

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



Proyecto Especial de Graduación  
**Cuantificación de compuestos bioactivos del extracto etanólico de chipilín**  
**(*Crotalaria longirostata* Hook. & Arn.) encapsulados con maltodextrina,**  
**goma guar y gelatina**

Estudiantes

Eddy Alejandro Nájera Mejía

Urías Roberto Castillo Martínez

Asesores

Luis Fernando Maldonado, Ph.D.

Jorge Cardona, Ph.D.

Honduras, agosto 2022

## **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

Resumen .....	8
Abstract .....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	13
Localización del Estudio .....	13
Origen de la Muestra .....	13
Materiales.....	13
Diseño Experimental y Tratamientos .....	13
Método de Secado de las Hojas de Chipilín .....	14
Obtención del Extracto Etanólico de Chipilín.....	14
Método de Encapsulación por Coacervación Compleja.....	15
Actividad de Agua ( $a_w$ ) .....	16
Índice de Solubilidad de las Cápsulas.....	16
Determinación de Polifenoles Totales en Extracto Etanólico.....	17
Método de Flavonoides Totales en Extracto Etanólico .....	17
Eficiencia de Encapsulación .....	18
Capacidad de Carga .....	18
Actividad Antioxidante de Extracto Acuoso .....	18
Actividad Captadora de Radicales.....	19
Resultados y Discusión.....	21
Análisis Físicos-Químicos .....	21
Actividad de Agua ( $a_w$ ) .....	21
Solubilidad .....	21
Análisis de Color.....	22

Análisis de Polifenoles Totales .....	26
Actividad Antioxidante y Actividad Captadora de Radicales .....	29
Conclusiones.....	32
Recomendaciones.....	33
Referencia.....	34
Anexos .....	38

### Índice de Cuadros

Cuadro 1 Descripción de los tratamientos para encapsulación de compuestos bioactivos de la hoja de chipilín. ....	14
Cuadro 2 Actividad de agua e índice de solubilidad de las cápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes. ....	22
Cuadro 3 Resultados en escala L, a, b, C*, H° de análisis de color en las cápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes. ....	25
Cuadro 4 Capacidad de carga y eficiencia de encapsulación de polifenoles y flavonoides totales mediante coacervación. ....	29
Cuadro 5 Actividad antioxidante y actividad captadora de radicales de microcápsulas obtenidas mediante coacervación. ....	31

### Índice de Figura

Figura 1 Resultados de tonalidad e intensidad basados en los colores HCL del simulador Colorspace 2.0 a partir de microcápsulas obtenidas utilizando diferentes materiales encapsulantes.....	26
---	----

## Índice de Anexos

Anexo A Grafica de análisis físico de actividad de agua ( $a_w$ ) y solubilidad de microcápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes.....	38
Anexo B Efecto de los diferentes tratamientos de encapsulación en el contenido de polifenoles totales representados en capacidad de carga (mg EAG/g M.E) y la eficiencia de encapsulación (EE %) de extracto etanólico de chipilín.....	39
Anexo C Efecto de los diferentes tratamientos de encapsulación en el contenido de flavonoides totales representados en capacidad de carga (mg EC/g M.E) y la eficiencia de encapsulación (EE %) de extracto etanólico de chipilín.....	40
Anexo D Grafica actividad antioxidante y actividad captadora de radicales (%) de tratamientos encapsulados.....	41

## Resumen

La encapsulación es la aplicación de técnicas que permiten la protección de fitoquímicos mediante su incorporación en una matriz protectora, preservando las propiedades funcionales de estas sustancias. En este estudio se evaluó la encapsulación de compuestos polifenólicos y flavonoides totales del extracto etanólico de chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.) en diferentes relaciones de encapsulantes como maltodextrina (MD), goma guar (GG) y gelatina (G). Se utilizó un DCA con separación de medias DUNCAN y nivel de significancia de  $P < 0.05$ . La capacidad de carga, eficiencia de encapsulación y actividad antioxidante del radical DPPH se determinaron espectrofotométricamente. Se evaluó el color, actividad de agua y solubilidad del encapsulado. Se obtuvo una máxima capacidad de carga de 7.73 mg EAG.g<sup>-1</sup> para polifenoles y 6.83 mg EC.g<sup>-1</sup> para flavonoides totales. Los encapsulados con MD+GG+G (5: 0.125: 2) permitieron una mayor eficiencia de encapsulación. La actividad antioxidante fue de 5.95 a 6.38 mg EAG.g<sup>-1</sup> y una actividad captadora en rango de 12 a 20%. No se identificaron diferencias significativas para actividad de agua y solubilidad, encontrándose en un rango de 0.315 a 0.340 y 89 a 90%, respectivamente. Para color, se identificaron valores de L\* luminosidad en un rango 55 a 62, con valores de croma de 21 a 25 y valores de Hue de 84 a 87. Los encapsulados mostraron estabilidad, por lo tanto, el método de encapsulación es una técnica funcional para proteger compuestos fenólicos del extracto etanólico de chipilín. Se recomienda realizar análisis de estabilidad y perfil de compuestos bioactivos.

*Palabras clave:* actividad captadora de radicales, capacidad de carga, coacervación, DPPH.



### Abstract

Encapsulation is the application of techniques that allow the protection of phytochemicals by incorporating them into a protective matrix, preserving the functional properties of these substances. In this study, the encapsulation of polyphenolic compounds and total flavonoids of the ethanolic extract of chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.) was evaluated in different ratios of encapsulating agents such as maltodextrin (MD), guar gum (GG) and gelatin (G). A DCA with DUNCAN means separation and significance level of  $P < 0.05$  was used. The loading capacity, encapsulation efficiency and antioxidant activity of the DPPH radical were determined spectrophotometrically. The color, water activity and solubility of the encapsulated extract were evaluated. A maximum loading capacity of  $7.73 \text{ mg EAG.g}^{-1}$  for polyphenols and  $6.83 \text{ mg EC.g}^{-1}$  for total flavonoids was obtained. The MD+GG+G matrix (5: 0.125: 2) allowed a higher encapsulation efficiency. The antioxidant activity was from 5.95 to  $6.38 \text{ mg EAG.g}^{-1}$  and an uptake activity ranged from 12 to 20%. No significant differences were identified for water activity and solubility, ranging from 0.315 to 0.340 and 89 to 90%, respectively. For color,  $L^*$  luminosity values were identified in a range from 55 to 62, with chroma values from 21 to 25 and Hue values from 84 to 87. The encapsulates showed stability, therefore, the encapsulation method is a technique functional to protect phenolic compounds from the ethanolic extract of chipilín. It is recommended to carry out stability and profile analyzes of bioactive compounds.

*Keywords:* Coacervation, DPPH, loading capacity, radical scavenging activity.

## Introducción

Cada año las Enfermedades No Transmisibles (ENT) afectan a un gran número de personas causando la muerte, estas enfermedades se asocian con padecimientos cardiovasculares, cáncer, diabetes, enfermedades gástricas, respiratorias y neurológicas (Serra Valdés et al. 2018). Esto en gran parte debido a la formación de radicales libres en el organismo por diversas fuentes, que puede generar un efecto en la salud de las personas debido a la oxidación en cadena que se genera por los radicales libres (Coronado et al. 2015). Los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de retrasar o inhibir la oxidación, por ende, ayudan a inhibir la propagación y el aumento de los radicales libres, y con ellos reducir la concentración de oxidantes (Aguilar-Paredes et al. 2018). Es por ello que en la actualidad los antioxidantes de origen vegetal se han convertido en una opción alimentaria para prevenir estas enfermedades, y existe una amplia gama de alimentos donde se pueden encontrar (Vallejo Zamudio et al. 2017).

El chipilín es una planta nativa del sur de México y Centroamérica, la cual, se consume en zonas rurales como alimento o como medicamento natural. Aunque hay poca información de la composición nutricional, existen documentación donde se muestran sus principales componentes (Jiménez-Aguilar y Grusak 2015). El chipilín puede catalogarse como un alimento funcional puesto que, además de su contenido nutricional, presenta moléculas bioactivas que pueden generar grandes beneficios a la salud como lo son el ácido linolénico, vitamina E, y un buen perfil de compuestos fenólicos (Castañeda Najarro 2017). Esta planta (*C. longirostrata* Hook. & Arn.) cuenta con alto poder antioxidante y sus hojas son consumidas en diversos platillos, ya que presentan un alto valor nutricional, son ricas en calcio, hierro, vitamina B, proteínas, fibras (Lagunes Espinoza 2020).

Las propiedades antioxidantes de las plantas están relacionadas con la presencia de compuestos fenólicos especialmente flavonoides (Ribeiro et al. 2020). Los flavonoides son metabolitos secundarios en las plantas, responsables de la pigmentación de las flores, que en la actualidad se conoce su uso como agente antioxidante y antiinflamatorio (Ramírez-Navas 2016). Los polifenoles constituyen uno de los grupos más numerosos y ubicuos de metabolitos vegetales, y son una parte

integral de las dietas tanto humanas como animales, las cuales poseen un alto espectro de actividades biológicas, incluidas funciones antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas y antivirales (Fang y Bhandari 2010).

Los compuestos bioactivos pueden degradarse si se exponen al oxígeno, luz, actividades enzimáticas, condiciones adversas de temperatura y pH, iones metálicos y agua, lo que conduce a la alteración de sus propiedades beneficiosas. La estabilidad es un aspecto importante para considerar el uso de polifenoles como antioxidantes y colorantes en alimentos (Bakowska-Barczak y Kolodziejczyk 2011). Una vez que los compuestos bioactivos se extraen de las materias primas, es importante que las sustancias permanezcan sin alteraciones desde su producción hasta el consumo, protegidas de factores externos que las degradan (Ribeiro et al. 2020). Por lo tanto, la administración de estos compuestos requiere que los formuladores y fabricantes de productos proporcionen mecanismos de protección que puedan mantener la forma molecular activa hasta el momento del consumo (Fang y Bhandari 2010).

Una solución viable es el uso de técnicas de microencapsulación, ya que permiten la protección de los compuestos mediante su incorporación a una matriz protectora, preservando las funcionalidades bioquímicas de estas sustancias (Paini et al. 2015). La tecnología de encapsulación proporciona protección a los ingredientes activos, evitando su oxidación y aumentando su vida útil. Además, también permite la producción de ingredientes alimentarios en forma de polvo, lo que aumenta la versatilidad del producto y facilita su incorporación a distintas materias primas alimentarias (Bustamante et al. 2017).

Como parte de las materias encapsulantes, algunos estudios han analizado la combinación de carbohidratos y proteínas en la preparación de microesferas, reportando un efecto positivo de la combinación de diferentes materiales de pared sobre las características fisicoquímicas y el desempeño de estos sistemas (Araújo JSusy Fernandes de et al. 2020). El tipo de agente portador del compuesto bioactivo juega un rol importante en la protección y liberación del compuesto. Entre los agentes encapsulantes se pueden encontrar las maltodextrinas, las cuales tienen un bajo costo, viscosidad, y

brinda protección contra oxidación, pero posee baja emulsificación, por lo que su uso es recomendado con gomas arábicas y concentrados de proteína de suero de leche (Sarabandi et al. 2019). Los mejores rendimientos para la encapsulación de polifenoles se obtienen a partir de la unión de maltodextrinas y carbohidratos (Navarro-Flores et al. 2020). En este estudio se analizaron diferentes relaciones de agentes encapsulantes, evaluando eficiencia, capacidad de carga y la determinación de la capacidad antioxidante de los polifenoles a partir del extracto etanólico de las hojas de chipilín encapsulado (*C. longirostrata* Hook. & Arn.).

Basado en lo anterior, se establecieron los siguientes objetivos del estudio:

Evaluar las propiedades fisicoquímicas de los encapsulados como ser actividad de agua, color y solubilidad.

Evaluar la eficiencia de encapsulación y capacidad de carga para los polifenoles y flavonoides totales en las diferentes mezclas de agentes encapsulantes.

Determinar la actividad antioxidante y actividad captadora de radicales de los compuestos bioactivos encapsulados.

## **Materiales y Métodos**

### **Localización del Estudio**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ). El secado por liofilización se realizó en dos etapas, el congelado de las muestras se realizó en la Planta de Innovación de Alimentos (PIA) y el secado en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF). Las instalaciones antes mencionadas forman parte del Departamento de Agroindustria Alimentaria y Ciencia y Producción Agropecuaria en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, localizada en el Km 30, carretera de Tegucigalpa hacia Danlí, Valle del Yeguaré, Municipio de San Antonio de Oriente, departamento de Francisco Morazán, Honduras.

### **Origen de la Muestra**

Las muestras de Chipilín (*C. longirostrata* Hook. & Arn.) fueron obtenidas en el mercado regional en el municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala. Estas fueron trasladadas en envase hermético hasta para su posterior manejo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ). Para el estudio se utilizaron solo las partes foliares de la planta, removiendo las hojas (limbo y peciolo) y descartando el tallo de la planta. Las muestras fueron congeladas a -20 °C hasta su posterior uso.

### **Materiales**

Gelatina B 275 Bloom (Gelnex®, Brasil), Goma Guar (Sigma-Aldrich, Alemania.), Maltodextrina (DE 10-15, Shandong Bangye Co Ltd, Shandong, China), Etanol EMSURE® (99%, UN1170, Alemania) y agua desionizada.

### **Diseño Experimental y Tratamientos**

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) para evaluar los seis tratamientos, los cuales, consistían en diferentes proporciones (peso/peso) de materiales encapsulantes. Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento para un total de 18 unidades experimentales.

En el Cuadro 1 se describen los tratamientos, para los cuales, se utilizó maltodextrina, goma guar y gelatina tipo B como materiales encapsulantes. Las variables dependientes o variables de respuesta fueron la capacidad antioxidante, capacidad de carga de la cápsula, la eficiencia de encapsulación para flavonoides y polifenoles totales, y solubilidad de las cápsulas.

### Cuadro 1

*Descripción de los tratamientos para encapsulación de compuestos bioactivos de la hoja de chipilín.*

Número de tratamiento	Agente encapsulante	Abreviatura	Relación	pH	Cantidad de chipilín en g/25 g material encapsulante
T1	Maltodextrina: Goma Guar: Gelatina B	MD+GG+G	5: 0.125: 1	4	15
T2	Maltodextrina: Goma Guar: Gelatina B	MD+GG+G	5: 0.125: 2	4	15
T3	Maltodextrina: Gelatina B	MD+G	5: 1	4	15
T4	Maltodextrina: Gelatina B	MD+G	5: 2	4	15
T5	Maltodextrina: Goma Guar	MD+GG	5: 0.125	4	15
T6	Maltodextrina: Goma Guar	MD+GG	5: 0.250	4	15

### Método de Secado de las Hojas de Chipilín

El secado se realizó en un horno por convección marca Fisher Scientific 750F, el cual se precalentó a 60 °C durante 15 minutos. Seguidamente, las hojas de chipilín se ingresaron al horno para iniciar el proceso. Para asegurar un secado homogéneo, se revolvieron las muestras a cada hora, este proceso tuvo una duración de 24 horas.

Una vez secas, las hojas fueron molidas en un molino (FOSS CT 193 Cyclotex TM), utilizando un tamiz de 0.5 mm para convertirla en harina y posteriormente realizar el extracto etanólico.

### Obtención del Extracto Etanólico de Chipilín

Los fitoquímicos presentes en la harina chipilín (*C. longirostrata* Hook. & Arn.) se obtuvieron mediante el método de extracción asistida por ultrasonido propuesto por Carrillo Alvarado (2019), con algunas modificaciones. Se utilizó un solvente etanol: agua con una relación 60:40 a temperatura ambiente 25 °C. Posterior a la preparación del solvente, se pesó 1 gramo de la muestra de chipilín y se mezcló con 20 mL de solvente en tubos de centrifugación. A continuación, se utilizó un equipo de

ultrasonido (Fishier Scientific FS14) durante 30 min, a temperatura ambiente 25 a 35 °C. Finalmente, las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos en una centrifuga (VWR Symphony 4417R).

Los extractos obtenidos se concentraron evaporando el etanol en un Rotavapor (BUCHI Rotavapor™ R-100) durante 30 min, a temperatura de 50 °C y una presión de 175 mbar. Posteriormente, el extracto acuoso se acidificó con HCL 0.1 M hasta llegar a un pH de 4 para, posteriormente incorporarlo al proceso de encapsulación.

### **Método de Encapsulación por Coacervación Compleja**

Las capsulas se obtuvieron mediante la técnica de coacervación compleja descrita por Nori et al. (2011) con algunas modificaciones. Para promover la coacervación, se prepararon dos soluciones acuosas de agentes encapsulantes 1 y 2 respetando las relaciones en cada tratamiento. Para la solución acuosa de proteína (Gelatina tipo B) se disolvieron las cantidades descritas en el Cuadro 1. Se prepararon en 50 mL de una solución buffer de 0.1 mol/L (acetato de sodio + ácido acético con un pH ajustado de 4). La gelatina se calentó a 40°C para facilitar su disolución. Seguidamente, se agregó el extracto acuoso de chipilín (núcleo) con pH ajustado de 4 con una solución 0.1 mol/L de HCL. Para la solución de polisacáridos (maltodextrina + goma guar), se disolvieron individualmente las cantidades descritas anteriormente en 50 mL de solución buffer con un pH ajustado de 4 y una concentración de 0.1 mol/L (acetato de sodio + ácido acético). Los polisacáridos fueron calentados a 40 °C para facilitar su disolución. Ambas soluciones se homogenizaron mediante agitación magnética (Thermo Scientific, EE.UU.) a 2500 rpm durante 5 min, y a una temperatura de 40 °C. Finalmente, la solución de polisacáridos fue agregada lentamente a la solución de proteína aumentando la agitación a 3500 rpm durante 6 minutos y manteniendo la temperatura a 40 °C. Al final del proceso, el material fue enfriado a -4 °C en el refrigerador hasta el proceso de secado por liofilización.

Las muestras fueron congeladas durante 6 horas a -50 °C en un Liofilizador (SP VirTis AdVantage Pro, SP Scientific, EE. UU.). Posteriormente, se liofilizaron durante 40 horas a una presión de 0.22 mbar y -50 °C, para asegurar el secado completo en un liofilizador (FreeZone 2.5, LABCONCO,

EE. UU.). El producto final en forma de polvo seco se almacenó a temperatura ambiente en recipientes herméticos de plástico sellados y en un desecador para su posterior utilización y análisis.

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

La medición de actividad de agua se realizó a través del método AOAC 978.18 en el equipo Aqualab Serie 3 (Decagon Devices WA, EE.UU.). Para la medición se utilizó muestra de encapsulado puesto en la copa plástica del equipo, hasta un nivel intermedio de la capacidad máxima. La muestra se dejó hasta que el equipo indicó el equilibrio, posteriormente se registró la lectura de la actividad de agua y temperatura.

### **Índice de Solubilidad de las Cápsulas**

El índice de solubilidad en agua de las cápsulas fue determinado según el método descrito anteriormente por Ahmed et al. (2010). Se pesó 1 g de muestra en tubos de ensayo de centrifugación, y se agregaron 24 mL de agua desionizada. Se agitaron a 2,500 rpm por 5 min en un Vortex (Fisherbrand, EE. UU.). Luego se llevaron a baño María a 30 °C por 30 min. Posteriormente, se centrifugaron a 5,000 rpm por 15 min. Se extrajo el sobrenadante, el cual se colocó en un plato Petri y se llevó al horno de convección marca Fisher Scientific a 105 °C por 18 horas. Para determinar el porcentaje de solubilidad se utilizó la Ecuación 1.

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{PF-PI}{PM} \times 100 \quad [1]$$

Donde:

PF = Peso final del plato Petri con los sólidos secos (g)

PI = Peso inicial del plato Petri vacío (g)

PM = Peso de la muestra (g)

### **Análisis de Color (AN 1018.00)**

Se evaluó el color de las 18 unidades experimentales haciendo uso del equipo Colorflex Hunter L a b. Previo a la medición, se calibró el equipo para reducir la variación del efecto de mediciones anteriores. Se colocaron las muestras en los recipientes y se anotó el reporte de la medición de los



valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . Para determinar el croma y el hue se utilizaron las Ecuaciones 2 y 3 descritas por Simon-Brown et al. (2016).

$$\text{Croma} = \left[ (a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2} \quad [2]$$

$$\text{Hue} = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad [3]$$

En donde:

$a$  = indica color rojo-verde

$b$  = indica color amarillo-azul

### **Determinación de Polifenoles Totales en Extracto Etanólico**

Para la determinación del contenido de polifenoles totales, se utilizó la metodología propuesta por Vega et al. (2017). El extracto de chipilín (50  $\mu\text{L}$ ), se mezcló con 3 mL de agua desionizada y 250  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu a 1 N. Se dejó equilibrar por 8 min. Se adicionaron 750  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% y 950  $\mu\text{L}$  de agua desionizada. Se dejó incubar por 30 min a temperatura ambiente (25°C) y se procedió a leer en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.) a 765 nm. Se construyó una curva de calibración de ácido gálico (estándar de Sigma-Aldrich, Co.) con concentraciones de 50, 100, 300, 500, 700 y 1000 ppm ( $R^2=0.9983$ ), disueltos en agua desionizada. Los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de chipilín (mg de GAE/g).

### **Método de Flavonoides Totales en Extracto Etanólico**

Para la determinación del contenido de polifenoles totales, se utilizó la metodología propuesta por Vega et al. (2017). Los flavonoides se midieron mezclando 600  $\mu\text{L}$  del extracto de chipilín con 2.58 mL de la solución A (1.8 mL de  $\text{NaNO}_2$  al 5% más 24 mL de agua desionizada). La mezcla se dejó reposar por 5 min y luego se adicionaron 180  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% manteniendo en reposo por 1 min. Por último, se adicionaron 2.52 mL de la solución B (12 mL de  $\text{NaOH}$  1M más 14,4 mL de agua desionizada) y se midieron inmediatamente en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent

Technologies, EE. UU.) a 445 nm. Se construyó una curva de calibración de catequina (estándar de Sigma-Aldrich, Co.) con concentraciones de 50, 100, 300, 500, 700 y 1000 ppm ( $R^2=0.9997$ ), disueltos en agua desionizada. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de catequina por gramo de chipilín.

### **Eficiencia de Encapsulación**

La eficiencia de encapsulación fue determinada mediante la Ecuación 4 descrita por Vila Jato y Lastres García (D.L. 2008) con algunas modificaciones. La eficiencia de encapsulación se calcula a partir de la relación entre material a ser encapsulado (compuestos polifenoles u flavonoides totales) y el valor teórico esperado/calculado o en disposición de ser encapsulado:

$$EE\% = \frac{\text{Cantidad del compuesto fenólico encapsulado}}{\text{Cantidad teórica del compuesto}} \times 100 \quad [4]$$

### **Capacidad de Carga**

La capacidad de carga fue determinada mediante la Ecuación 5 descrita por Zhang J et al. (2020), con algunas modificaciones. Se dividió la cantidad de polifenoles totales y flavonoides encapsulados (mg) entre la cantidad de muestra utilizada para medición por espectrofotometría. Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu para polifenoles y método de cloruro de aluminio para flavonoides para un (1) gramo de encapsulado. Se calculó la capacidad de carga mediante la Ecuación 5.

$$\text{Capacidad de carga} = \frac{\text{Cantidad del compuesto fenólico encapsulado}}{\text{Cantidad de material agente encapsulante}} \times 100 \quad [5]$$

### **Actividad Antioxidante de Extracto Acuoso**

La actividad antioxidante de los extractos encapsulados (1 g de encapsulado en 10 mL solución etanol: agua 60:40) se midió en términos de la capacidad de donación de hidrógeno o de eliminación de radicales, utilizando el radical estable DPPH), se preparó siguiendo la metodología reportada por Trandafir *et al.* (2013) con algunas modificaciones. Se preparó una solución madre metanólica de DPPH (0.004%, p/v), la cual se mantuvo en refrigeración durante 1 hora antes de su uso. Seguidamente, a 2.95 mL de solución metanólica de DPPH se le añadieron 50  $\mu$ L de extracto

encapsulado y se agitaron vigorosamente. Se dejó incubar por 30 minutos a 27 °C. Se midió la absorbancia inmediatamente en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.) a una longitud de onda de 517 nm, y utilizando metanol puro como blanco. Se elaboró una curva de calibración a concentraciones de 30, 60, 90 y 120 ppm de ácido gálico, disuelto en agua desionizada ( $R^2 = 0.9989$ ). Los resultados fueron expresados en mM de ácido gálico por gramo de encapsulado (mM AG/g de encapsulado).

### **Actividad Captadora de Radicales**

La actividad captadora de radicales de los encapsulados (2 g encapsulado en 20 mL de solución etanol: agua 60:40), se midió en términos del porcentaje de inhibición del radical sobre el valor inicial de DPPH. La solución de DPPH (Sigma-Aldrich, MO, EE. UU.), se preparó siguiendo la metodología reportada por Trandafir *et al.* (2013) con algunas modificaciones. Se preparó una solución madre metanólica de DPPH (0.004%, p/v), la cual se mantuvo en refrigeración durante 1 hora antes de su uso. Seguidamente, a 2.95 mL de solución metanólica de DPPH se le añadieron 50  $\mu$ L de extracto encapsulado y se agitaron vigorosamente. Se dejó incubar por 30 minutos a 27 °C. Se midió la absorbancia inmediatamente en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EE. UU.) a una longitud de onda de 517 nm.

La actividad antioxidante por barrido de radicales se expresó como el porcentaje de inhibición y se determinó mediante la Ecuación 6 propuesta por Trandafir *et al.* (2013).

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100 \quad [6]$$

Donde:

$A_0$  = Absorbancia inicial de DPPH en tiempo de 0 minutos

$A_s$  = Absorbancia final de la muestra a los 30 minutos

### **Análisis Estadístico**

Los datos experimentales fueron analizados en el programa SAS® “Statistical Analysis System” versión 9.4, a través de un análisis de varianzas (ANDEVA) y una prueba de separación de medias Duncan, a un nivel de significancia de  $\leq 0.05$ .

## Resultados y Discusión

### Análisis Físicos-Químicos

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

En el Cuadro 2 se puede observar que no se encontró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en los tratamientos, los valores se encuentran en un rango de 0.31 a 0.34  $a_w$ , por consiguiente, las relaciones entre los diferentes materiales de pared no influyeron en los valores de actividad de agua de las cápsulas (Anexo A). Estos resultados concuerdan con estudios realizados por Navarro-Flores et al. (2020), donde encontraron valores de actividad de agua hasta 0.39 utilizando maltodextrinas y diferentes materiales proteicos no convencionales para encapsulación. Por su parte Tonon et al. (2009) en su estudio reportó valores de  $a_w$  entre 0.30 - 0.35 asegurando que estos valores son positivos para la estabilidad microbiológica. Además, Silva et al. (2012), describen que los valores se encuentran dentro del rango esperado para productos liofilizados ( $a_w < 0.6$ ), y con ello los valores de actividad de agua reportados en este estudio, aseguran la estabilidad microbiológica, debido a que existe menor cantidad de agua disponible para el crecimiento de microorganismos y reacciones bioquímicas, aumentando la vida útil del polvo encapsulado.

#### **Solubilidad**

Según (Syamaladevi et al. 2012), la solubilidad de los micro encapsulados es una propiedad de gran importancia debido a que pueden ser sometidos a una rehidratación cuando estos sean agregados a un alimento o utilizados como un ingrediente alimentario.

En el Cuadro 2 se observan los valores de solubilidad de las cápsulas, la cual no muestra diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos, obteniendo un rango entre 89.11-90.19% es decir, las relaciones entre maltodextrina, gelatina y goma guar no tuvieron un efecto sobre la solubilidad de los tratamientos (Anexo A). Estos resultados concuerdan con los reportados por Akhavan Mahdavi et al. (2016) donde evaluó diferentes materiales de pared como maltodextrina, goma arábica y gelatina donde no mostraron diferencia significativa en solubilidad, la cual osciló en

rangos de 90.97 y 91.09%, además, añadió que las proteínas (gelatina) aportan en buena medida a la solubilidad debido a sus campos hidrofílicos. Pérez Valladares (2020), en su investigación reportó que, a mayor contenido de maltodextrinas en las relaciones de materiales, aumentó la solubilidad en agua. Los resultados de solubilidad son positivos puesto que todos los materiales pueden interactuar en una solución acuosa al considerar agregarlos a una formulación alimentaria debido a su alta afinidad al disolverse con el agua.

## Cuadro 2

*Actividad de agua e índice de solubilidad de las cápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes.*

Tratamiento	Agente encapsulante	Relación	$a_w$ Media $\pm$ DE <sup>ns</sup>	Solubilidad de ME Media (%) $\pm$ DE <sup>ns</sup>
T1	MD+GG+G	5: 0.125: 1	0.340 $\pm$ 0.012	90.19 $\pm$ 1.38
T2	MD+GG+G	5: 0.125: 2	0.327 $\pm$ 0.013	89.80 $\pm$ 1.21
T3	MD+G	5: 1	0.342 $\pm$ 0.012	90.16 $\pm$ 1.05
T4	MD+G	5: 2	0.339 $\pm$ 0.008	90.68 $\pm$ 0.38
T5	MD+GG	5: 0.125	0.315 $\pm$ 0.007	90.39 $\pm$ 0.56
T6	MD+GG	5: 0.250	0.328 $\pm$ 0.018	89.11 $\pm$ 1.56
CV (%)			3.47	1.29
P Valor			0.1255	0.7505

*Nota: MD: Maltodextrina; GG: Goma guar; G: Gelatina;  $a_w$ : Actividad de agua; ME: Material encapsulado; DE Desviación Estándar; C.V. (%):*

*Coficiente de variación; ns: no significativo ( $P > 0.05$ ).*

## **Análisis de Color**

El color es una cualidad organoléptica de los alimentos y se aprecia por medio del sentido físico de la vista (Mathias-Rettig y Ah-Hen 2014). También, suele ser considerado un factor psicológico de apreciación y el más influyentes en los atributos sensoriales de los productos alimentarios, por ende, desempeña un papel importante en la evaluación de la calidad de los alimentos por parte del consumidor (Dong et al. 2018). Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos, principalmente orgánicos, algunos que se producen durante el manejo y procesamiento. Sin embargo, la mayoría deben su color a las sustancias pigmentantes que contienen o que se añaden (Badui Dergal 2006).

Para la medición del color de las muestras se utilizó el sistema HunterLab de tres coordenadas rectangulares. En donde, "L\*" (luminosidad) indica tonalidades de negro a blanco en escala de 0

(negro) a 100 (blanco), "a\*" indica color rojo-verde, valores negativos (-a) indican un color de matriz más verde y valores positivos (+a) indican color rojo, "b\*" indica color amarillo-azul, valores negativos (-b) indican color azul y valores positivos (+b) indican color amarillo. El valor de 0 en cualquier escala indica neutralidad.

Con base en los resultados presentados en el Cuadro 3 se puede observar que existen diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). En relación con la luminosidad  $L^*$ , los tratamientos 5 (MD+GG; 5:0.125) y 6 (MD+GG; 5:0.25), obtuvieron los valores más altos con una media de 61.55 y 62.00, respectivamente, a diferencia del tratamiento 2 (MD+GG+G; 5:0.125:2), que obtuvo el valor más bajo con una media de 55.96. Estos valores de luminosidad más altos concuerdan con Muzaffar et al. (2016), el cual en su estudio obtuvo valores más altos en  $L$ , a medida que aumentó las concentraciones de maltodextrina en sus tratamientos, teniendo valores entre 45.54 a 75.46. La adición de maltodextrina influyó en el aumento de la luminosidad, y esto se debe al color blanquecino inerte de este polisacárido. Por otro lado, Abdul Rahman y Khair Azlan Jamalulail (2012), analizaron el color de gelatina tipo B donde obtuvieron un valor de  $L^*$  de 34.40, lo que indica que tienden a ser materiales más oscuros. Por tanto, la diferencia entre luminosidad de los tratamientos puede atribuirse a los materiales de pared utilizados, ya que el tratamiento 2 (MD+GG+G; 5:0.125:2) posee el valor más alto de proteína, obteniendo una luminosidad significativamente más baja, los tratamientos 5 (MD+GG; 5:0.125) Y 6 (MD+GG; 5:0.25), a pesar de contener la misma relación de maltodextrina, la ausencia de proteína pudo atribuir en el aumento de la luminosidad.

Del mismo modo, los valores de  $a^*$  presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, sin embargo, se muestran valores muy cercanos a la neutralidad en el cuadrante de color rojo, lo que indica un color de matriz ligeramente rojo. Con respecto a los valores de  $b^*$ , también se presentan diferencias estadísticas significativas, no obstante, los resultados demuestran una tonalidad de color de matiz amarillo. Con los valores se estimó el croma (nivel de saturación) y Hue (color), de la misma forma muestran diferencias estadísticas significativas. Palacio Márquez y Sánchez Chávez (2017) indican que el valor  $H^\circ$  es expresado como la distancia angular donde  $0^\circ$  representa

rojo, 90° color amarillo, 180° color verde y 270° color azul. Por otro lado, el croma expresa la saturación del color en una escala de 0-100. Comparando con los resultados obtenidos se puede identificar que los encapsulados tienden a un tono amarillo con valores cercanos a 90°, sin embargo, al observar los tonos evaluados en el simulador Colorspace 2.0 (Figura 1) se observa que la luminosidad y el croma por ser valores bajos, tienden a presentar un color con tono menos puro.



**Cuadro 3**

*Resultados en escala L, a, b, C\*, H° de análisis de color en las cápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes.*

Tratamiento	Agente encapsulante	Relación	L* ± DE	a* ± DE	b* ± DE	C* ± DE	H °± DE
1	MD+GG+G	5: 0.125: 1	60.03 ± 0.28 <sup>b</sup>	1.67 ± 0.20 <sup>b</sup>	22.04 ± 0.54 <sup>d</sup>	22.11 ± 0.52 <sup>d</sup>	85.64 ± 0.61 <sup>cb</sup>
2	MD+GG+G	5: 0.125: 2	55.96 ± 0.70 <sup>d</sup>	1.91 ± 0.09 <sup>a</sup>	21.13 ± 0.12 <sup>e</sup>	21.22 ± 0.12 <sup>e</sup>	84.83 ± 0.25 <sup>d</sup>
3	MD+G	5: 1	58.91 ± 0.11 <sup>c</sup>	1.49 ± 0.06 <sup>b</sup>	22.58 ± 0.26 <sup>c</sup>	22.63 ± 0.25 <sup>c</sup>	86.22 ± 0.20 <sup>b</sup>
4	MD+G	5: 2	55.26 ± 0.18 <sup>e</sup>	1.96 ± 0.03 <sup>a</sup>	22.73 ± 0.15 <sup>c</sup>	22.82 ± 0.15 <sup>c</sup>	85.08 ± 0.09 <sup>cd</sup>
5	MD+GG	5: 0.125	61.55 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.19 <sup>a</sup>	25.40 ± 0.41 <sup>a</sup>	25.47 ± 0.39 <sup>a</sup>	85.72 ± 0.4 <sup>b</sup>
6	MD+GG	5: 0.250	62.00 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.05 <sup>c</sup>	23.41 ± 0.20 <sup>b</sup>	23.43 ± 0.19 <sup>b</sup>	87.51 ± 0.13 <sup>a</sup>
CV (%)			0.49	6.80	1.23	1.19	0.38
P Valor			<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

*Nota:* MD: Maltodextrina; GG: Goma guar; G: Gelatina; L\* (luminosidad); a\* rojo (+) y verde (-); b\* amarillo (+) y azul (-); C\* Croma (intensidad); H°: matiz (tono); DE: Desviación Estándar; C.V. (%): Coeficiente de variación; <sup>a-b-c-d-e</sup>: Letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (Valor P < 0.05) entre columnas

**Figura 1**

*Resultados de tonalidad e intensidad basados en los colores HCL del simulador Colorspace 2.0 a partir de microcápsulas obtenidas utilizando diferentes materiales encapsulantes.*

T1
T2
T3
T4
T5
T6

### ***Análisis de Polifenoles Totales***

Los polifenoles son compuestos con uno o más anillos aromáticos que poseen al menos un grupo hidroxilo. Son un grupo de metabolitos secundarios con características estructurales que hacen referencia a varios subgrupos de compuestos fenólicos (Rambaran 2020). Los compuestos polifenólicos no se encuentran distribuidos uniformemente en el tejido vegetal, el fraccionamiento de los alimentos durante su procesamiento puede dar lugar a la pérdida de los polifenoles, debido a la variación del contenido de biomoléculas, resulta difícil estimar la ingesta diaria (Scalbert y Williamson 2000). La microencapsulación de los compuestos bioactivos se muestra como una alternativa en la incorporación de alimentos y poder estimar la ingesta diaria.

En el Cuadro 4, se muestran los resultados del análisis de polifenoles y flavonoides totales encapsulados evaluados en los seis tratamientos (Anexo B). Se puede observar que los valores son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). En términos generales, la capacidad de carga de compuestos fenólicos encapsulados varió significativamente entre los tratamientos, la mezcla de MD+GG+G como agentes encapsulantes en relación 5:0.125:2 tuvo el mayor número de compuestos polifenólicos y

flavonoides totales encapsulados con una media de 7.73 mg AG g<sup>-1</sup> y 6.83 mg AG g<sup>-1</sup> de material encapsulante.

La unión de los tres agentes encapsulantes en el tratamiento 2 (MD+GG+G; 5:0.125:2), proporcionaron un mejor resultado en la encapsulación de compuestos bioactivos, esto se puede atribuir a una alta afinidad de los polímeros generado por la fuerzas electrostáticas como lo explica Ribeiro et al. (2020). Además, Castro-Muñoz et al. (2015), indicaron en su estudio sobre encapsulación de zumo clarificado de nopal tunero costero (*Opuntia stricta*) con el uso de gelatina y maltodextrina, que la acción de la proteína debido a su actividad superficial con un cambio positivo y negativo debido al pH del medio, puede dar lugar a mezclas con encapsulantes tradicionales como polisacáridos. Por otro lado, Tolve et al. (2018), evaluaron que la combinación de carbohidratos con proteínas aumentó significativamente los rendimientos de encapsulación en comparación al utilizar solo proteína y carbohidratos individualmente.

En relación con los valores más bajos de capacidad de encapsulación de polifenoles fueron los tratamientos 3 (MD+G; 5:1), 5 (MD+GG; 5:0.125) y 6 (MD+GG; 5:0.25), con una media de 6.18, 5.96 y 5.93 mg EAG.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Estos tratamientos contaban con una mayor cantidad de polisacáridos, maltodextrina y goma guar, y con nula o poca cantidad de proteínas. Esto está en concordancia con en el estudio realizado por Navarro-Flores et al. (2020), el cual revela que las gomas y la maltodextrina como agentes encapsulantes proporcionan una menor retención de compuestos fenólicos.

También, se puede observar en el Cuadro 4 el efecto de los diferentes tratamientos en la eficiencia de encapsulación. La eficiencia de encapsulación de polifenoles se encuentra en el rango de 72.71 a 94.76 %, y para flavonoides totales entre 51.38 a 60.35%, donde el tratamiento 2 (MD+GG+G; 5:0.125:2) es estadísticamente diferente y superior a los demás con 94.76 y 60.35% de eficiencia de polifenoles y flavonoides, respectivamente (Anexo C). La eficiencia de encapsulación está relacionada con el valor teórico esperado en la encapsulación y el valor final obtenido en las microcápsulas (Vila Jato y Lastres García D.L. 2008). En su estudio Domínguez González (2019), reportó eficiencias de

encapsulación de alrededor de  $75.42 \pm 2.57$  % en polifenoles extraídos del chipilín (*C. longirostrata*) utilizando como materiales de pared maltodextrina y pectina, valores muy cercanos a los obtenidos en el presente estudio.

Además, se puede observar un incremento significativo en la eficiencia de los tratamientos que interactúan con proteínas. Esto lo explica Drioli y Giorno (2016), indicando que el aumento se puede atribuirse a que las proteínas por debajo de su punto isoeléctrico están cargadas positivamente. La carga positiva de las proteínas aumenta la probabilidad de asociación con hidrocoloides aniónicos como la maltodextrina y la goma guar, formando complejos de poli iones o un complejo coacervado, por consiguiente, el aumento en la eficiencia de la encapsulación de estas biomoléculas. Por otro lado, Robert et al. (2015) en su investigación encapsularon polifenoles a partir de pulpa de tuna (*Opuntia ficus-indica*), en diferentes materiales de pared y reportó eficiencias de encapsulación en rangos de 68 - 85%, obteniendo los mejores resultados en la relación de maltodextrina + proteína aislada de soja.

En relación con la disminución de la eficiencia de encapsulación, principalmente en el contenido de flavonoides totales, puede estar asociado a la degradación por factores como el tiempo prolongado de exposición a la luz y altas temperaturas en la roto evaporación realizada a 50 °C durante 40 minutos. La disminución de la concentración de polifenoles totales y flavonoides totales concuerda con estudios realizados por Sailema Ortiz (2019), demostrando la combinación de altas temperaturas >50 °C y tiempos prolongados 30 minutos, podría inducir la degradación de polifenoles y flavonoides totales. Sin embargo, la diferencia entre las eficiencias de ambos compuestos no puede compararse, debido a que los métodos que se utilizan para cuantificarlos son mediciones indirectas no específicas para cada compuesto, donde para polifenoles, se cuantifican equivalentes de ácido gálico y para flavonoides equivalentes de catequina.

Además, González Gallego y Martínez Flores (2002), en su estudio describen a los flavonoides como estructuras que poseen cargas neutras en medios ácidos, pH menor a 3 y cargas totalmente negativas en pH de 7. Por ende, la baja eficiencia de encapsulación pudo atribuirse a la reacción del

medio en el que se trabajó la coacervación, pH de 4 a 4.5, lo cual generó una tendencia de los flavonoides a cargas neutras y negativas, impidiendo una alta afinidad con las proteínas.

Estos tratamientos demuestran que la nula o baja concentración de proteína utilizada no garantiza la máxima eficiencia de encapsulación, por lo cual el uso de la combinación de diferentes agentes encapsulantes en proporciones mayores de proteína incrementa significativamente la eficiencia de encapsulación.

#### Cuadro 4

*Capacidad de carga y eficiencia de encapsulación de polifenoles y flavonoides totales mediante coacervación.*

Tratamiento	Agente encapsulante	Relación	Polifenoles totales		Flavonoides totales	
			Capacidad de carga, mg EAG g <sup>-1</sup> M.E. ± DE	Eficiencia de encapsulación Media (%) ± DE	Capacidad de carga, mg EC g <sup>-1</sup> M.E. ± DE	Eficiencia de encapsulación Media (%) ± DE
T1	MD+GG+G	5: 0.125: 1	6.89 ± 0.36 <sup>b</sup>	84.45 ± 4.40 <sup>b</sup>	6.17 ± 0.25 <sup>b</sup>	54.54 ± 2.23 <sup>b</sup>
T2	MD+GG+G	5: 0.125: 2	7.73 ± 0.27 <sup>a</sup>	94.76 ± 3.31 <sup>a</sup>	6.83 ± 0.17 <sup>a</sup>	60.35 ± 1.49 <sup>a</sup>
T3	MD+G	5: 1	6.18 ± 0.20 <sup>c</sup>	75.75 ± 2.45 <sup>b</sup>	5.99 ± 0.53 <sup>c</sup>	52.92 ± 4.66 <sup>cb</sup>
T4	MD+G	5: 2	6.82 ± 0.52 <sup>b</sup>	83.56 ± 6.34 <sup>b</sup>	6.30 ± 0.24 <sup>b</sup>	55.76 ± 2.14 <sup>b</sup>
T5	MD+GG	5: 0.125	5.96 ± 0.26 <sup>c</sup>	73.02 ± 3.32 <sup>c</sup>	5.81 ± 0.13 <sup>c</sup>	51.38 ± 1.10 <sup>cb</sup>
T6	MD+GG	5: 0.250	5.93 ± 0.24 <sup>c</sup>	72.71 ± 2.98 <sup>c</sup>	5.54 ± 0.14 <sup>c</sup>	49.03 ± 1.24 <sup>c</sup>
C.V. (%)			4.16	4.15	4.60	4.60
P Valor			0.0002	<0.0001	0.0079	0.0080

*Nota.* MD: maltodextrina; GG: goma guar; G: gelatina tipo B; EAG: Equivalentes de ácido gálico; M.E. Material Encapsulado; EC Equivalentes de catequina; DE Desviación Estándar; C.V. (%): Coeficiente de Variación; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación; P: probabilidad; a-b-c: medias seguidas de letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa (Valor P < 0.05) en la capacidad de carga y eficiencia de encapsulación de los tratamientos.

#### **Actividad Antioxidante y Actividad Captadora de Radicales**

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia de inhibir la degradación oxidativa principalmente de los radicales libres (Londoño 2012). Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos, tendiendo a capturar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad (Avello y Suwalsky 2006). Estas estructuras químicas se pueden formar a partir de muchas moléculas, pero los derivados de la molécula del oxígeno son los que tienen mayor importancia en patología humana (Paredes Salido y Roca Fernández 2002). Los antioxidantes son los principales secuestrantes de especies reactivas de

oxígeno y nitrógeno, que, en concentraciones bajas comparadas con el sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación (Brainina et al. 2019).

En el Cuadro 5 se pueden observar los resultados obtenidos de la actividad antioxidante, mostrando diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Se detalla que el tratamiento 5 (MD+GG; 5:0.125), obtuvo el resultado más alto en la concentración de compuestos para la actividad antioxidante con una media de 6.38 mM EAG  $g^{-1}$  de material encapsulado. Los valores más bajos los obtuvieron los tratamientos 2 (MD+GG+G; 5: 0.125: 2) y 4 (MD+G; 5: 2), con medias de 5.94 y 5.95 mM EAG  $g^{-1}$  de material encapsulado, respectivamente. La baja actividad antioxidante de los tratamientos 2 y 4 pudo deberse a la agregación de complejos proteicos (Anexo D). En su estudio Arts et al. (2002), relatan que las proteínas al interactuar con los compuestos fenólicos pueden afectar la capacidad antioxidante reduciendo su biodisponibilidad por los complejos formados. Por otro lado Betz et al. (2012), añaden que la encapsulación en dependencia de los materiales de pared utilizados puede influir en la actividad antioxidante.

En relación con la actividad captadora de radicales expresada en porcentaje de inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Se puede observar en el Cuadro 5 que los valores se encuentran en un rango entre 12.24-20.11%, siendo el tratamiento 5 (MD+GG; 5:0.125) el que presentaron mejores resultados con 20.11% de la reducción del radical DPPH. Los tratamientos que presentaron los valores porcentuales más bajos fueron el tratamiento 2 (MD+GG+G; 5:0.125:2) y 4 (MD+G; 5:2) con una media de 12.24% y 12.41%, respectivamente.

La disminución del valor porcentual de inhibición del radical DPPH en los tratamientos con mayor concentración de compuestos bioactivos, estos resultados son similares a los presentados por Manzanarez Tenorio et al. (2020), quienes utilizaron una relación de goma arábiga + gelatina obteniendo porcentajes de actividad captadora de 11.95 - 17.08%. En adición, en su estudio le atribuyen la reducción de la inhibición a la interacción de las proteínas con las gomas. También, se puede atribuir a la polimerización de las proteínas, las cuales según Ifeduba y Akoh (2015), poseen un efecto antagónico a la inhibición debido a la organización estructural que se forma en la coacervación.

Por ende, la baja actividad captadora de radicales puede estar asociada a la interacción de los agentes utilizados como materiales de pared. El efecto de la polimerización y la unión entre agentes encapsulantes explica por qué los tratamientos que no contienen proteína (gelatina) en su composición, presentaron un mayor índice de inhibición y actividad antioxidante, aunque estos obtengan un valor significativamente menor de compuestos bioactivos encapsulados.

### Cuadro 5

*Actividad antioxidante y actividad captadora de radicales de microcápsulas obtenidas mediante coacervación.*

Tratamiento	Agente encapsulante	Relación	Actividad antioxidante (mM EAG/g ME) $\pm$ DE	Actividad captadora de radicales (%) $\pm$ DE
1	MD+GG+G	5: 0.125: 1	6.05 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	14.21 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>
2	MD+GG+G	5: 0.125: 2	5.94 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	12.24 $\pm$ 0.50 <sup>d</sup>
3	MD+G	5: 1	6.04 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	14.06 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>
4	MD+G	5: 2	5.95 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	12.41 $\pm$ 0.52 <sup>d</sup>
5	MD+GG	5: 0.125	6.38 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	20.11 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>
6	MD+GG	5: 0.250	6.32 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	19.09 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>
CV (%)			2.04	0.29
P Valor			<0.0001	<0.0001

*Nota:* MD: Maltodextrina; GG: Goma guar; G: Gelatina; mM: mili moles; EAG Equivalentes ácido gálico; M.E.: Material encapsulado; DE

Desviación Estándar; C.V. (%): Coeficiente de Variación; <sup>a-b-c-d</sup>: Letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa

(Valor P < 0.05) en la actividad antioxidante y actividad captadora de radicales.

### **Conclusiones**

La actividad de agua y solubilidad no fueron afectadas al cambiar las proporciones de materiales pared, sin embargo, la tonalidad y saturación en color fueron diferentes, presentando tonalidades amarillentas.

Se determinó una mayor cantidad de compuestos bioactivos y una mayor eficiencia de encapsulación en las cápsulas con materiales de pared donde interactúan proteínas y polisacáridos.

Se determinó una mayor actividad antioxidante y actividad captadora de radicales en los tratamientos donde solo se tiene polisacáridos, la menor actividad antioxidante se atribuye a la polimerización de las proteínas.



### **Recomendaciones**

Evaluar la incorporación y comportamiento del material encapsulado en alimentos/bebidas para el desarrollo de nuevos productos.

Realizar un estudio de liberación y biodisponibilidad de compuestos bioactivos para determinar el comportamiento de los materiales encapsulantes.

Desarrollar un estudio morfológico del polvo encapsulado mediante microscopio electrónico de barrido.

Realizar un perfil de polifenoles y flavonoides mediante un análisis de HPLC para una cuantificación específica de compuestos bioactivos.

Evaluar otros factores para determinar el efecto separado de cada material de pared sobre la encapsulación.

## Referencia

- Abdul Rahman MN, Khair Azlan Jamalulail SAS. 2012. Extractions, physicochemical characterizations and sensory quality of chicken feet gelatin [Publicación universitaria]. Malaysia.: Universiti Malaysia Sabah, School of Food Science and Nutrition; [consultado el 1 de jun. de 2022]. [https://www.researchgate.net/publication/235338137\\_Extractions\\_Physicochemical\\_Characterizations\\_and\\_Sensory\\_Quality\\_of\\_Chicken\\_Feet\\_Gelatin](https://www.researchgate.net/publication/235338137_Extractions_Physicochemical_Characterizations_and_Sensory_Quality_of_Chicken_Feet_Gelatin).
- Aguilar-Paredes OA, Castillo-Guevara C, Díaz-Godínez R, Nieto-Camacho A, Méndez-Iturbide D. 2018. Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *mexjbiotechnol*. 3(1):60–72. doi:10.29267/mxjb.2018.3.1.60.
- Ahmed M, Akter MS, Lee J-C, Eun J-B. 2010. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*. 43(9):1307–1312. doi:10.1016/j.lwt.2010.05.014.
- Akhavan Mahdavi S, Jafari SM, Assadpoor E, Dehnad D. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *Int J Biol Macromol*. 85:379–385. eng. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011.
- Araújo JSF de, Souza EL de, Oliveira JR, Gomes ACA, Kotzebue LRV, Da Silva Agostini DL, Oliveira DLV de, Mazzetto SE, Da Silva AL, Cavalcanti MT. 2020. Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *Int J Biol Macromol*. 143:991–999. eng. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160.
- Arts MJTJ, Haenen GRMM, Wilms LC, Beetstra SAJN, Heijnen CGM, Voss H-P, Bast A. 2002. Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 50(5):1184–1187. eng. doi:10.1021/jf010855a.
- Avello M, Suwalsky M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea Concepción*. (494). doi:10.4067/S0718-04622006000200010.
- Badui Dergal S, editor. 2006. *Química de los Alimentos*. 4ª ed. México: Perason. ISBN: 970-26-0670-5.
- Bakowska-Barczak AM, Kolodziejczyk PP. 2011. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*. 34(2):1301–1309. doi:10.1016/j.indcrop.2010.10.002.
- Betz M, Steiner B, Schantz M, Oidtmann J, Mäder K, Richling E, Kulozik U. 2012. Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*. 47(1):51–57. doi:10.1016/j.foodres.2012.01.010.
- Brainina K, Stozhko N, Vidrevich M. 2019. Antioxidants: Terminology, Methods, and Future Considerations. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 8(8). eng. doi:10.3390/antiox8080297.
- Bustamante A, Hinojosa A, Robert P, Escalona V. 2017. Extraction and microencapsulation of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* var. *Wonderful*) residues. *International Journal of Food Science & Technology*. 52(6):1452–1462. doi:10.1111/ijfs.13422.
- Carrillo Alvarado SD. 2019. Cuantificación de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps sinensis* para su uso potencial como aditivo alimentario [Tesis]. Honduras:

- Zamorano; [consultado el 29 de may. de 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6502/1/AGI-2019-T014.pdf>.
- Castañeda Najarro BC. 2017. Aspectos químicos y bioactivos de dos matrices naturales originarias de El Salvador: “chipilín” y “tenquique”. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/14770>.
- 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.
- Coronado M, Vega y León S, Gutiérrez R, Vásquez M. 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Chil Nutr. 42(2):206–2012. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>.
- Domínguez Gonzáles KDC. 2019. Microencapsulación de extractos metanólicos de *Crotalaria longirostrata* [Tesis]. México: Tecnológico Nacional de México; [consultado el 29 de may. de 2022]. <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3366/MDRPIBQ2018056.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Dong W, Cheng K, Hu R, Chu Z, Zhao J, Long Y. 2018. Effect of Microwave Vacuum Drying on the Drying Characteristics, Color, Microstructure, and Antioxidant Activity of Green Coffee Beans. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. 23(5). eng. doi:10.3390/molecules23051146.
- Drioli E, Giorno L, editores. 2016. Encyclopedia of Membranes. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-662-44323-1.
- Fang Z, Bhandari B. 2010. Encapsulation of polyphenols – a review. Trends in Food Science & Technology. 21(10):510–523. doi:10.1016/j.tifs.2010.08.003.
- González Gallego, Martínez Flores. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 6:271–278.
- Ifeduba EA, Akoh CC. 2015. Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in complex coacervates modified for enhanced stability. Food Hydrocolloids. 51:136–145. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.05.008.
- Jiménez-Aguilar DM, Grusak MA. 2015. Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. Plant Foods Hum Nutr. 70(4):357–364. eng. doi:10.1007/s11130-015-0512-7.
- Lagunes Espinoza C. 2020. Chipilín y chiles: tesoros escondidos de la cocina chontal. Tabasco, Periférico Carlos A. Molina S/N: Laboratorio de Fisiología Vegetal; [actualizado 30 de Abril]. <http://agroregion.com/articulo?id=115>.
- Londoño J. 2012. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Colombia: Universidad Lasallista; [consultado el 31 de may. de 2022]. <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>.
- Manzanarez Tenorio LE, Ruiz Cruz S, Marquez Rios E, Omelas Paz JdJ, Del Toro Sanchez CL. 2020. Microencapsulación de extractos de higo (*Ficus carica*) por coacervación compleja y evaluación de su capacidad antioxidante. Bio Técnica. 12(2):70–77. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-14562020000200070](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-14562020000200070).
- Mathias-Rettig K, Ah-Hen K. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. Agro Sur. 42(2):57–66. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07.

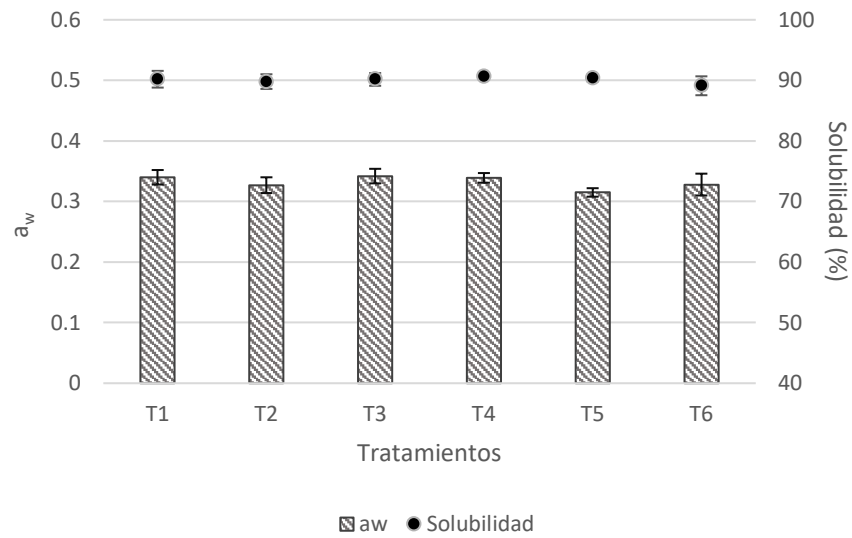
- Muzaffar K, Wani SA, Dinkarrao BV, Kumar P. 2016. Determination of production efficiency, color, glass transition, and sticky point temperature of spray-dried pomegranate juice powder. *Cogent Food & Agriculture*. 2(1). doi:10.1080/23311932.2016.1144444.
- Navarro-Flores MJ, Ventura-Canseco LMC, Meza-Gordillo R, Del Ayora-Talavera TR, Abud-Archila M. 2020. Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *J Food Sci Technol*. 57(11):4111–4122. eng. doi:10.1007/s13197-020-04447-w.
- Nori MP, Favaro-Trindade CS, Matias de Alencar S, Thomazini M, Camargo Balieiro JC de, Contreras Castillo CJ. 2011. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*. 44(2):429–435. doi:10.1016/j.lwt.2010.09.010.
- Paini M, Aliakbarian B, Casazza AA, Lagazzo A, Botter R, Perego P. 2015. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT - Food Science and Technology*. 62(1):177–186. doi:10.1016/j.lwt.2015.01.022.
- Palacio Márquez A, Sánchez Chávez E. 2017. Influencia de la variedad, portainjerto y época de cosecha en la calidad e índices de madurez en pimiento morrón. *Nova Scientia*. 9(19):1. doi:10.21640/ns.v9i19.823.
- Paredes Salido F, Roca Fernández J. 2002. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm*; [consultado el 31 de may. de 2022]. 7(21). <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-influencia-los-radicales-libres-el-13034834>.
- Pérez Valladares AJ. 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 29 de may. de 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/9713a679-c358-4240-8ea3-6a876cc646da/content>.
- Rambaran TF. 2020. Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*. 2(8). doi:10.1007/s42452-020-3110-8.
- Ramírez-Navas JS. 2016. Extracción de flavonoides totales de la envoltura externa de cebolla roja (*Allium cepa*). *UGCiencia*. 22(1):119. doi:10.18634/ugcj.22v.1i.599.
- Ribeiro MA, Estevinho BN, Rocha F. 2020. Microencapsulation of polyphenols - The specific case of the microencapsulation of *Sambucus Nigra* L. extracts - A review. *Trends in Food Science & Technology*. 105:454–467. doi:10.1016/j.tifs.2019.03.011.
- Robert P, Torres V, García P, Vergara C, Sáenz C. 2015. The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT - Food Science and Technology*. 60(2):1039–1045. doi:10.1016/j.lwt.2014.10.038.
- Sailema Ortiz ML. 2019. Extracción simultánea de polifenoles totales y flavonoides totales en hojas de *Fragaria* spp. [Tesis]. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; [consultado el 30 de may. de 2022]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29997/1/BQ%20190.pdf>.
- Sarabandi K, Jafari SM, Mahoonak AS, Mohammadi A. 2019. Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *Int J Biol Macromol*. 140:59–68. eng. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133.
- Scalbert A, Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*. 130(8S Suppl):2073S-85S. eng. doi:10.1093/jn/130.8.2073s.

- Serra Valdés MÁ, Serra Luis M, Viera García M. 2018. Non Transmissible Chronic Diseases: Current Magnitude and Future Trends Non Transmissible Chronic Diseases: Current Magnitude and Future Trends. *Finaly*. 8(2):1–8. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2221-24342018000200008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342018000200008).
- Silva DF, Favaro-Trinidade CS, Rocha GA, Thomazini M. 2012. Microencapsulation of lycopene by gelatin-pectin complex coacervation. *Journal of Food Processing and Preservation*. 36(2):185–190. doi:10.1111/j.1745-4549.2011.00575.x.
- Simon-Brown K, Solval KM, Chotiko A, Alfaro L, Reyes V, Liu C, Dzandu B, Kyereh E, Goldson Barnaby A, Thompson I, et al. 2016. Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology. *LWT - Food Science and Technology*. 70:119–125. doi:10.1016/j.lwt.2016.02.030.
- Syamaladevi RM, Insan SK, Dhawan S, Andrews P, Sablani SS. 2012. Physicochemical Properties of Encapsulated Red Raspberry (*Rubus idaeus*) Powder: Influence of High-Pressure Homogenization. *Drying Technology*. 30(5):484–493. doi:10.1080/07373937.2011.647369.
- Tolve R, Condelli N, Can A, Tchuenbou-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.
- Tonon RV, Brabet C, Pallet D, Brat P, Hubinger MD. 2009. Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science & Technology*. 44(10):1950–1958. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x.
- Trandafir I, Nour V, Ionica ME. 2013. Antioxidant capacity, phenolic acids and caffeine contents of some commercial coffees available on the Romanian market. *Arch Latinoam Nutr*. 63(1):87–94. eng.
- Vallejo Zamudio E, Rojas Velásquez A, Torres Bugarín O. 2017. Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes. *El Residente*. 12(3):104–111. <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr173d.pdf>.
- Vega A, León JA de, Reyes SM. 2017. Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Información tecnológica*. 28(4):29–38. doi:10.4067/S0718-07642017000400005.
- Vila Jato JL, Lastres García JL. D.L. 2008. *Tecnología farmacéutica*. Madrid: Síntesis. 623 p. (Síntesis farmacia; vol. 5). ISBN: 84-7738-537-8.
- Zhang J, Li H-H, Chen Y-F, Chen L-H, Tang H-G, Kong F-B, Yao Y-X, Liu X-M, Lan Q, Yu X-F. 2020. Microencapsulation of immunoglobulin Y: optimization with response surface morphology and controlled release during simulated gastrointestinal digestion. *J Zhejiang Univ Sci B*. 21(8):611–627. eng. doi:10.1631/jzus.B2000172.

## Anexos

## Anexo A

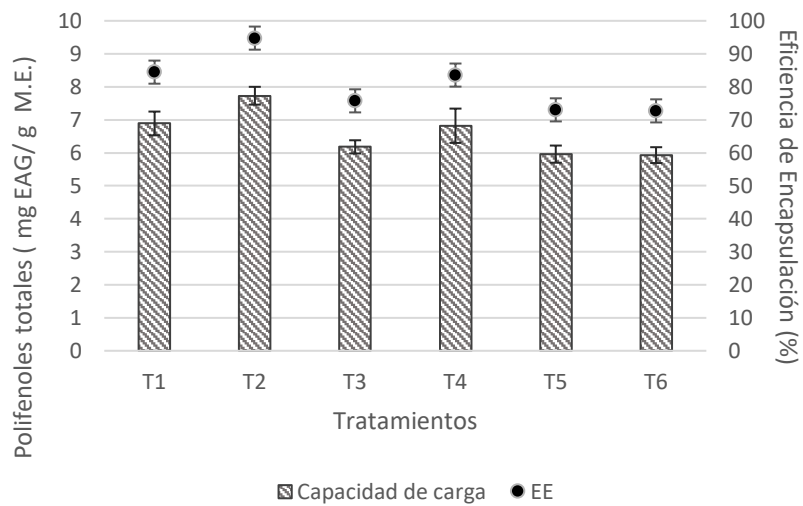
*Grafica de análisis físico de actividad de agua ( $a_w$ ) y solubilidad de microcápsulas obtenidas por liofilización utilizando diferentes agentes encapsulantes.*



Nota.  $a_w$ : actividad de agua. T1 (MD+GG+G; 5:0.125:1), T2 (MD+GG+G; 5:0.250:2), T3 (MD+G; 5:1), T4 (MD+G; 5:2), T5 (MD+GG; 5:0.125), T6 T3 (MD+G; 5:0.250)

## Anexo B

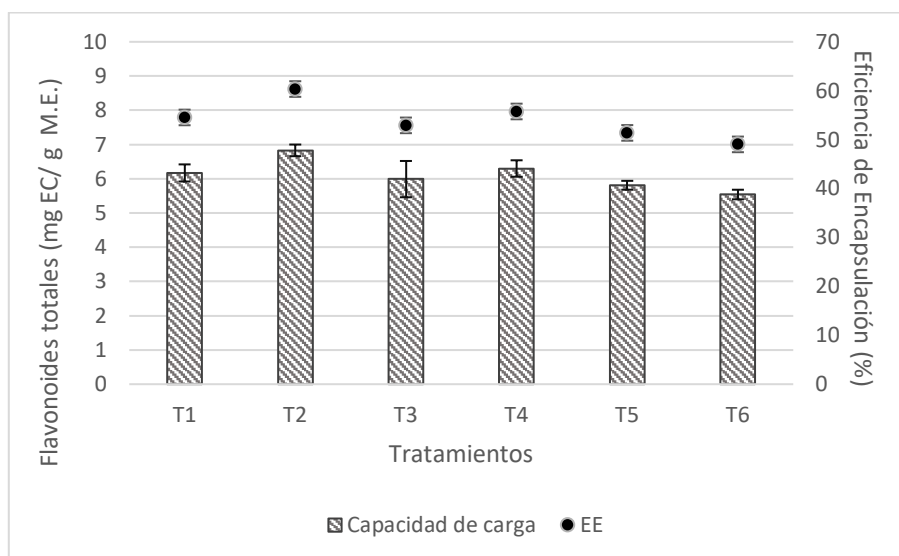
*Efecto de los diferentes tratamientos de encapsulación en el contenido de polifenoles totales representados en capacidad de carga (mg EAG/g M.E) y la eficiencia de encapsulación (EE %) de extracto etanólico de chipilín.*



*Nota.* EE: Eficiencia de Encapsulación; EAG: equivalente de ácido gálico; M.E. Material Encapsulado. T1 (MD+GG+G; 5:0.125:1), T2 (MD+GG+G; 5:0.250:2), T3 (MD+G; 5:1), T4 (MD+G; 5:2), T5 (MD+GG; 5:0.125), T6 T3 (MD+G; 5:0.250)

### Anexo C

*Efecto de los diferentes tratamientos de encapsulación en el contenido de flavonoides totales representados en capacidad de carga (mg EC/g M.E) y la eficiencia de encapsulación (EE %) de extracto etanólico de chipilín.*

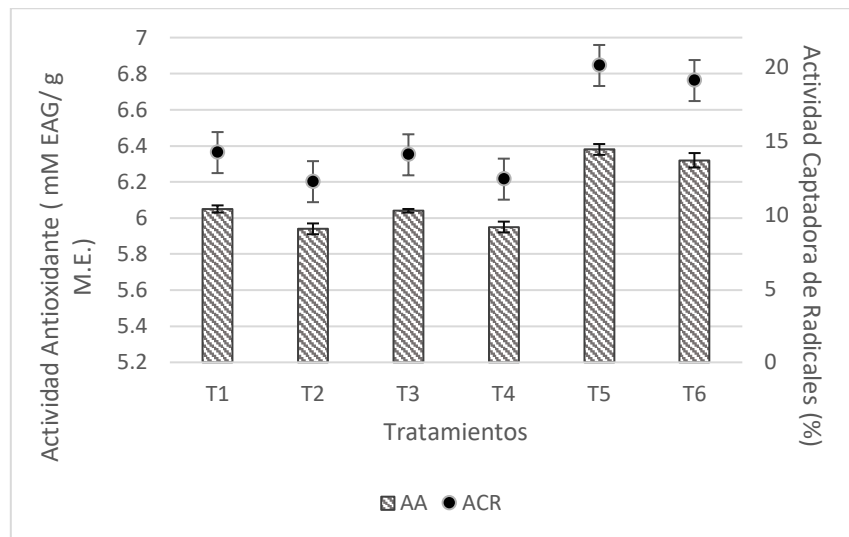


Nota. EE: Eficiencia de Encapsulación; EC: Equivalentes de Catequina; M.E. Material Encapsulado. T1 (MD+GG+G; 5:0.125:1), T2 (MD+GG+G; 5:0.250:2), T3 (MD+G; 5:1), T4 (MD+G; 5:2), T5 (MD+GG; 5:0.125), T6 T3 (MD+G; 5:0.250)



## Anexo D

Grafica actividad antioxidante y actividad captadora de radicales (%) de tratamientos encapsulados.



Nota. AA: Actividad Antioxidante; ACR: Actividad Captadora de Radical (%); M.E. Material Encapsulado; EAG: Equivalentes de ácido gálico;

T1: (MD+GG+G; 5:0.125:1), T2 (MD+GG+G; 5:0.250:2), T3 (MD+G; 5:1), T4 (MD+G; 5:2), T5 (MD+GG; 5:0.125), T6 T3 (MD+G; 5:0.250)