). Estos obtuvieron tamaños más pequeños después de los 5 minutos de gelificación. Se obtuvieron valores máximos de 4.93 mm y mínimos de 3.58 mm los cuales son más altos que los obtenidos por Guzmán (2015) con 3- 3.5 mm, esto pudo deberse a la altura desde donde se goteó la solución o el instrumento utilizado para el goteo.

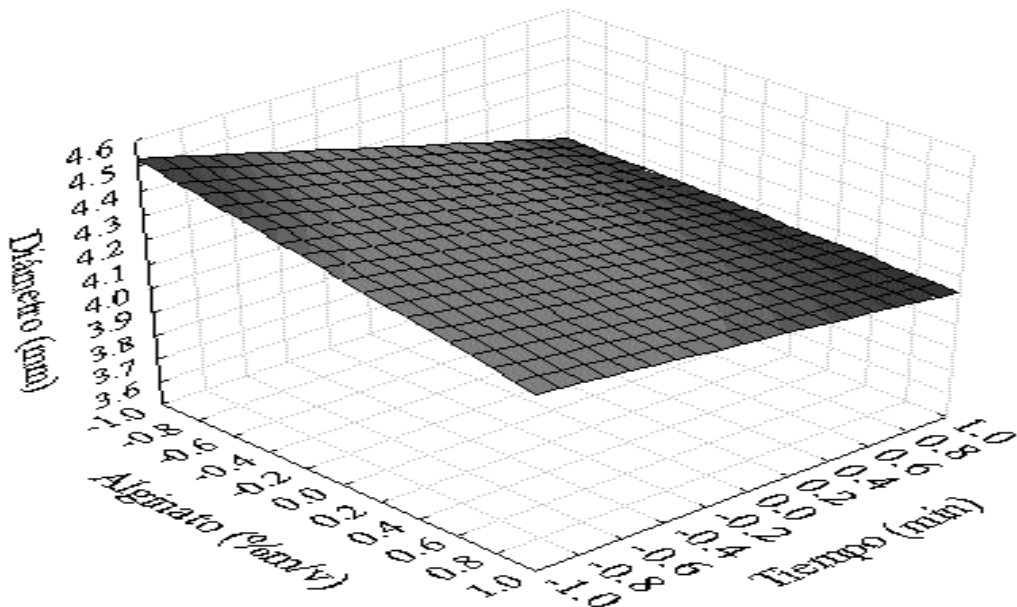


Figura 16. Efectos de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de alginato.

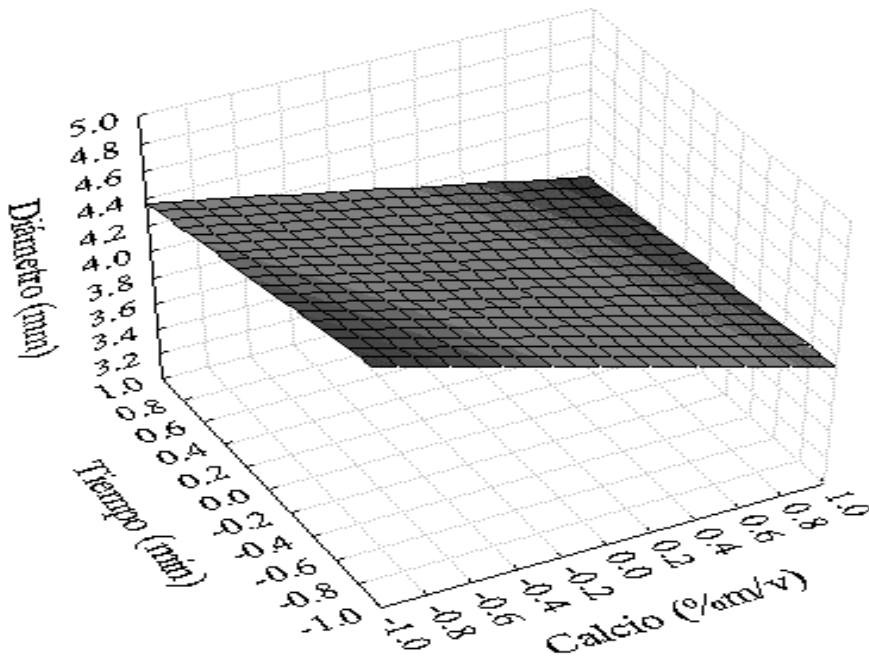


Figura 17. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre el tamaño de las esferas de alginato.

Análisis de densidad de las esferas de alginato. Los factores significativos para la densidad en las esferas de alginato fueron la concentración de alginato, calcio y el tiempo

de gelificación, ninguna interacción entre variables fue significativa. Se obtuvo un R^2 de 0.68 por lo que el modelo se clasificó como predictivo. Estos valores son mostrados en el cuadro 9.

Cuadro 9. Coeficientes de regresión y su probabilidad de un modelo de regresión cuadrático aplicado a la densidad de las esferas de alginato.

VARIABLES	COEFICIENTES DE REGRESIÓN	PROBABILIDAD
Intercepto	0.90	
X ₁	-0.007	0.038*
X ₂	0.011	0.003*
X ₃	0.025	0.001*
X ₃ ²	-0.001	0.744
X ₁ X ₂	-0.006	0.099
X ₁ X ₃	0.005	0.194
X ₁ X ₃ ²	-0.002	0.448
X ₂ X ₃	0.004	0.349
X ₂ X ₃ ²	-0.001	0.744
R²		0.68

X₁= Concentración de alginato(%m/v); X₂= Concentración de calcio(%m/v); X₃= Tiempo de gelificación (min) (*) Significativo a P <0.05

Con los valores obtenidos en el cuadro 9 se elaboró la ecuación para esta variable:

$$\text{Densidad esferas alginato} = 0.90 - 0.007X_1 + 0.011X_2 + 0.025X_3 + \varepsilon \quad [9]$$

En la figura 18 se observa que con mayor concentración de calcio y menor concentración de alginato se obtuvieron mayores densidades. Se obtuvieron densidades máximas de 0.95 g/ml y mínimas de 0.850 g/ml. Asemejándose a los resultados obtenidos por Rivera (2013) con una densidad de 0.88 g/ml.

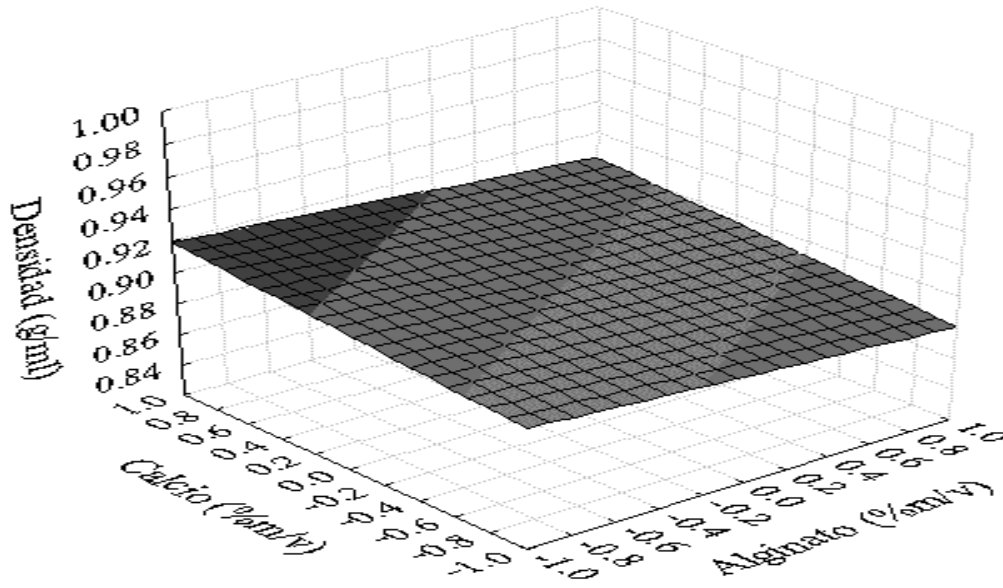


Figura 18. Efectos de la concentración de calcio y alginato sobre la densidad de las esferas de alginato.

En las figuras 19 y 20 se observa que a mayor tiempo de gelificación mayor densidad de las esferas. El tiempo tuvo un efecto lineal debido a que, con más tiempo, la densidad de las esferas fue aumentando. Las menores densidades se alcanzaron al combinar la concentración de alginato más alta (2%) con la menor de cloruro de calcio (1.5%) y un tiempo de gelificación de un minuto. Difiere de lo afirmado por Serp *et al.* (2000) quien dijo que a mayor tiempo de gelificación el tamaño y densidad de las esferas se ve afectado de manera contraria.

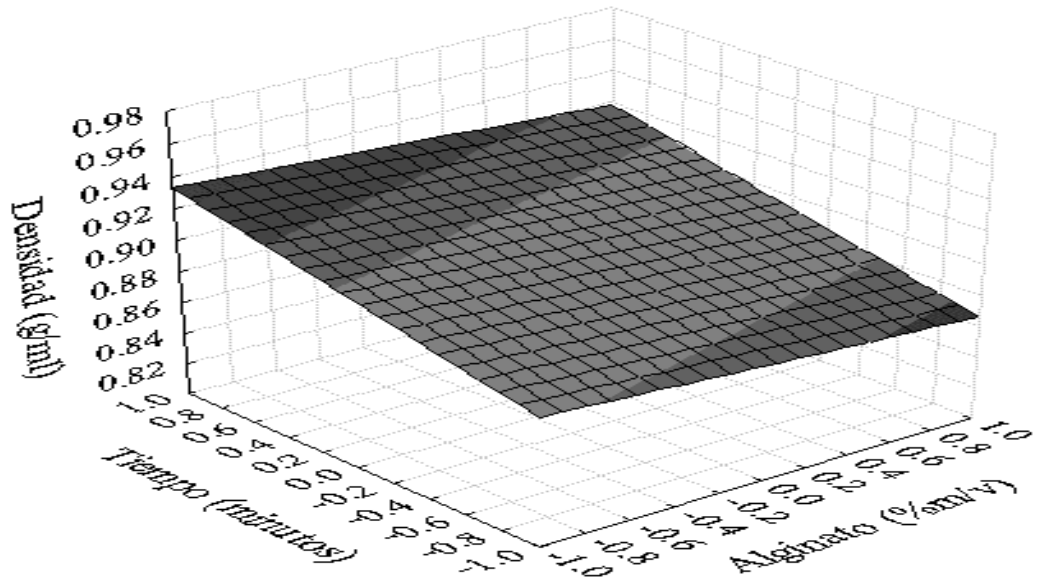


Figura 19. Efectos de la concentración de alginato y el tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de alginato

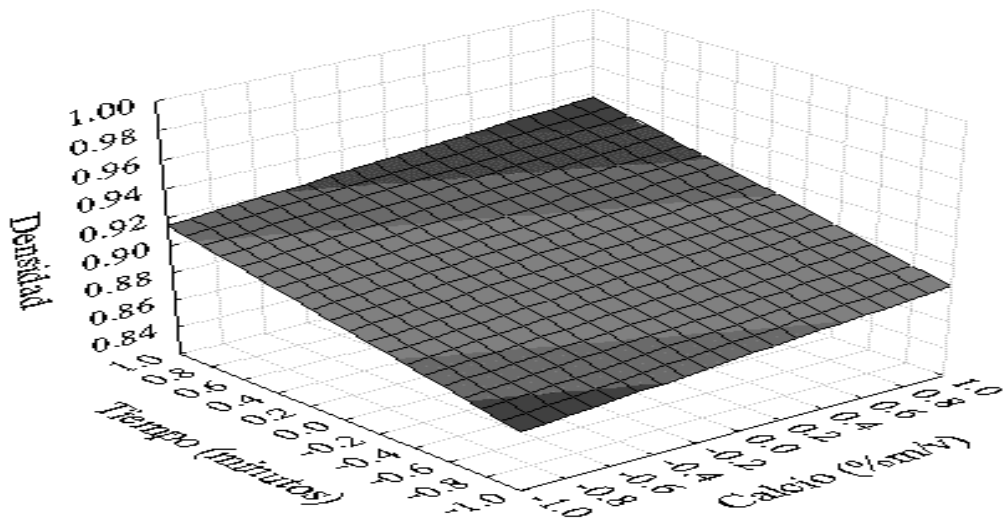


Figura 20. Efectos de la concentración de calcio y el tiempo de gelificación sobre la densidad de las esferas de alginato.

Función de Utilidad. Para la obtención de la función de utilidad (figura 21), se consideró que el tratamiento elaborado con alginato fue el mejor al tener mayor ajuste de los datos. Por lo que en la optimización se maximizó la textura y la densidad y se minimizó el tamaño de las esferas. Se buscó hacerlo de esta manera para que las esferas necesitaran alta fuerza de compresión con el fin de reducir los posibles daños por fuerza mecánica y se minimizó el tamaño para que, al colocar las esferas en alguna matriz alimenticia, el consumidor no sienta mucho la diferencia. Se determinó que el tratamiento óptimo fue con concentraciones

de 2% de alginato y cloruro de calcio y un tiempo de gelificación de 5 minutos se asume que estos valores fueron obtenidos porque se obtuvo la mayor fuerza de compresión con mayor cantidad de polisacárido; esto apoyando lo indicado por Urias *et al.* (2009) y Barros (2012) quienes afirmaron que a mayor cantidad de polisacárido y fuente de calcio se consiguen geles más elásticos y consistentes, por lo que necesitan mayor fuerza de compresión para sufrir daños. En cuanto al tamaño, a mayor tiempo de gelificación, las esferas tienden a disminuir su tamaño por una saturación con calcio (Serp *et al.* 2000).

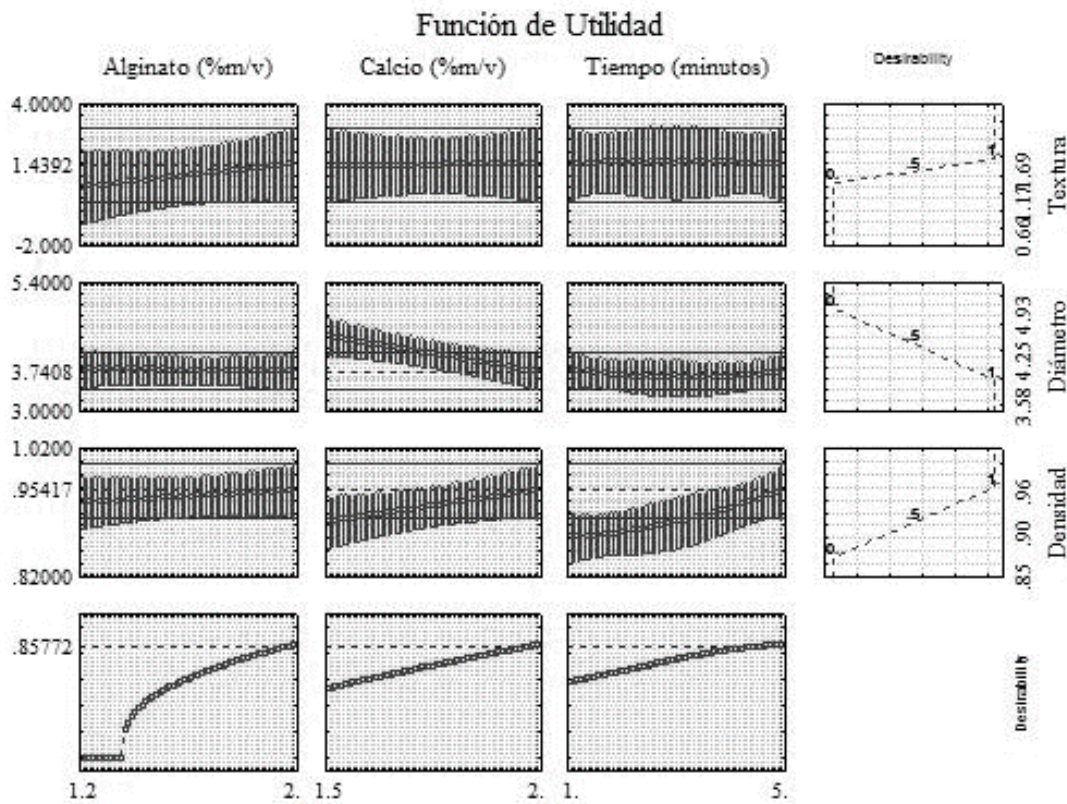


Figura 21. Valores óptimos de las variables independientes sobre la textura, tamaño y densidad de las esferas de alginato.

Caracterización de esferas conteniendo fitoesteroles. Las esferas conteniendo fitoesteroles fueron realizadas como un prototipo con el fin de poder colocar estas en alguna matriz alimenticia y que sirvan como fuente de este compuesto para llenar el requerimiento diario de las personas. También se busca protegerlos de daños por oxidación. Estas esferas fueron caracterizadas físicamente, y presentaron una fuerza de compresión de 1.7 N y diámetros de 3.06 mm. Se obtuvieron 14 g de aceite a partir de 20 g de esferas. Se obtuvo una eficiencia de encapsulación del 70%, la cual fue baja pero aceptable en comparación al estudio realizado por Fujiwara (2012) quien obtuvo una eficiencia de encapsulación de 88.55%, esto debido a que elaboró esferas con recubrimientos.

Las enfermedades cardiovasculares son las que más afectan a la población en los últimos tiempos, y la causa de la mayor parte de las muertes en muchos países desarrollados, por lo que se está buscando maneras de prevenirlas. Los fitoesteroles tienen una función muy importante en el organismo ya que ayudan a eliminar el colesterol presente en la sangre. Entre los esteroides más comunes se encuentran el estigmasterol, β -sitosterol y campesterol, constituyendo el 98% de fitoesteroles encontrados en plantas o extractos vegetales (Valenzuela y Ronco 2004). Estos tres compuestos deben estar presentes en un 80% cuando los ésteres son elaborados por esterificación a partir de aceites comestibles, según la FDA. Estos esteroides pueden ser encontrados en aceites de maíz, girasol, soya y palma. Así como en legumbres, frutos secos, aunque en menor cantidad (Palou *et al.* 2005). Según la FDA el consumo de mínimo 1.3g diarios de estos compuestos ayudan a la reducción de colesterol y por lo tanto minimizan el riesgo de enfermedades coronarias, añadiéndole actividad física y una buena alimentación. La FDA también cita que estos compuestos deben agregarse a alimentos bajos en grasas saturadas. En el cuadro 10 y figura 22 se puede observar el perfil de fitoesteroles de palma elaborado mediante cromatografía.

Cuadro 10. Perfil de fitoesteroles de palma

Picos #	Compuestos	Tiempo de Retención (min)	Area
1	Epicoprostanol	27.24	736.661
2	Colesterol	32.23	15.317
3	Brassicasterol	35.88	1.860
4	Ergosterol	40.12	1.382
5	24-Methylene Cholesterol	41.02	1.724
6	Campesterol	41.90	112.616
7	Campestanol		
8	Stigmasterol	45.15	130.728
9	Δ 22-Stigmasterol	46.11	5.449
10	Δ 7-Campesterol	47.66	6.996
11	Clerosterol+ Δ 5,23	49.74	9.613
12	β -Sitosterol	51.79	701.987
13	Sitostanol	52.73	3.798
14	Δ 5-Avenasterol	53.76	18.929
15	Fucosterol	56.93	20.333
16	Δ 7-Stigmastenol	58.82	26.749
17	Δ 7-Avenasterol	60.99	6.007

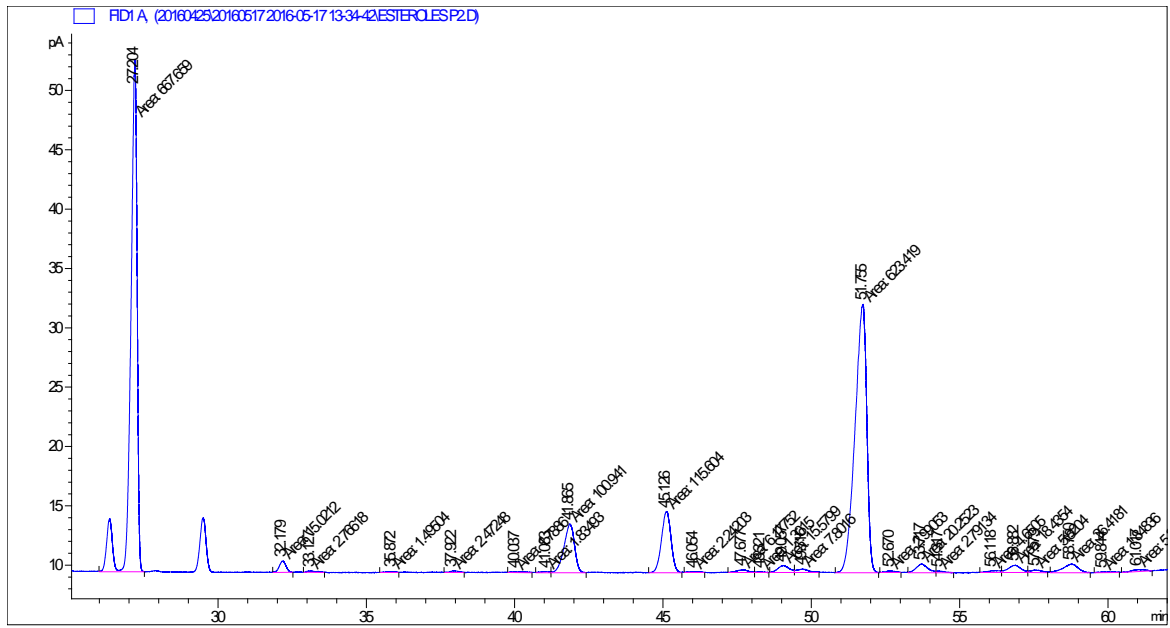


Figura 22. Cromatograma de fitoesteroles de palma.

4. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron esferas muy definidas con ambos métodos de gelificación iónica.
- La optimización del proceso de gelificación iónica normal dio como resultado la utilización de las mayores concentraciones de alginato y fuente de calcio y cinco minutos de gelificación.
- La principal diferencia entre la gelificación iónica normal e inversa fue el tamaño de las esferas, ya que el proceso de gelificación iónica inversa dio como resultado esferas más grandes con centro totalmente líquido mientras que el normal, dio como resultado esferas completamente gelificadas.
- Se logró la encapsulación de fitoesteroles con el tratamiento óptimo.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un ensayo de gelificación iónica inversa con alginato o una combinación de alginato y pectina.
- Elaborar cápsulas con recubrimiento para reducir la porosidad y por ende la pérdida de material.
- Aplicar la técnica para elaborar cápsulas con alimentos, ya sea jugos, purés y evaluar su vida útil. Así tener una nueva manera de presentar productos al consumidor.
- Realizar la cuantificación de fitoesteroles en las cápsulas, aplicar a diferentes matrices alimentarias, y estudiar su liberación.

6. LITERATURA CITADA

Alves A. 2004. Microencapsulacao de fármacos peptídicos pelo método e emulsificacao/gelificao interna a albumina como fármaco modelo. [Tesis] Universidade de Coimbra. Coimbra.

Barros R. 2012. Estudos dos fatores que influenciam os atributos de esferas de alginato. [Tesis] Universidade de Aveiro. Aveiro. 126p.

Braccini I, Pérez S. 2001. Molecular basis of Ca-(2+) induces gelation in alginates and pectins: the egg- box model revisited. *Biomacromolecules*. Vol 2 N°4 1089-1096. doi: 10.1021/bm010008g

Chan L, Ying H, Heng P. 2006. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat delivery system. Elsevier. *Carbohydrate Polymers*. 63. 176-187. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.033>

Contreras J. 2003. Purificación y caracterización de poligalacturonasas de *Aspergillus Kawachii*. [Tesis] Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 155p

Cuatzo M. 2010. Efecto de las condiciones de proceso en la conservación de alimentos encapsulados. [Tesis] Instituto Politécnico Nacional. México DF.

FDA. 2015. Food and drugs administration. Food for human consumption. Code of Federal Regulation. Vol 2. [Consultado 2016 agos 25]

Fuchs M, Turchiuli C, Bohin M, Cuvelier M, Ordonnaud C, Peyrat-Maillard M, Dumoulin E. 2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*. 75(1): 27-35 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>

Fujiwara G. 2012. Microencapsulacao de estigmasterol utilizando alginato de sodio, quitosana e amido. [Tesis] Universidade Federal do Paraná. Paraná. 120p.

George M, Abraham T. 2007. pH sensitive alginate- guar hydrogel for the controlled delivery of protein drugs. *International Journal of Pharmaceutics* Vol 335. 1-20. P 123-129. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.009>

Guzmán J. 2015. Extracción de amilasa del consorcio de alga *Chlorella* Antártica utilizando alginato de sodio como soporte de inmovilización. [Tesis] Universidad Central del Ecuador. Quito. 166p.

Haznedar S, Dortunc B. 2004. Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. *Int J Pharm*, 269: 131-140. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.09.015>

Henning S, Leick S, Kott M, Rehage H, Suter D. 2012. Sealing liquid-filled pectinate capsules with a shellac coating. *Journal of Microencapsulation*. 29(2). 147-155. doi: 10.3109/02652048.2011.635220

Leick S, Henning S, Degen P, Suter D, Rehage H. 2010. Deformation of liquid-filled calcium alginate capsules in a spinning drop apparatus. *Phys. Chem. Chem. Phys* 12(12). 2950-2958. doi: 10.1039/b921116k

López O, Gómez M. 2008. Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. *Rev. Cubana Farm.* [Consultado 2016 agos 12] Vol 42:3:08 http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol42_3_08/far10308.htm

Muñoz A, Alvarado C, Encina C. 2011. Fitoesteroles y fitoesteroles: Propiedades saludables. *Revista Horizonte Médico*. Vol 11 (2) 93-99 [Consultado 2016 agos 25] http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2011_2/Art6_Vol11_N2.pdf

Neira A, Yáñez D, Aguirre P, Amar Y, Vidal S, Egaña R. 2013. Encapsulación de biomoléculas usando polímeros naturales: “Un nuevo enfoque en la entrega de fármacos en medicina” *Revista Avance en Ciencias Veterinarias* V28 N°2 31-33 doi: 10.5354/0716-260X.2013.30204

Ochoa M. 2013. Extracción de pectina en dos estados de maduración de achotillo (*Nephelema lappaceum*) para la elaboración de mermeladas. [Tesis] Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo. 100p.

Palou A, Pico C, Bonet M, Oliver P, Serra F, Rodríguez A, Ribot J. 2005. El libro blanco de los esteroides vegetales. 4ª ed. España.

Parra R. 2011. Microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. [Accesed 2016/08/23] Vol 63: 2 5669- 5684 [Consultado 2016 jul 15] <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179918602020>

Rivera A. 2013. Evaluación de la capacidad de esterificación de quitosano como sustituto de alginato en la elaboración de falso caviar. [Tesis] Universidad Central del Ecuador. Quito. 96p.

Romero J, Vásquez E. 2012. Fitoesteroides y Fitoestanoles: eficaces para disminuir lípidos plasmáticos. *Revista CES Salud Pública*. [Consultado 2016 agos 25] Vol 3(2) 165-173. http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/2313/1550

Saez V, Hernández J, Peniche C. 2007. Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas. *Biotecnología aplicada* [Consultado 2016 agos 24] 24: 98-107

<http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2007/24/2/BA002402RV098-107.pdf>

Serp D, Cantana E, Heinzen C, Von Stockar U, Marison I. 2000. Characterization of an encapsulation device for the production of monodisperse alginate beads for cell immobilization. *Biotechnology and bioengineering*. V70 N°1 41-53. doi: 10.1002/1097-0290(20001005)70:1<41:AID-BIT6>3.0.CO;2-U

Simpson N, Stabler C, Simpson C, Sambanis A, Constantinidis I. 2004. The role of the CaCl₂- guluronic acid interaction on alginate encapsulated bTC3 cells. *Biomaterials*. Vol 25. 2603- 2610. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.046>

Tello F, Falfan R, Martínez F, Martins V, Dupas M, Grosso C. 2014. Alginate and pectin-based particles coated with globular proteins: Production, characterization and anti-oxidative properties. *Food Hydrocolloids*. Vol 49 670-678. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.029>

Urias V, Lizardi J, Carvajal E, Martinez A, Rascón A. 2009. Gelificación iónica de pectina de bajo grado de esterificación extraída de garbanzo. *SPM*. [Consultado 2016 sep 05] pag 302-306

Valenzuela A, Ronco A. 2004. Fitoesteroles y Fitoestanoles: Aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista chilena de nutrición*. [Consultado 2016 sep 05] Vol 21 N°1 161-169 http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182004031100003

Villena M, Morales M, Gallardo M, Ruiz M. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharm*. [Consultado 2016 agos 12] Vol 50 N°1, 43-50 <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/452.pdf>

Yua W, Lin J, Xiudong L, Xiaojun M. 2010. Quantitative characterization of membrane formation process of alginate–chitosan microcapsules by GPC. *Journal of Membrane Science*. (346) 296-301. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2009.09.049>