



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado



Facultad de Ingeniería Química
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

Maestría en Ingeniería Química

TESIS

ENCAPSULACIÓN DE α -TOCOFEROL MEDIANTE LA TÉCNICA DE
EXTRUSIÓN Y SU INCORPORACIÓN A MUFFINS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO EN
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA

ING. DAVID TOCHIHUITL VÁZQUEZ

ASESOR DE TESIS:

DRA. VERÓNICA SANTACRUZ VÁZQUEZ

Diciembre de 2015.



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA



ACTA DE REVISIÓN, LIBERACIÓN E IMPRESIÓN DE TESIS

Nombre del (la) estudiante: DAVID TOCHIHUITL VÁZQUEZ

Matrícula: 214703115

Nombre del asesor(a): DRA. VERONICA SANTACRUZ VÁZQUEZ

Nombre del coasesor(a): M.I. JOSÉ OSCAR LAGUNA CORTÉS

Título de la Tesis:

ENCAPSULACION DE α TOCOFEROL MEDIANTE LA TÉCNICA DE EXTRUSION Y SU INCORPORACION A MUFFINS.

Comisión Revisora:

Presidente: DRA. CLAUDIA SANTACRUZ VÁZQUEZ

Firma:

Secretario(a): MI. MARÍA JUANA PAREDES BAUTISTA

Firma:

Vocal (1): M.I. JOSÉ OSCAR LAGUNA CORTÉS

Firma:

Vocal (2): DRA. VERONICA SANTACRUZ VÁZQUEZ

Firma:

Los integrantes de la Comisión Revisora expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de maestría que presenta el (la) estudiante arriba indicado, por lo que **estamos de acuerdo en que se proceda con la impresión definitiva de la tesis y que el (la) estudiante presente su defensa y examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.**

Fecha de examen: 16 de diciembre de 2015

Hora: 12 horas

Día de la semana: Miércoles

Lugar:



ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
HIPÓTESIS	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
Objetivos específicos.....	5
1. MARCO TEÓRICO	7
1.1. Alimentos funcionales.....	7
1.2. Implicaciones de los antioxidantes en la salud.....	9
1.3. Antioxidantes α -tocoferol.....	10
1.4. Mecanismos celulares en el cuerpo humano	13
1.5. Microencapsulación	14
1.5.1. Encapsulamiento por la técnica de extrusión.....	16
1.5.2. Alginato	19
1.5.3. Mecanismo de gelificación con alginato	21
1.5.4. Encapsulación en emulsión	25
1.6. Importancia de los productos de panificación	26
2. MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1. Preparación de microcápsulas de α – tocoferol	36
2.1.1. Simulación del proceso gástrico de liberación de las cápsulas.....	37
2.1.2. Eficiencia de encapsulación de α – tocoferol.....	38
2.1.3. Análisis de termogravimetría y calorimetría.....	38
2.2. Preparación de muffins	39
2.2.1. Análisis sensorial	40

2.3. Caracterización fisicoquímica del muffin adicionado con microcápsulas de α -tocoferol	41
2.3.1. Cuantificación del contenido de humedad	41
2.3.2. Determinación de color	42
2.3.3. Determinación de actividad de agua (a_w)	43
2.3.4. Determinación de textura	44
2.4. Análisis bromatológico	44
2.4.1. Determinación de cenizas	45
2.4.2. Determinación de proteína	45
2.4.3. Determinación de grasa	46
2.4.4. Determinación de fibra cruda	46
2.5. Análisis microbiológico.....	47
2.5.1. Determinación de mesófilos aerobios.....	47
2.5.2. Determinación de coliformes totales.....	48
2.5.3. Determinación de hongos y levaduras.....	48
2.6. Análisis de datos.....	48
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
3.1. Caracterización de cápsulas de α -tocoferol	50
3.1.1. Tamaño de partícula de las cápsulas	50
3.1.2. Estudio de liberación simulada en condiciones gástricas in vitro...51	
3.1.3. Eficiencia de encapsulación	53
3.1.4. Análisis termogravimétrico	55
3.1.5. Análisis térmico de las cápsulas.....	56
3.1.6. Esfuerzo cortante y velocidad de corte.....	57
3.2. Selección de la formulación de muffin.....	59
3.2.1. Análisis sensorial	60
3.3. Caracterización fisicoquímica del muffin adicionado con microcápsulas de α -tocoferol	63

3.3.1. Determinación de humedad	64
3.3.2. Determinación de color	65
3.3.3. Determinación de actividad de agua (aw).....	67
3.3.4. Textura.....	68
3.4. Análisis bromatológico	68
3.5. Evaluación microbiológica	70
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
5. BIBLIOGRAFÍA	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1: Antioxidantes exógenos (Delgado-Olivares et al., 2010)	8
Cuadro 1.2: Nombre de los distintos tipos de tocoferol (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996)	12
Cuadro 2.1: Formulaciones con las distintas concentraciones utilizadas (Elaboración propia).	37
Cuadro 2.2: Formulaciones de muffins para la obtención del producto final (Elaboración propia).	39
Cuadro 3.1: Eficiencia de encapsulación de las cápsulas estudiadas (Elaboración propia).	55
Cuadro 3.2: Parámetros de la ecuación de la Ley de Potencia (LP), n y K (índice de flujo e índice de consistencia) (Elaboración propia).	59
Cuadro 3.3: Evaluación sensorial (Elaboración propia).....	62
Cuadro 3.4: Preparación del muffin con T2 (Elaboración propia).....	63
Cuadro 3.5: Humedad de los muffins con y sin cápsulas (Elaboración propia). ..	64
Cuadro 3.6: Medición de color valores L*, a*, b* y diferencia de color total hue and chroma (Elaboración propia).	66
Cuadro 3.7: Determinación de aw en el muffin (Elaboración propia).....	67
Cuadro 3.8: Análisis de textura (Elaboración propia).	68
Cuadro 3.9: Análisis bromatológico (Elaboración propia).....	69
Cuadro 3.10: Información nutrimental del muffin (Elaboración propia).	70
Cuadro 3.11: Composición nutrimental del muffin (Elaboración propia).	70
Cuadro 3.12: Cuentas microbianas obtenidas para la F2 sin cápsulas durante su almacenamiento a temperatura ambiente (Elaboración propia).	71
Cuadro 3.13: Cuentas microbianas obtenidas para la F2 con cápsulas durante su almacenamiento a temperatura ambiente (Elaboración propia).	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Estructura general del tocoferol (Bauernfeind & Desai 1977).....	11
Figura 1.2: Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que se generan en el cuerpo (Roleira et al., 2015)	13
Figura 1.3: Ecuaciones que describen el efecto antioxidante del tocoferol. TH: tocoferol; ROO.: radical peroxil; T.: radical tocoferoxil; T-T y T-OOR: productos no radicalarios. (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996)	14
Figura 1.4: Tipos de microcápsulas (Gibbs et al., 1999.)	15
Figura 1.5: Tipos de dispositivos extrusores a) Atomizador con corte sistémico del chorro, b) Boquilla vibratoria, c) Disco atomizador, d) Flujo de aire coaxial, e) Potencial electrostático. (Zuidam & Shimoni, 2010)	17
Figura 1.6: Estructura química de bloques G, bloques M y bloques alternados en alginato (Lee & Mooney 2012)	20
Figura 1.7: Modelo de caja de huevo con hidrogeles de alginato preparados por entrecruzamiento iónico. Solo bloques G participan en la formación de estructura de caja de huevo corrugada con intersticios en los que se colocan los iones de calcio. (Lee & Mooney, 2012).	21
Figura.1.8: Mecanismos de gelificación iónica (Helgerud et al., 2010.)	22
Figura 1.9: Técnicas de microencapsulación en emulsión (Champagne & Fustier, 2007).	26
Figura 1.10: Estructuras de la amilosa, amilopectina y dextrina. (Serna, 2001).	28
Figura 2.1: α -tocoferol y colorante a) preparación de emulsión de α -tocoferol con material de pared b) formación de cápsulas de α -tocoferol c) (Elaboración propia).	37
Figura 2.2: Proceso de elaboración de muffins (elaboración propia).....	40

Figura 2.3: Determinación de humedad de la muestra de muffin (Elaboración propia).....	42
Figura 2.4: Espacio tridimensional CIELAB a) y espectrofotómetro–colorímetro Hunter Lab b) (Elaboración propia).....	43
Figura 2.5: Medición de a_w de las muestras de muffins (Elaboración propia)....	43
Figura 2.6: Propiedades texturales del muffin (Elaboración propia).	44
Figura 3.1: Cápsulas de α – tocoferol (Elaboración propia)	50
Figura 3.2: Cápsula de α – tocoferol a) y tratamiento a pH = 1.7 b) (Elaboración propia).	51
Figura 3.3: Proceso de liberación simulada en condiciones gástricas in vitro (Elaboración propia)	52
Figura 3.4: Señales cromatográficas de las cápsulas de α –tocoferol F1 y F2 (Elaboración propia)	54
Figura 3.5: Análisis TGA en las formulaciones F1 y F2 usando alginato de sodio y α –tocoferol como control (Elaboración propia).	56
Figura 3.6: Termograma de las formulaciones F1 y F2 usando como control alginato de sodio y α -tocoferol (Elaboración propia)	57
Figura 3.7: Dependencia entre el gradiente de velocidad y la tensión de corte de las formulaciones F1 y F2 (Elaboración propia).	58
Figura 3.8: Aceptación sensorial de las formulaciones de muffin (T1, T2 y T3) (Elaboración propia).	61
Figura 3.9: Micrografías del muffin sin cápsulas a) con cápsulas b) (Elaboración propia)	64

INTRODUCCIÓN

El papel de los antioxidantes en la salud humana ha sido ampliamente reconocido por varias investigaciones y se ha incrementado el interés de la industria alimentaria para aplicaciones en alimentos, debido a la tendencia creciente en la preferencia del consumidor por antioxidantes naturales sobre los sintéticos (Fu *et al.*, 2011). Sin embargo los antioxidantes son fácilmente oxidados y sensibles a calor y luz que limitan su aplicación en la industria de alimentos (Chao *et al.*, 2012). Por lo tanto, un tema actual de estudio es el desarrollo de sistemas acarreadores que protejan a estos compuestos contra factores ambientales y perjudiciales y que ayuden a su incorporación dentro de un sistema alimentario. La microencapsulación es una técnica confiable que ha sido usada durante muchas décadas para la protección de compuestos bioactivos bajo la influencia de factores ambientales y degradantes. Esta técnica se basa en una matriz semipermeable de biopolímeros que rodea a los compuestos bioactivos y evita o retarda el contacto con factores ambientales degradantes. Actualmente se está buscando como aprovechar las propiedades fisicoquímicas, funcionales y de liberación de estas matrices biopoliméricas con un costo más eficiente.

El material encapsulante más utilizado es el alginato, un polielectrolito natural aniónico extraído de varias especies de algas y compuesto por unidades (1 – 4) β – D manuronato (M) y α L guluronato (G) que están presentes en una

macromolécula lineal en bloques del homopolímero de cada monómero con bloques juntos o en secuencia alternada. El alginato tiene varias características que hacen que sea un material adecuado y elegido por su bajo costo, uso simple, biodegradable, biocompatible, capacidad de asociación cadena – cadena y formar geles tridimensionales en presencia de cationes divalentes (por ejemplo Ca^{2+}). Sin embargo los geles de alginato son susceptibles a desintegrarse en presencia de exceso de iones monovalentes, el agente quelante Ca^{2+} y fuertes ambientes químicos (Lozano–Vazquez *et al.*, 2015).

La vitamina E es uno de los compuestos nutraceuticos que está atrayendo la atención de investigadores y fabricantes de alimentos debido a su capacidad antioxidante y actividad biológica. El término de vitamina E es usado para describir una familia de cuatro moléculas de estructura relacionada en que, la actividad química y biológica son en su mayoría dominados por α – tocoferol (Schneider, 2005). Es por ello que el objetivo de esta investigación fue obtener y caracterizar fisicoquímica, nutricional y sensorialmente un producto de panificación funcional enriquecido con cápsulas de α -tocoferol usando alginato de sodio como material encapsulante.

JUSTIFICACIÓN

El rol de los antioxidantes en la salud humana ha sido ampliamente reconocido por varias investigaciones debido a su potencial para combatir el estrés oxidativo; por lo que existe un creciente interés por la industria alimentaria en el desarrollo de alimentos funcionales con antioxidantes.

Sin embargo, los antioxidantes son fácilmente oxidados y sensibles al calor y la luz, limitando su aplicación en la industria alimentaria (Lozano–Vázquez *et al.*, 2015).

El Sistema Nervioso Central humano (SNC) es muy vulnerable a estrés oxidativo debido a sus bajos niveles de enzimas antioxidantes y altos contenidos de sustratos oxidantes por lo que la función principal de un antioxidante es reaccionar con las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RSN) y convertirlos en productos neutros o menos perjudiciales.

Los antioxidantes liberados oralmente son fácilmente destruidos por ácidos y enzimas y solo una pequeña porción de antioxidantes consumido es absorbido lo que conlleva a baja biodisponibilidad y bajas concentraciones en el lugar de destino; por lo tanto existe una urgente necesidad de desarrollar métodos para la liberación eficiente de los antioxidantes en los sitios requeridos (Sandhir *et al.*, 2015).

Entre los diversos mecanismos de entrega, la microencapsulación ha surgido como una herramienta para ser un vehículo de protección para los antioxidantes y con ello evitar su destrucción, así como asegurar una mejor absorción.

HIPÓTESIS

Es posible obtener un producto de panificación funcional enriquecido con capsulas de alfa tocoferol y alginato de sodio como material encapsulante que protegerá al α -tocoferol de los ácidos y enzimas y serán liberadas en condiciones gastrointestinales.

OBJETIVO GENERAL

Obtener y caracterizar fisicoquímica, nutricional y sensorialmente un producto de panificación funcional enriquecido con capsulas de α -tocoferol y alginato de sodio como material encapsulante.

Objetivos específicos

- Optimizar la composición del material encapsulante y condiciones de operación para la obtención de cápsulas de α – tocoferol
- Determinar el contenido de humedad y a_w en las cápsulas de α -tocoferol.
- Diseñar una formulación de muffins funcional y su enriquecimiento con las cápsulas de α -tocoferol.

- Evaluar el comportamiento de las cápsulas en la liberación del compuesto activo en condiciones gastrointestinales simuladas.
- Caracterizar el producto de panificación con parámetros fisicoquímicos, nutricionales y sensoriales del producto de panificación diseñado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Alimentos funcionales

La demanda en una alimentación sana y alimentos convenientes han creado un mercado para los alimentos funcionales. Los alimentos funcionales se definen como alimentos innovadores, fisiológicamente activos, que pueden proporcionar beneficios adicionales a la salud más allá de la nutrición básica.

La fortificación de los alimentos es una de las principales técnicas utilizadas para crear alimentos funcionales y este proceso se define como la adición de uno o más componentes en los alimentos con el propósito de corregir y mejorar una actividad biológica del producto alimentario diseñado (Świeca *et al.*, 2014). Entre algunos ejemplos de alimentos funcionales, destacan aquellos alimentos naturales que contienen ciertos minerales, vitaminas, ácidos grasos, fitoesteroles, fibra y sustancias antioxidantes, así como los alimentos modificados y enriquecidos con este tipo de sustancias o con microorganismos prebióticos (Aggett, 1999). Los alimentos que contienen antioxidantes pueden disminuir los efectos negativos del estrés oxidativo sobre el cuerpo humano y aumentar la calidad de vida de la población. En el Cuadro 1.1 se presenta la acción y el efecto de diversos antioxidantes exógenos.

Cuadro 1.1: Antioxidantes exógenos (Delgado-Olivares et al., 2010)

Antioxidante	Acción antioxidante	Efectos secundarios
Vitamina E (tocoferol)	Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.	NRN*
Vitamina C (ac. ascórbico)	Inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera a la vitamina E, ofrece protección contra todo tipo de cánceres.	Su ingesta en grandes cantidades puede ocasionar presencia de cálculos en riñones o vías urinarias.
b-Caroteno (pro-vitamina A)	Protege al DNA, detiene el deterioro de tejidos.	Su consumo excesivo produce descamaciones de la piel, caída del cabello, debilidad, ahogo y vómito.
Flavonoides (polifenólicos)	Quela metales.	NRN*
Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Cobre (Cu)	Forman parte del núcleo activo de las enzimas con actividad antioxidante, mantienen en buen estado las funciones hepáticas, cardíacas y reproductoras, protector contra el cáncer.	El Se, es el más tóxico de los minerales, su ingestión en dosis altas produce pérdida de cabello, alteración de uñas y dientes, nauseas, vómito y aliento a leche agria.

*NRN. No se reportan efectos nocivos por exceso en su consumo.

1.2. Implicaciones de los antioxidantes en la salud

Diversos factores de riesgo se han asociado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares deteriorativas, entre ellos el estrés oxidativo, fenómeno que conduce a elevadas concentraciones de productos de peroxidación lipídica.

Otro problema de gran incidencia es el cáncer, causa principal de muerte en todo el mundo, afecta aproximadamente a 28.8 millones de personas de los cuales se registraron 7.6 millones de muertes en 2012. El número de muertes a causa de cáncer aumenta de los países de bajos ingresos a los de altos. Los cánceres más comunes diagnosticados en todo el mundo son de pulmón (12,7%), mama (10,9%), colorrectal (9,7%) y estómago (7,81%), entre otros.

Factores tales como el origen étnico, edad, estilo de vida y dieta tiene un impacto significativo en la expresión de esta enfermedad. Se estima que el 30% de las muertes por cáncer se deben a cinco principales factores de riesgo conductuales y dietéticos, incluyendo el alto índice de masa corporal, la falta de actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol y bajo consumo de frutas y hortalizas con antioxidantes.

Se ha descubierto a través de estudios epidemiológicos que la ingesta de vitamina E, la vitamina C y los carotenos protegen contra la aparición de éstas enfermedades deteriorativas.

La vitamina E (tocoferol) es el antioxidante liposoluble más importante, localizado en el medio hidrofóbico de las membranas biológicas, cuya función principal es actuar como antioxidante natural, ya que reacciona con los radicales libres que

se generan en la fase lipídica, protegiendo a los lípidos de las membranas; además de desempeñar una función fisicoquímica (Roleira *et al.*, 2015). En años recientes, los efectos de los antioxidantes en la salud han atraído a investigadores, nutriólogos, ingeniero y diseñadores de productos alimentarios para incluirlos en la dieta. En este contexto, los antioxidantes han recibido recientemente considerable atención como un enfoque prometedor para retrasar o disminuir el estrés oxidativo asociado con estas enfermedades.

1.3. Antioxidantes α -tocoferol

Las vitaminas son micronutrientes esenciales que contribuyen al crecimiento normal y el mantenimiento de la salud. Algunos estudios evidencian el papel de algunas vitaminas y antioxidantes que pueden proteger al cuerpo contra los radicales libres y prevención de enfermedades degenerativas. Los tocoferoles están compuestos por cuatro tipos homólogos de 6-hidroxi cromanoles que poseen actividad de vitamina E en la dieta.

Los compuestos α -, β -, γ - y δ -Tocoferol consisten de un grupo hidroxil en la posición 6 y uno o más grupos metil en las posiciones 5, 7 u 8 del anillo cromanol con un grupo fitilo de 16 carbonos saturados (Figura 1.1). El grupo fitilo tiene 3 centros quirales en los carbonos 2, 4' y 8' (Azzi & Stocker, 2000). Todos los tocoferoles que existen naturalmente, tienen configuración R en las tres posiciones antes mencionadas del grupo fitilo, RRR- α -Tocoferol (2D, 4'D, 8'D). Las posiciones de los grupos metil sobre el anillo cromanol determinan las formas

α -, β -, γ - y δ -Tocoferol (Figura 1.1). Nutricionalmente, el α -tocoferol es el representante más importante del grupo de compuestos con actividad de vitamina E, ya que evita el daño celular por la inhibición de la peroxidación de lípidos, la formación de radicales libres, enfermedades cardiovasculares, mejora la circulación sanguínea, regenerar tejidos y es útil en el tratamiento de senos fibroquísticos y síndrome premenstrual.

Sin embargo no siempre es el más abundante de la serie de tocoferoles en los alimentos (Bauernfeind & Desai 1977).

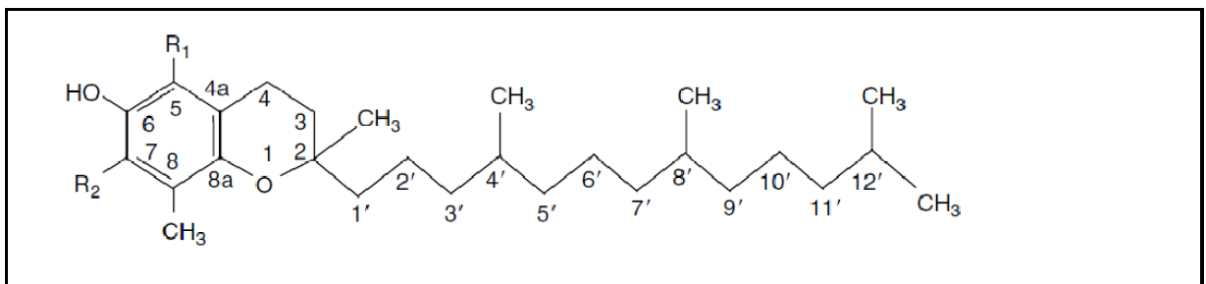


Figura 1.1: Estructura general del tocoferol (Bauernfeind & Desai 1977)

El tocoferol es una molécula capaz de retrasar el deterioro oxidativo, debido a su acción antioxidante, al donar un hidrógeno del grupo 6-hidroxi del anillo cromano al radical peroxil, formando un hidroperóxido y por lo tanto inhibiendo la reacción de propagación. Es así como el tocoferol con un potencial de reducción de 300-400 mV fácilmente dona un hidrógeno al radical peroxil ($\text{ROO}\cdot$) que posee un potencial de reducción de 1000 mV, obteniéndose como resultado un hidroperóxido más un radical tocoferoxil ($\text{T}\cdot$). Los radicales tocoferoxil pueden ser estabilizados por resonancia.

La velocidad de reacción entre el α -tocoferol y los radicales peroxil es 105-106 veces más rápido que la reacción entre los lípidos insaturados y el radical peroxil (Choe & Min, 2005). Además los radicales tocoferoxil son capaces de reaccionar con radicales peroxil para formar productos no radicalarios (T-T y T-OOL) (Figura 1.3) (kamal–Eldin & Appelqvist, 1996).

En el Cuadro 1.2 se presenta el nombre químico y trivial de las diferentes estructuras de tocoferol.

Cuadro 1.2: Nombre de los distintos tipos de tocoferol (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996)

Nombre trivial	Nombre Químico	R ₁	R ₂
α -Tocoferol	5,7,8-Trimetiltocoferol/tocotrienol	CH ₃	CH ₃
β -Tocoferol	5,8-Dimetiltocoferol/tocotrienol	CH ₃	H
γ -Tocoferol	7,8-Dimetiltocoferol/tocotrienol	H	CH ₃
δ -Tocoferol	8-Metiltocoferol/tocotrienol	H	H

Sin embargo, la vitamina E es muy inestable, ya que se oxida lentamente por el oxígeno atmosférico a través de la reacción catalizada por luz y calor en presencia de metales como la plata y el hierro.

Por ello es deseable la búsqueda de técnicas que permitan la protección de moléculas altamente sensibles a la oxidación, encontrando entre ellas a la encapsulación.

1.4. Mecanismos celulares en el cuerpo humano

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) se generan continuamente en el cuerpo humano como consecuencia de la actividad bioenergética de la mitocondria, metabolismo oxidativo y función inmune (Figura 1.2). Las formas frecuentes de ROS incluyen en su mayoría especies radicales tales como el anión superóxido (O_2^-), radical hidroxil ($HO\cdot$) y radical perhidroxil ($HOO\cdot$) y radicales peróxido de hidrógeno (H_2O_2); RNS incluye óxido nítrico ($\cdot NO$) y peroxinitrilo ($ONOO^-$). El estrés oxidativo y nitrosativo es un mecanismo patológico importante que contribuye significativamente a la aparición de varias enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. En la Figura 1.2 se presenta un diagrama de los daños generados por los procesos oxidativos a nivel celular.

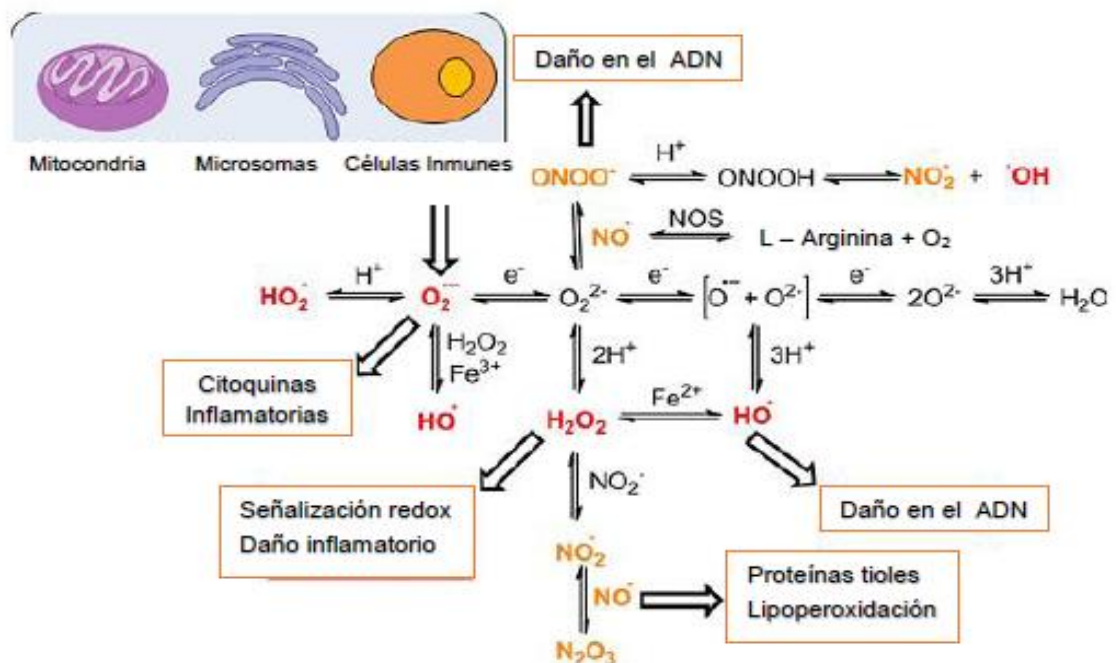


Figura 1.2: Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que se generan en el cuerpo (Roleira et al., 2015)

En la Figura 1.3 se presentan las ecuaciones antioxidantes del tocoferol

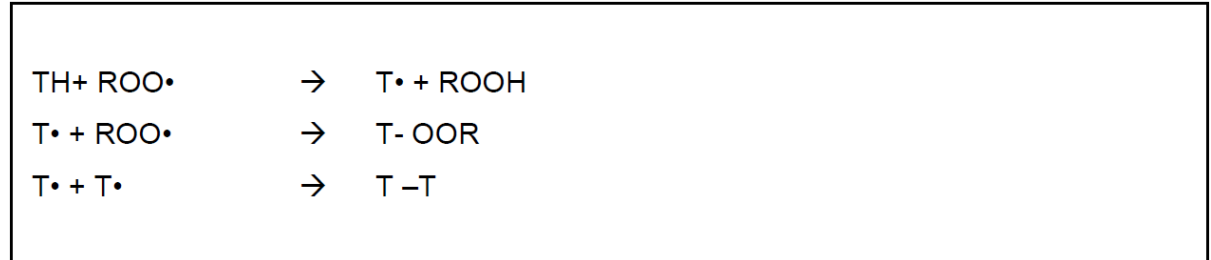


Figura 1.3: Ecuaciones que describen el efecto antioxidante del tocoferol. TH: tocoferol; ROO.: radical peroxil; T.: radical tocoferoxil; T-T y T-OOR: productos no radicalarios. (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996)

El estrés oxidativo y nitrosativo ocurre cuando las defensas antioxidantes celulares son insuficientes para mantener los niveles de especies reactivas por debajo del umbral tóxico. Este resultado puede ser a la producción excesiva de especies reactivas y/o deficiencia de antioxidantes (Roleira *et al.*, 2015).

1.5. Microencapsulación

La microencapsulación se describe como una técnica en la que un compuesto bioactivo se encapsula por un biopolímero o mezcla de biopolímeros para protegerlo del oxígeno, humedad u otros factores que le provocan deterioro y con ello mejorar su estabilidad. En la industria alimentaria, esta técnica se ha utilizado ampliamente para proteger a los ingredientes de alimentos contra el deterioro, la pérdida de la volatilidad, o la interacción prematura con otros ingredientes.

Varios materiales han sido encapsulados en la industria alimentaria, aminoácidos, vitaminas, minerales, antioxidantes, colorantes, enzimas y edulcorantes.

El mecanismo de protección es formar una membrana (sistema de pared) para encerrar las gotitas o partículas del material encapsulado (núcleo) (Liqin *et al.*, 2011). Las microcápsulas pueden tener forma esférica o irregular dependiendo de la técnica de microencapsulación. Asimismo, pueden estar constituidas por una membrana simple, múltiples capas e incluso núcleos múltiples cuya matriz puede ser del mismo material o una combinación de varios tal como se muestra en la Figura.1.4 (Gibbs *et al.*, 1999).

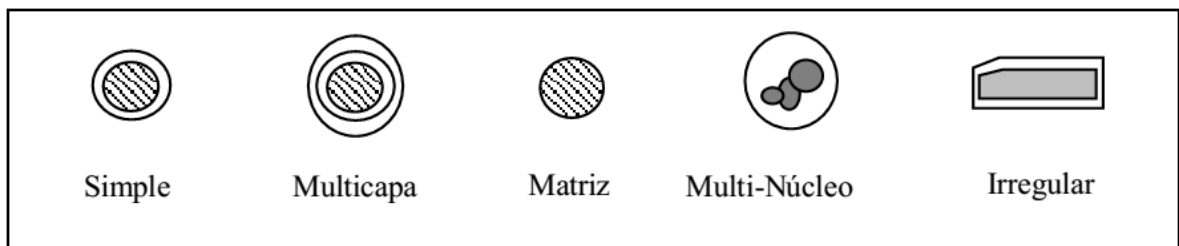


Figura 1.4: Tipos de microcápsulas (Gibbs *et al.*, 1999.)

Varios métodos han sido propuestos para la producción de microcápsulas. En general, estos métodos pueden ser divididos en tres grupos (Yañez, *et al.*, 2002):

- Procesos físicos: secado por aspersion, extrusión y recubrimiento por aspersion.
- Procesos fisicoquímicos: coacervación simple o compleja y atrapamiento en liposomas.
- Procesos químicos: polimerización interfacial e inclusión molecular.

La selección de la técnica de encapsulación adecuada se ve determinada por las propiedades físico-químicas del material pared y la aplicación final deseada con el objeto de asegurar la biodisponibilidad de los compuestos, su funcionalidad e incluso su fácil incorporación en los alimentos sin la alteración de sus

propiedades sensoriales (Pal *et al.*, 2009). En esta investigación se utilizó la técnica de encapsulación por extrusión.

1.5.1. Encapsulamiento por la técnica de extrusión

La técnica consiste en la formación de gotas de la solución de alginato que contiene el componente a encapsular al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de tamaño y velocidad de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que contiene la fuente del ion divalente, quien induce la gelificación mediante el mecanismo de gelificación externa (Chan *et al.*, 2009). La principal limitación presentada por esta técnica ha sido el gran tamaño de las microcápsulas, lo cual depende del diámetro de la boquilla del dispositivo extrusor. Entre otras desventajas, la dificultad de producción a gran escala debido a que la formación de las microcápsulas se logra una a una lo cual trae como consecuencia largos tiempos de gelificación (Mofidi *et al.*, 2000).

Adicionalmente, es de considerar aspectos que influyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación (Chan *et al.*, 2009). A pesar de todos estos factores, la técnica de microencapsulación por extrusión ha sido empleada tradicionalmente al permitir la producción de microcápsulas con tamaños uniformes.

Estudios recientes demuestran que la aplicación de esta técnica mejora notablemente, al incorporar dispositivos extrusores como boquillas múltiples y

discos aspersores (Champagne *et al.*, 2000), inyectores con impulsos vibratorios (Dohnal & Štěpánek, 2010) e incluso con flujo de aire incorporado (Mark *et al.*, 2009), todos diseñados bajo el mismo objetivo (Zuidam & Shimoni, 2010).

Se presentan diferentes tipos de dispositivos extrusores para la preparación de microcápsulas (Fig. 1.5).

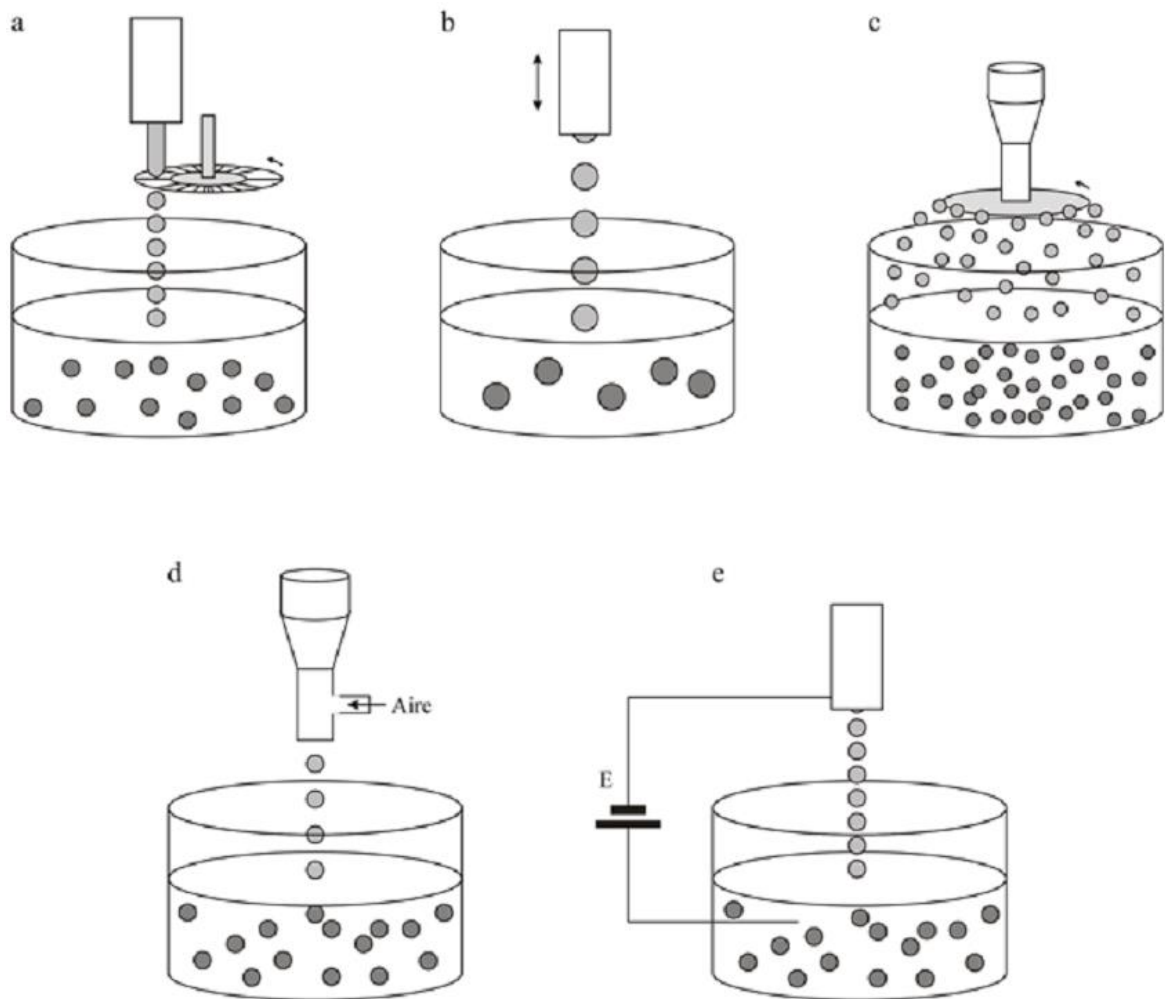


Figura 1.5: Tipos de dispositivos extrusores a) Atomizador con corte sistémico del chorro, b) Boquilla vibratoria, c) Disco atomizador, d) Flujo de aire coaxial, e) Potencial electroestático. (Zuidam & Shimoni, 2010)

La microencapsulación por extrusión involucra el paso de una emulsión del material activo y el material pared a través de un dado a alta presión. Esta técnica

constituye el segundo proceso más usado, después del secado por aspersión, para la encapsulación de sabores. Los materiales pared que se utilizan para el encapsulamiento pueden ser gelatina, grasas, aceites, goma arábiga, alginato de calcio, ceras, almidón de trigo, maíz, arroz, papa, nylon, ciclodextrina, maltodextrina, caseinato de sodio, proteína de soya, entre otros (Yañez *et al.*, 2002). Según lo descrito por Yañez *et al.*, (2002) el método consiste en preparar una dispersión de biopolímeros adicionada con el material pared a encapsular, la cual es extruida a través de la aguja de una jeringa, para formar gotas que caen libremente a una disolución en la que gelifican y endurecen posteriormente. La disolución contiene cationes de calcio (Ca^{2+}), en forma de cloruro de calcio (CaCl_2). Las gotas gelifican instantáneamente, atrapando el material activo en una matriz tridimensional. El tamaño aproximado de las cápsulas es de 2–5 mm de diámetro, pero puede controlarse, dependiendo de la aplicación (Smidsrod & Skjak-Braek, 1990). Smidsrod & Skjak-Braek, (1990) afirman que el tamaño y la esfericidad de las cápsulas dependen de la viscosidad de la dispersión de biopolímeros, del diámetro del orificio de la aguja y de la distancia entre la jeringa y la disolución de cloruro de calcio (CaCl_2). Las aplicaciones del método de encapsulación por extrusión han ido incrementándose en la industria de los alimentos, debido a la protección de los materiales encapsulados ante factores como calor y humedad, lo que permite mantener su estabilidad y viabilidad (Mortazavian *et al.*, 2007).

Los hidrocoloides han sido empleados como matriz debido a su capacidad para absorber agua, fácil manipulación e inocuidad. El alginato es un hidrocoloide que posee estas características y además tiene propiedades gelificantes,

estabilizantes y espesantes, razón por la cuál ha sido de gran interés para la industria alimentaria. El alginato forma una matriz altamente versátil, biocompatible, además, ha sido usado comúnmente debido a sus múltiples ventajas para el consumo humano. Es de resaltar el efecto prebiótico de los alginatos de bajo peso molecular, con beneficios de su ingesta como fibra diaria para la reducción de los niveles de azúcar y colesterol en sangre, así como, la capacidad para prolongar la vida útil en productos.

Estas ventajas del alginato y las recientes tendencias tecnológicas se han fusionado en la técnica de microencapsulación, resultando en un producto final que permite proteger a los compuestos encapsulados de factores adversos como el calor y la humedad, mejorando así su estabilidad y biodisponibilidad.

1.5.2. Alginato

El alginato es un polisacárido lineal poliiónico e hidrofílico proveniente de algas marinas conformado por dos monómeros en su estructura, el ácido α -L-gulurónico (G) y el ácido β -D-manurónico (M) que se distribuyen en secciones constituyendo homopolímeros tipo G-bloques (-GGG-), M-bloques (-MMM-) o heteropolímeros donde los bloques M y G se alternan (-MGMG-) (Figura 1.6). Tanto la distribución de sus monómeros en la cadena polimérica como la carga y volumen de los grupos carboxílicos confieren al gel formado características de flexibilidad o rigidez dependiendo del contenido en G.

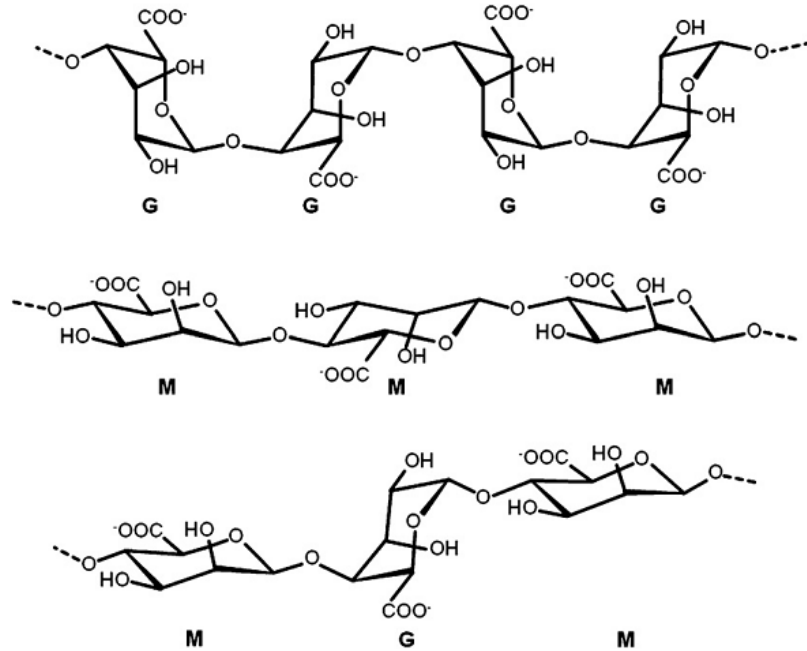


Figura 1.6: Estructura química de bloques G, bloques M y bloques alternados en alginato (Lee & Mooney 2012)

Si en su estructura polimérica se tiene mayor cantidad de G -bloques, generalmente el gel es fuerte y frágil, mientras que con la presencia de mayor proporción de M-bloques el gel formado es suave y elástico. El proceso de gelificación ocurre en presencia de cationes multivalentes (excepto magnesio) donde el ión calcio es el más empleado por la industria alimentaria. La gelificación tiene lugar al producirse una zona de unión entre un G-bloque de una molécula de alginato que se enlaza físicamente a otro G-bloque contenido en otra molécula de alginato a través del ión calcio. La visualización de la estructura física es denominada “modelo de caja de huevo” mostrada en la Figura 1.7 (Lee & Mooney, 2012).

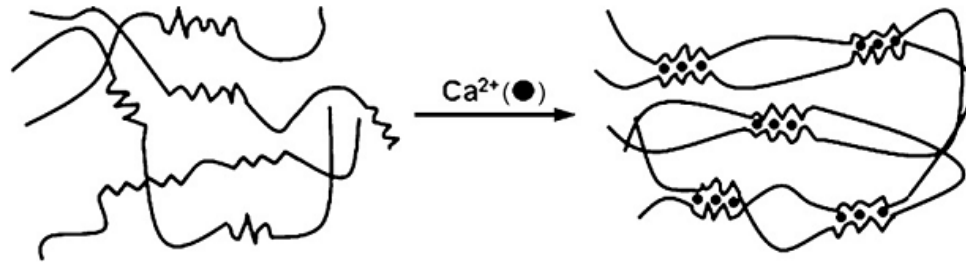
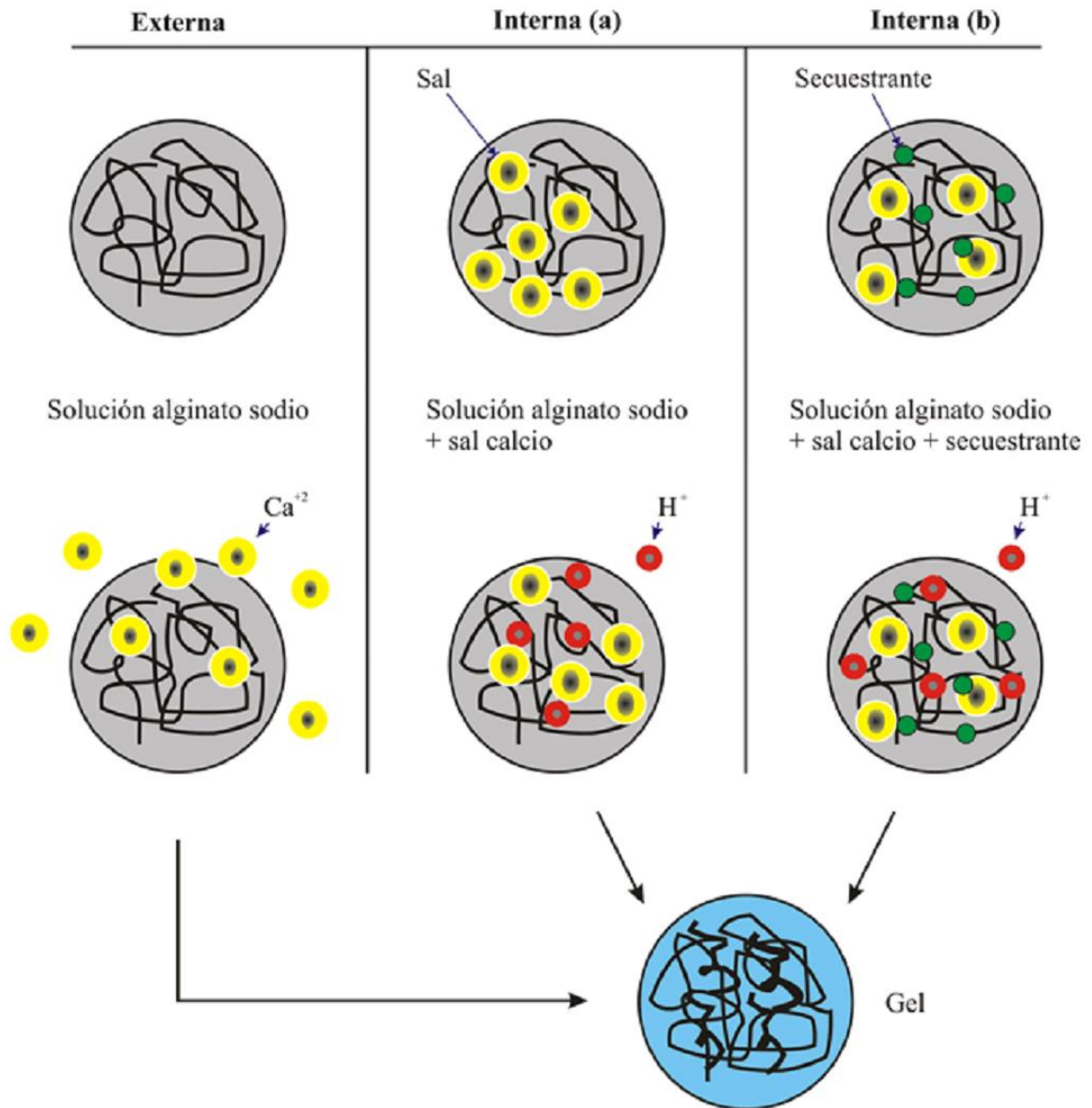


Figura 1.7: Modelo de caja de huevo con hidrogeles de alginato preparados por entrecruzamiento iónico. Solo bloques G participan en la formación de estructura de caja de huevo corrugada con intersticios en los que se colocan los iones de calcio. (Lee & Mooney, 2012).

1.5.3. Mecanismo de gelificación con alginato

El proceso de formación del gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna donde el ión calcio (más empleado por la industria alimentaria) se difunde hasta alcanzar la cadena polimérica. Como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio resultando en un material sólido con las características de un gel (Figura 1.8). El grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ión calcio y el contenido de los G-bloques (Funami *et al.*, 2009). La transición sol-gel se ha visto esencialmente controlada por la habilidad de introducir el ión vinculante al alginato. También se ha observado que la cinética de gelificación y las propiedades del gel pueden depender del tipo de contra-ión, es decir, el ión monovalente de la sal de alginato (K o Na). En la Figura 1.8 se presenta un diagrama del mecanismo de gelificación iónica.



(a) Sal insoluble. (b) Sal parcialmente soluble.

Figura 1.8: Mecanismos de gelificación iónica (Helgerud et al., 2010.)

De hecho, se ha encontrado que los alginatos de potasio presentan un proceso de transición sol – gel más rápido respecto a los alginatos de sodio preparados a bajas concentraciones de calcio.

A pesar que los geles de alginato de calcio presentan estabilidad a simple vista, al ser analizadas sus propiedades reológicas existen diferencias significativas en

los módulos elásticos; siendo menores los valores de módulos elásticos para los geles preparados a partir del alginato de sodio que en aquellos con alginato de potasio. En este sentido, es posible modelar las propiedades viscoelásticas de los geles utilizando alginatos con mayor composición de ácido gulurónico en su estructura (Draget, 2000). Los mecanismos de gelificación iónica se han llevado a cabo fundamentalmente por dos procesos: la gelificación externa y la gelificación interna.

1.5.3.1. *Gelificación externa*

El proceso de gelificación externa ocurre con la difusión del ión calcio desde una fuente que rodea al hidrocóide hacia la solución de alginato de pH neutro. La formación del gel se inicia en la interfase y avanza hacia el interior a medida que la superficie se encuentra saturada de iones calcio, de manera que el ión sodio proveniente de la sal de alginato es desplazado por el catión divalente solubilizado en agua. Este interacciona con los G -bloques de diferentes moléculas poliméricas, enlazándolas entre sí. Aunque, la fuente de calcio más usada ha sido el CaCl_2 debido a su mayor porcentaje de calcio disponible, existen otras sales empleadas con menor frecuencia tales como el acetato monohidratado y el lactato de calcio (Helgerud *et al.*, 2010), como se observa en la Figura 1.8.

1.5.3.2. *Gelificación interna*

El proceso de gelificación interna consiste en la liberación controlada del ión calcio desde una fuente interna de sal de calcio insoluble o parcialmente soluble dispersa en la solución de alginato de sodio. Donde la liberación del ión calcio puede ocurrir de dos formas, si se tiene una sal de calcio insoluble a pH neutro pero soluble a pH ácido, por lo que es necesario adicionar un ácido orgánico que al difundirse hasta la sal permita la acidificación del medio consiguiendo solubilizar los iones calcio. En este caso, las sales de calcio más empleadas son el carbonato de calcio y el fosfato tri cálcico, y en casos específicos el fosfato dicálcico y el citrato tricálcico. Para la acidificación del medio se cuenta con ácidos orgánicos como el acético, adípico y el glucono delta-lactona. Si la sal de calcio es parcialmente soluble, el proceso de gelificación interna consiste en la adición a la mezcla alginato-sal de calcio, un agente secuestrante como el fosfato, sulfato o citrato de sodio. Al adicionar un secuestrante este se enlaza con el calcio libre retardando así el proceso de gelificación, el sulfato de sodio ha sido comúnmente el más empleado debido a su bajo costo y conveniente solubilidad. Los mecanismos de gelificación iónica son descritos en la Figura 1.8 (Helgerud *et al.*, 2010).

La principal diferencia entre el mecanismo de gelificación externa e interna es la cinética del proceso. Si lo que se pretende es el control de la transición sol-gel, en el proceso de gelificación externa los factores a manipular son la concentración de calcio y composición del polímero. Mientras que, para el

proceso de gelificación interna se deben considerar la solubilidad y concentración de la sal de calcio, concentración del agente secuestrante y del ácido orgánico empleado (Draget, 2000).

1.5.4. Encapsulación en emulsión

El proceso de dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible donde la fase dispersa consta de la matriz que incluye el componente a encapsular. La adición de un tensoactivo mejora la formación y estabilidad de la emulsión, así como la distribución de tamaño de las gotas (Poncelet, 2001). En este sentido, la preparación de microcápsulas por emulsificación puede llevarse a cabo empleando el mecanismo de gelificación externa o interna. Para el primer caso, la gelificación externa en emulsión consta en la dispersión de una mezcla solución de alginato componente en una fase continua no acuosa, seguido de la adición de una fuente de calcio que al difundirse a la fase dispersa inicie la gelificación permitiendo la encapsulación, y a su vez, la desestabilización de la emulsión para la separación de las cápsulas formadas. Mientras que, la técnica en emulsión por gelificación interna se fundamenta en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble o parcialmente soluble en cuyo caso se adiciona un agente secuestrante, contenido en una solución de alginato–componente, el cual es dispersado en una fase continua no acuosa generando una emulsión agua en aceite (W/O) (Gouin, 2004; Chan *et al.*, 2006). La liberación del ion calcio ocurre con la adición de un ácido orgánico soluble en la fase continua que al difundirse

disminuye el pH del medio solubilizando la sal y produciendo la gelificación. Las técnicas de microencapsulación en emulsión se describen en la Figura 1.9 (Champagne y Fustier, 2007).

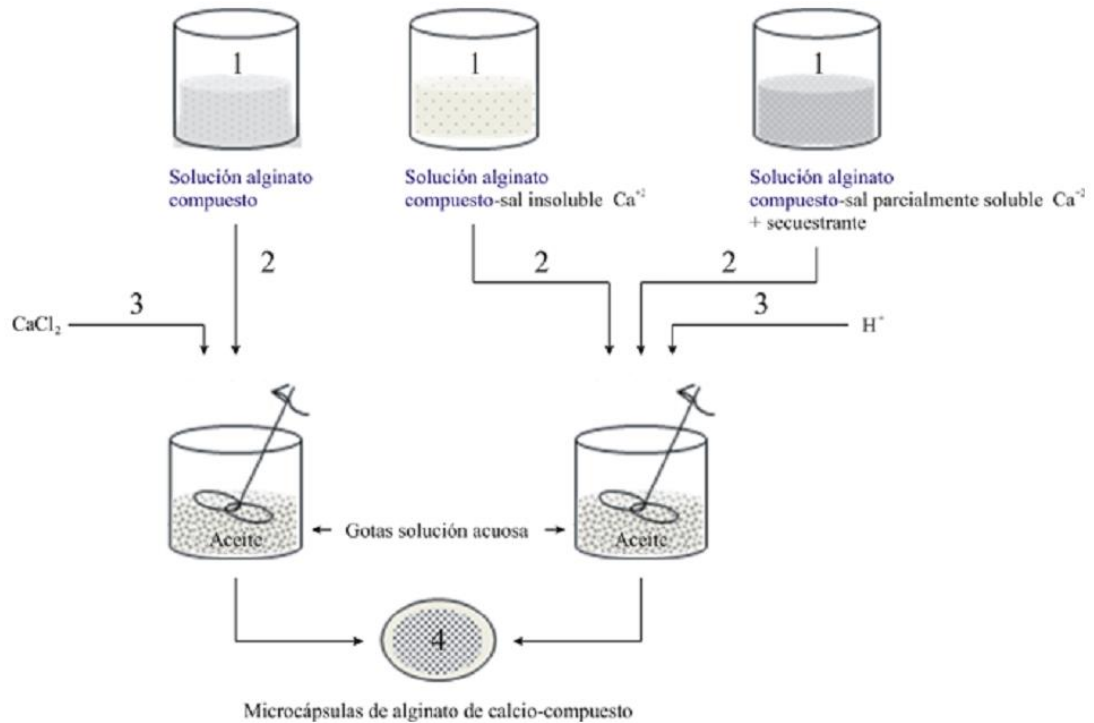


Figura 1.9: Técnicas de microencapsulación en emulsión (Champagne &Fustier, 2007).

1.6. Importancia de los productos de panificación

El pan es uno de los alimentos básicos más populares en el mundo por su valor nutritivo y bajo precio, por lo que se ha convertido en la base de la dieta de todas las civilizaciones. El consumo de pan aporta energía (principalmente por el almidón), una dieta en fibra y una amplia gama de vitaminas y minerales. Por otra parte, pueden añadirse ingredientes opcionales para mejorar el procesamiento o para producir especialmente un pan novedoso con mejor calidad nutricional y

valor nutracéutico. Los principales ingredientes empleados en la fabricación de pan precocido son: harina, agua, sal, levadura, masa madre, mejoradores panarios y grasas animales.

HARINA

Aunque, cualquier producto procedente de la molturación de un cereal puede denominarse harina, nos referiremos exclusivamente a la procedente del trigo. Solamente el trigo y el centeno producen harinas directamente panificables, por su capacidad de retener los gases producidos durante la fermentación, mismo que ocasiona el aumento del volumen de la masa panaria (Atkins y Larsen, 1990).

ALMIDÓN.

Es cuantitativamente el componente principal de la harina. Se trata de un hidrato de carbono, en forma de polisacárido, que desempeña el papel de aportador de energía dentro de la función alimenticia del pan; además de la capacidad de absorber cerca del 40% de su peso en agua. Está formado por dos moléculas una la amilosa y la otra la amilopectina.

La amilosa es un polímero de cadena lineal, formado por un número indeterminado de anhidrido -D- glucosa unidas por enlaces de α (1-4) glucosídico, fácilmente atacable por la amilasa y se encuentra en una proporción del 25% del total del almidón.

La amilopectina presenta cadenas ramificadas, formadas por cadenas lineales de anhidrido -D- glucosa unidas por enlaces α (1-6) glucosídicos y se encuentra en una proporción en la harina de trigo en un 4% (Serna, 2001).

Dentro del proceso de panificación suceden transformaciones químicas que involucran al almidón, consistentes en su desdoblamiento en dextrina (Figura

1.10) polisacárido de menor peso molecular que el almidón y más fácilmente asimilable por el organismo, así como la transformación en azúcar fermentable. Aunque la harina contiene azúcar, la cantidad que posee no es suficiente como para producir todo el gas necesario para la elevación del pan (Sonwane y Bhatia, 2000).

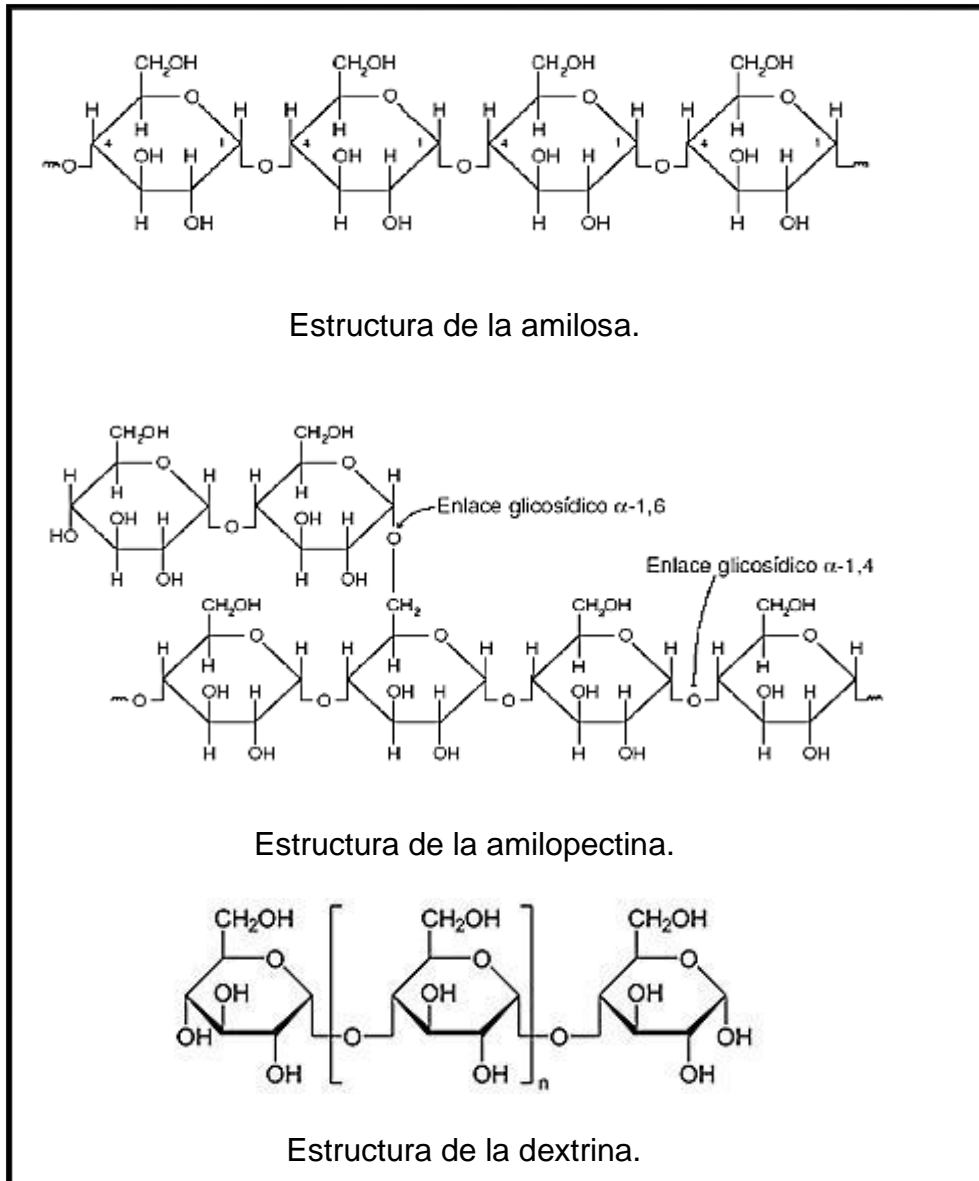


Figura 1.10: Estructuras de la amilosa, amilopectina y dextrina. (Serna, 2001).

PROTEÍNAS.

Las proteínas contenidas en la harina se pueden clasificar en dos grupos:

Proteínas que no forman masa panaria, las cuales constituyen el 15%, son aquellas proteínas solubles que no forman gluten como la albúmina, globulina, péptidos y no tienen importancia para la panificación.

Las proteínas que forman masa panaria, las cuales constituyen el 85%, son aquellas proteínas insolubles, como la gliadina y glutenina, que al contacto con el agua forman una red que atrapa los granos de almidón. Absorben cerca del doble de su peso en agua, constituyendo el gluten. Durante el amasado se transforman en una masa parda y pegajosa, responsable principal de las propiedades físicas de la masa, dotándola entre otras cualidades, de la capacidad de retener los gases que se producen durante el proceso de fermentación. Con la cocción se coagulan formando la estructura que mantiene la forma de la pieza cocida. El contenido en gluten es característico del trigo, hablándose de trigos duros cuando su contenido es mayor al 13%.

AZUCARES.

Los azúcares presentes en la harina, suelen estar en forma de sacarosa y maltosa. Estos disacáridos no son fermentables directamente, sino que es preciso transformarlos enzimáticamente en azúcares simples como los monosacáridos. Estas transformaciones se realizan por medio de las enzimas invertasa y maltasa, presentes en la harina, resultando en azúcar invertido, constituido por una mezcla de glucosa y fructosa. Otro azúcar presente es la

dextrina que tiene muy pequeña proporción (0.2%-0.3%) y es en cierta medida responsable del brillo en la corteza.

VITAMINAS.

Se cree que las vitaminas del pan no tienen mucha importancia por la poca cantidad existente después de la cocción del pan. Sin embargo debemos tener claro su gran importancia en la composición química de la harina. Las vitaminas más importantes en la harina son las del grupo B y E; siendo las del grupo B determinantes para el equilibrio nervioso en nuestro organismo y las del grupo E que ayudan a dar funcionalidad a los músculos y a mantener un buen estado de fertilidad. La vitamina E o tocoferol pertenece a las liposolubles y se encuentra en el germen. Su función en el pan es la de evitar su enmohecimiento y por lo tanto, prolongar la conservación del producto panario horneado, dada su gran capacidad antioxidante que facilita este proceso.

La vitamina B es la que en mayor cantidad se encuentra en la harina y forma parte de las llamadas vitaminas hidrosolubles.

El grupo de la vitamina C está formado por 14 compuestos, de los cuales nos encontramos: Tiamina (B1) 4,200 mg/Kg de harina, riboflavina (B2) 2,500 mg/Kg de harina y niacina (B3) 30,200 mg/Kg de harina.

La B1 o tiamina, se encuentra en el germen del trigo, es termoresistente y soporta temperaturas hasta 100°C durante una hora, lo que hace suponer que no todas las vitaminas son eliminadas después de la cocción. La B2 o riboflavina, su característica más peculiar es su pigmentación amarilla con fluorescencia verde siendo muy sensible a la luz. La B3 o niacina, se encuentra en el germen del

trigo. Su peculiar característica es que soporta la luz, el calor y la oxidación. La B6 o piridoxina, se encuentra principalmente en la aleurona de las capas externas del grano de trigo.

FIBRA.

Se define como fibra aquellos compuestos que se encuentran o forman parte de las paredes celulares vegetales, es decir por celulosa, lignina, hemicelulosa y pectinas. Se considera que el consumo medio de fibra de un adulto debe estar entre los 25 y 35 gramos.

Hasta hace muy poco tiempo la fibra dietética ha sido considerada como un nutriente sin valor alimentario importante; sin embargo hoy se deduce que el consumo de fibra es un factor de primer orden en la dieta alimentaria. Como todo nutriente debe ser ingerido en dosis adecuadas, por el contrario una alimentación excesiva en fibra provoca arrastres por el intestino de minerales como el calcio y el zinc que no son absorbidos, y por lo tanto, pueden provocar problemas en el aparato óseo.

MINERALES.

La materia mineral también se puede definir como el contenido en cenizas, y está formada por potasio, sodio, calcio y magnesio procedentes básicamente de las capas externas del grano de trigo.

Desde el punto de vista panadero, una harina suele caracterizarse según tres parámetros fundamentales:

- Tasa de extracción.
- Características físicas de la masa que origina.
- Propiedades fermentativas.

1) La tasa de extracción es el peso de harina extraída por unidad de trigo sucio utilizado y los valores pueden oscilar entre el 65 y el 98%. Valores menores corresponden a las harinas denominadas flor y las mayores a las llamadas integrales. Se puede considerar como normal una tasa de extracción del 75%.

El contenido de minerales presentes en la harina está íntimamente relacionado para cada trigo con la tasa de extracción, ya que, en su mayor parte, provienen de componentes de la corteza del grano de trigo y sus zonas más próximas. Varía desde 0.45% a 1.40% para los valores extremos indicados para la tasa de extracción.

2) Características físicas de la masa. Se refieren fundamentalmente a la elasticidad, tenacidad y suavidad. Aunque no en su totalidad, estas propiedades son adquiridas por el gluten y conocidas en su conjunto dentro del sector panadero como fuerza. Además de facilitar el trabajo de las masas, estas se refieren a la capacidad de absorción de agua de la harina y en consecuencia en su rendimiento en pan horneado.

Otro de los ingredientes que participan en el proceso de elaboración de las masas panarias es el agua.

El agua juega un papel fundamental en la formación de la masa, en la fermentación, el sabor y frescura finales del pan.

En el proceso de la formación de la masa, es importante ya que en ella se disuelven todos los ingredientes, permitiendo una total incorporación de ellos.

También hidrata los almidones, que junto con el gluten dan por resultado una masa plástica y elástica. El agua hace factible las propiedades de plasticidad y extensibilidad de la masa, de modo que pueda crecer por la acción del gas producido en la fermentación.

El agua también es importante para el desarrollo del sabor y la frescura del pan horneado: la presencia del agua hace posible la porosidad y buen sabor del pan. Una masa con poca agua produce un producto seco y quebradizo. Desde el punto de vista nutricional los almidones hidratados al ser horneados se hacen más digeribles para el sistema digestivo humano.

La corteza del pan más suave por efectos del agua, la humedad del pan le imparte la frescura característica, ya que la pérdida de agua le vuelve viejo y pesado (Huma, N., *et al.*, 2008).

SAL

La sal es otro ingrediente fundamental para el desarrollo de productos panarios. Es un producto natural que se encuentra en forma de cristales (sal de mina) o en el agua del mar (sal marina). Se compone de cloro y sodio y es antiséptica. Independientemente de su aportación al sabor del pan, la sal desempeña otros papeles de gran importancia en su elaboración. Actúa como regulador del proceso de fermentación, simultáneamente mejora la plasticidad de la masa, aumentando la capacidad de hidratación de la harina y en consecuencia, el rendimiento de la panificación.

También favorece la coloración y finura de la corteza, teniendo como contrapartida el aumento de la higroscopicidad. Además, la sal restringe la

actividad de las bacterias productoras de ácidos y controla la acción de la levadura, regulando el consumo de azúcares y dando por ello una mejor corteza. La proporción máxima de la sal a agregar debe ser del 2% en base seca. La proporción de sal se recomienda que sea mayor con harinas recién molidas o débiles.

LEVADURA.

La levadura es importante para la obtención de productos panarios, su composición química varía en función de su contenido de humedad, el cual para la levadura prensada comercial alcanza aproximadamente el 70%. Las principales funciones de la levadura son la producción de sustancias que colaboran en la modificación de las estructuras de las proteínas de la harina (gluten), de forma que las paredes celulares estén capacitadas para retener el anhídrido carbónico producido. Una mala proporción de la levadura en la formulación tiene como consecuencia la pérdida de elasticidad y plasticidad de la masa. La plasticidad es una propiedad adquirida como consecuencia de la rotura de los enlaces intermoleculares, manteniendo la configuración longitudinal de los enlaces del gluten.

La levadura también contribuye al desarrollo de parte del aroma y sabor, mediante la producción de alcoholes, aromas típicos de panificación, éteres, ácido acético, butírico y láctico y finalmente la función más importante de la levadura en las masas panarias es la elevación de la masa, debida a la producción de CO₂ (anhídrido carbónico) y alcohol etílico en forma de etano (Tajima, k., and H. Yoshizumi. 1972).

La masa madre es la responsable de dar mayor sabor, olor y la forma estable y compacta a la masa. El método más usado para realizarla es hacer una amasada normal de pan, dejarla tres horas más o menos a temperatura ambiente y ponerla en el refrigerador entre 5 y 8 °C, dejándola a esa temperatura hasta su uso.

Otros ingredientes importantes para los productos de panificación son los mejoradores panarios. Son agentes que se añaden en pequeñas cantidades como ingredientes del pan, con la intención de mejorar las características iniciales de la harina, referidas fundamentalmente al color, contenido en enzimas y características plásticas de la masa.

El mejorador que normalmente emplea el panadero está compuesto de diacetil tartárico (E-472e), ácido ascórbico (E-300) y enzimas α -amilasas. Esta mezcla de principios activos proporciona una gran expansión del pan en el horno. Cuando la subida del pan en la fase de cocción es exagerada se corre el riesgo de que el pan se arrugue durante el enfriamiento. Por tanto hay que moderar el uso de dichos mejoradores, consiguiendo el volumen durante la fermentación y no por la expansión del pan durante el formado (Tajima, k., and H. Yoshizumi. 1972).

Las grasas es un ingrediente fundamental para la obtención de productos panarios de calidad, su uso es importante para obtener un producto mucho más flexible, generando con ello una mayor vida útil del pan posterior al proceso de horneado. Uno de los principales problemas del pan precocido es su alta dureza poco tiempo después del proceso de cocción. Siendo necesario para evitar este problema la adición durante el amasado de pequeñas cantidades de margarinas de bajo punto de fusión.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de microcápsulas de α – tocoferol

La encapsulación de α -tocoferol se llevó a cabo en dos etapas: primero se preparó una dispersión con alginato de sodio con un agitador de propela (Talboys) por 10 minutos a temperatura ambiente (25 °C) posteriormente se almaceno durante 12 horas a 4 °C para permitir la completa hidratación del polímero

Como segunda etapa se preparó una emulsión con α -tocoferol y tween 80, se adicionó la solución de alginato de sodio obtenida en la primera etapa, adicionalmente se agregó un colorante hidrofílico para facilitar la identificación del compuesto activo (α -tocoferol) en el muffin después de la cocción.

Las microcápsulas se elaboraron con diferentes concentraciones de alginato de sodio y CaCl_2 en distintos tiempos de residencia (Cuadro 2.1) y las emulsiones se extrudieron con una jeringa de 5 ml y aguja de 30G $\frac{1}{2}$, dejando caer libremente cada gota de la emulsión a una solución de cloruro de calcio (Figura 2.1). Las microcápsulas formadas se lavaron, filtraron y se obtendrán imágenes en un esteromicroscopio (Carl Zeiss) para su medición de tamaño. Posteriormente se colocaron en un desecador a temperatura ambiente mientras se preparaba la formulación de muffin para ser adicionadas

Cuadro 2.1: Formulaciones con las distintas concentraciones utilizadas (Elaboración propia).

Formulación	α -tocoferol	Alginato de sodio (% p/p)	Concentración de CaCl_2 (1 % p/p)	Tiempo en CaCl_2 (min)
1	5%	0.5	1	1
2	5%	1	1	0.5
3	5%	1	1	2
4	5%	1	5	>5
5	5%	0.5	5	2

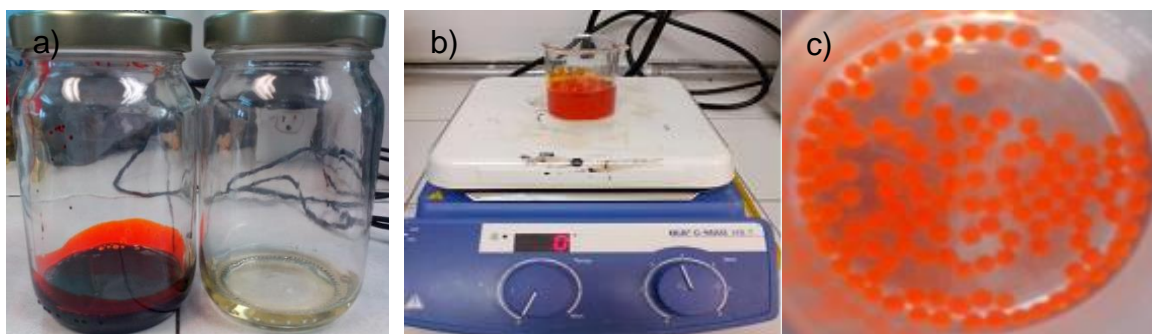


Figura 2.1: α -tocoferol y colorante a) preparación de emulsión de α -tocoferol con material de pared b) formación de cápsulas de α -tocoferol c) (Elaboración propia).

2.1.1. Simulación del proceso gástrico de liberación de las cápsulas

Para determinar el efecto de las condiciones gastrointestinales se preparó tres soluciones de HCl a diferente pH de 6 ± 0.1 , 1.7 ± 0.2 y 5 ± 0.1 correspondiente a cavidad bucal, estomago e intestino delgado respectivamente. Las cápsulas de alginato fueron adicionadas en las soluciones gastrointestinales y se colocaron en un baño ultrasónico (Branson) por 20 minutos con la finalidad de simular el proceso gastrointestinal y estudiar el comportamiento de liberación de las microcápsulas en estas condiciones. Las capsulas fueron retiradas de la solución

y se obtuvieron imágenes en un esteromicroscopio (Carl Zeiss) para su caracterización morfológica.

2.1.2. Eficiencia de encapsulación de α – tocoferol

La eficiencia de encapsulación se realizó mediante la cuantificación de α – tocoferol encapsulado medido por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con la siguiente ecuación:

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \frac{\text{mg alfa tocoferol}}{\text{mg alfa tocoferol teórico}} \times 100$$

2.1.3. Análisis de termogravimetría y calorimetría

Los estudios de termogravimetría (TGA) se llevaron a cabo usando las cápsulas obtenidas con el fin de registrar el comportamiento y estabilidad térmica de las mismas. Se colocó la muestra a analizar en una canastilla de platino y posteriormente se introdujo en un analizador termogravimétrico (TGA) Q500 (TA Instruments, EUA) en un rango de temperaturas de 25 - 500°C a una velocidad de calentamiento de 10°C min⁻¹ en un flujo de nitrógeno de 60 ml min⁻¹. Una metodología similar fue empleada por Etzler y Connors (1991). Para los análisis de calorímetro de barrido diferencial (CBD) se usó un equipo DSC (TA Instruments, EUA) con una atmósfera de nitrógeno de 60 mL min⁻¹.

2.2. Preparación de muffins

Los muffins se prepararon y se cocieron de acuerdo a una receta tradicional de panecillo. La formulación incluye harina de trigo, huevo, leche, azúcar, sal, polvo para hornear, mantequilla, agua, avena, ajonjolí y aceite (cuadro 2.2), todos los ingredientes fueron adquiridos en un mercado local.

Cuadro 2.2: Formulaciones de muffins para la obtención del producto final (Elaboración propia).

Ingredientes	Tratamiento		
	I	II	III
Harina de trigo	34.93	34.93	34.93
Huevo	12.48	9.98	9.98
Leche	9.98	9.98	7.49
Azúcar	9.98	9.98	9.98
Sal	1.50	1.50	1.50
Polvo para hornear	0.70	0.70	0.70
Mantequilla	9.98	12.48	14.97
Agua	17.96	17.96	17.96
Avena	2.50	2.50	2.50
Ajonjolí	34.93	34.93	34.93
Aceite	12.48	9.98	9.98

La clara y yema de huevo fueron batidos durante 3 minutos usando una batidora manual de 180 watts (Morphy Richards HB01, Reino Unido) a velocidad máxima. Se añadieron el azúcar, sal, aceite, mantequilla mezclando durante 2.5 min con

una batidora de 250 watts (Oster Mixmaster) ajustando la velocidad a nivel 3. Por último, se añadieron la harina, avena, ajonjolí y el polvo para hornear mezclando con agua y leche durante 5 minutos con la misma batidora de mano 250 watts hasta su completa homogenización. Se prepararon tres formulaciones con la finalidad de elegir la de mejor aceptación para el público. El batido se vertió manualmente en moldes de aluminio con papel encerado, pesando 38 g de mezcla batida en cada pieza y se colocaron en un horno convencional (Maxi-Matic RO 2002) durante 24 minutos a 170–180 °C (Figura 2.2). Los muffins se almacenaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

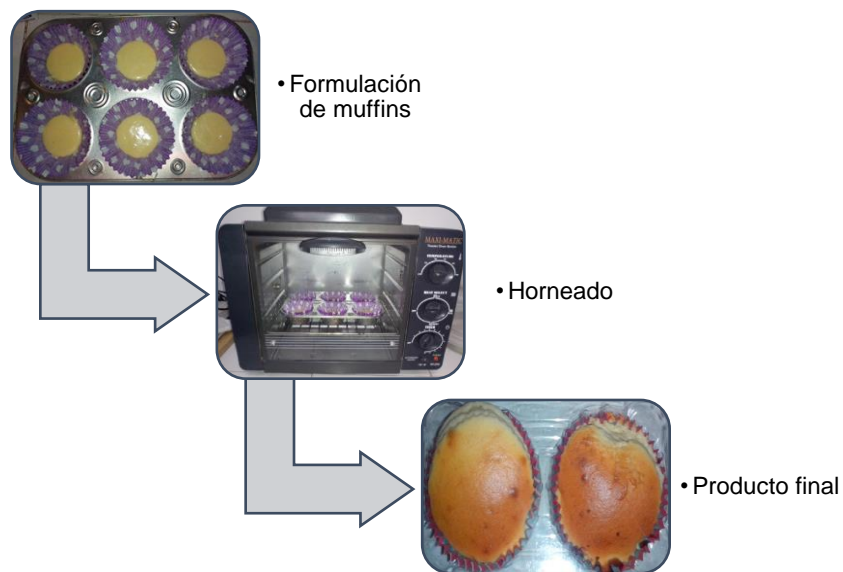


Figura 2.2: Proceso de elaboración de muffins (elaboración propia).

2.2.1. Análisis sensorial

Se utilizó una prueba preliminar para evaluar la aceptabilidad sensorial de los muffins utilizando una prueba de aceptación. La evaluación sensorial se realizó 24 horas después de la cocción de los muffins para elegir la mejor formulación

con respecto a la aceptación general. Las muestras se rebanaron en cuatro partes antes de la prueba de espesor uniforme y se sirvieron con agua para que los panelistas realizaran enjuagues entre cada tratamiento y no existiera interferencia en la medición de los atributos de los muffins. La evaluación sensorial se realizó por un panel no entrenado de 50 miembros mayores de 18 años seleccionados al azar de los estudiantes de la BUAP. Los muffins fueron asignados con códigos aleatorios de tres dígitos. Las muestras fueron evaluadas por atributos de color, textura y sabor, utilizando un sistema de escala de siete 7 puntos: Me gusta mucho (7), Me gusta (6), Me gusta ligeramente (5), Ni me gusta ni me disgusta (4), Me disgusta ligeramente (3), Me disgusta (2) y Me disgusta mucho (1).

2.3. Caracterización fisicoquímica del muffin adicionado con microcápsulas de α -tocoferol

2.3.1. Cuantificación del contenido de humedad

El contenido de humedad de las muestras de muffins horneados fue analizado cuantitativamente. Un gramo de muestra se pesó en una balanza de humedad (Ohaus MB45) y se dejó a 105 °C (Figura 2.3). El contenido de humedad se determinó como la pérdida de peso de la muestra en porcentaje.



Figura 2.3: Determinación de humedad de la muestra de muffin (Elaboración propia).

2.3.2. Determinación de color

El color de las muestras se midió con un espectrofotómetro-colorímetro (HunterLab–MiniScan® XE Plus) para obtener parámetros CIELAB (L^* , a^* , b^*) (Figura 2.4). Los otros parámetros, Chroma (C_{ab}^*) y hue (h_{ab}) son calculados de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

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

$$h_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$$

La distancia Euclideana entre dos puntos en el espacio tridimensional definido por L^* , a^* y b^* son usados para calcular la diferencia de color (ΔE_{ab}^*) (Otálora et al., 2015) (Figura 2.4).

$$\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$



Figura 2.4: Espacio tridimensional CIELAB a) y espectrofotómetro–colorímetro Hunter Lab b) (Elaboración propia)

2.3.3. Determinación de actividad de agua (a_w)

La determinación de la actividad de agua ayuda a predecir la estabilidad y la vida útil de los alimentos. La a_w en los productos de panificación se midió en AquaLab (PRE) a 25 °C. Las muestras (1 g de cada una) fueron analizadas por triplicado y el valor de a_w fue reportado como la media de los datos obtenidos (Figura 2.5).



Figura 2.5: Medición de a_w de las muestras de muffins (Elaboración propia).

2.3.4. Determinación de textura

La textura de los alimentos tiene una importancia fundamental en la producción y aceptación del producto por el consumidor. Para determinar la textura del muffin se utilizó un texturómetro modelo RVDV-E (Figura 2.6), equipado con una celda de carga de 5 kg. Se utilizó una sonda cilíndrica de aluminio con área de contacto de 40 mm de diámetro, cada medición se llevó a cabo a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) sobre 30 g de muestra colocadas sobre una placa de plástico debajo de la sonda. La detección automática del contacto de la sonda se realizó con una fuerza de contacto de 2.9 g. Las propiedades texturales fueron obtenidas utilizando el software del equipo Texture Expert 32.



Figura 2.6: Propiedades texturales del muffin (Elaboración propia).

2.4. Análisis bromatológico

El análisis bromatológico proporciona información sobre la cantidad de nutrientes que contiene un alimento. Su finalidad consiste en la determinación cualitativa y

cuantitativa de cada uno de los componentes. Estos análisis nos ayudan a identificar la calidad nutritiva de los productos alimenticios. Los constituyentes de los alimentos se clasifican en humedad, cenizas, proteínas, grasas y fibra cruda.

2.4.1. Determinación de cenizas

El término "cenizas de un alimento" es equivalente al residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica. Para esta prueba se pesaron 2 g de muestra por triplicado en crisoles a peso constante y se colocaron en una mufla (Fumase 1300) a 550 °C durante 2 horas. Los cálculos fueron determinados por análisis gravimétrico.

2.4.2. Determinación de proteína

Se realizó de acuerdo de acuerdo a la norma NMX-F-068-S-1980 con el método de Kjeldahl – Gunning. Este método se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y carbono de la materia orgánica se oxidan para formar agua y dióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en SO_2 , el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio. El amoniaco se libera después de la adición de hidróxido de sodio y se destila en una disolución al 2% de ácido bórico. Se titula el nitrógeno amoniacal con una disolución valorada de ácido, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra. En este método

se usa el sulfato de cobre como catalizador y el sulfato de sodio para aumentar la temperatura de la mezcla y acelerar la digestión.

2.4.3. Determinación de grasa

Grasa cruda es el término que se emplea para referirse a la mezcla de materiales liposolubles presentes en una muestra. Para la determinación se siguió el procedimiento descrito en la Norma NMX – F089-S-1978. Se transfirieron 2 g de muestra fraccionada en un cartucho de celulosa y se cubrieron con algodón. Se colocó el cartucho en el extractor Soxhlet. Los matraces se deben colocar con perlas de ebullición y se debe colocar un refrigerante. Añadir éter por el extremo superior del refrigerante en cantidad suficiente para tener 2 o 3 descargas del extractor (alrededor de 80 ml), hacer circular el agua por el refrigerante y calentar hasta que se obtenga una frecuencia de unas 2 gotas por segundo. La extracción se llevó a cabo durante 4 – 6 horas.

2.4.4. Determinación de fibra cruda

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente en la muestra. Se colocaron en un matraz 2 g de muestra desengrasada y seca con 200 ml de solución de ácido sulfúrico en un

condensador a ebullición durante 30 min, manteniendo constante el volumen con agua destilada y moviendo periódicamente el matraz para remover las partículas adheridas a las paredes. Se instaló el embudo Buchner con papel filtro precalentado con agua hirviendo. Al término del tiempo de ebullición se retiró el matraz dejándolo reposar por un minuto y se filtró cuidadosamente usando succión, se lavó el papel filtro con agua hirviendo y el residuo se transfirió a un matraz que contenía 200 ml de solución de hidróxido de sodio (NaOH) en ebullición y deje hervir por 30 min. Se precalentó el crisol de filtración con agua hirviendo y filtró cuidadosamente después de dejar reposar el hidrolizado por 1 min. Se lavó el residuo con agua hirviendo, con la solución de HCl para terminar con tres lavados con éter de petróleo. Se colocó el crisol en el horno a 105 °C por 12 horas y se enfrió en desecador. Posteriormente se pesaron los crisoles con el residuo y colocaron en una mufla a 550 °C por 3 horas, se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron nuevamente.

2.5. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico para el producto elaborado para este proyecto fue realizado periódicamente en el transcurso de 10 días.

2.5.1. Determinación de mesófilos aerobios

Se realizó mediante el método de cuenta de bacterias aerobias en placa de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios.

2.5.2. Determinación de coliformes totales

Se llevó a cabo el método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa con la Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios.

2.5.3. Determinación de hongos y levaduras

Se determinó la cuenta de hongos y levaduras en las muestras con la Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios.

2.6. Análisis de datos

En el experimento se utilizó un diseño completamente al azar el cual tuvo como modelo lineal $y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$ donde, y_{ij} es la respuesta (variable de interés o variable respuesta), μ es la media general del experimento, τ_i es el efecto del tratamiento y e_{ij} es el error aleatorio asociado a la respuesta y_{ij} (Kuehl, 2001).

Los datos obtenidos del análisis bromatológico del muffin adicionado con microcápsulas de α -tocoferol y sin capsulas se expresaron como la media de la desviación estándar.

Los datos de la caracterización fisicoquímica del muffin adicionado con microcapsulas con y sin α -tocoferol se analizaron conforme a un arreglo factorial 2^2 alojado en un diseño completamente al azar.

Las determinaciones se hicieron por triplicado ($n = 3$) y en este sentido se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis de correlación con el paquete

estadístico SAS® (Statistical Analysis System, versión 9.0). Se utilizó la prueba Tukey para identificar la significancia de los contrastes entre tratamientos con $p < 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización de cápsulas de α -tocoferol

3.1.1. Tamaño de partícula de las cápsulas

Se logró formar un reservorio para proteger al α -tocoferol, a partir de una matriz de alginato de sodio gelado con iones Ca^{2+} . Las cápsulas mostraron valores de esfericidad de aproximadamente 4 mm. Se observó la presencia de emulsiones multifasicas dentro de la misma cápsula atribuido a la alta hidrofobicidad del α -tocoferol (Figura 3.1).



Figura 3.1: Cápsulas de α - tocoferol (Elaboración propia)

3.1.2. Estudio de liberación simulada en condiciones gástricas in vitro

Las cápsulas presentaron resistencia a esfuerzos físicos, por lo que resulto atractiva la adición a productos de panificación con un estudio previo de liberación o rompimiento de las cápsulas en condiciones gástricas en el organismo, el tratamiento en ácido clorhídrico no afecto el tamaño inicial o final de la cápsula. La Figura 3.2 muestra que hubo pérdida de color en las cápsulas y ligeros cambios morfológicos en su estructura durante la simulación.

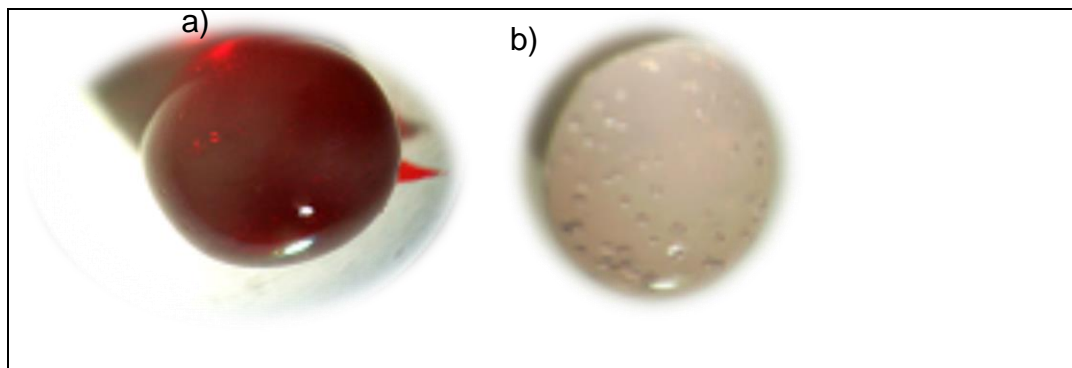


Figura 3.2: Cápsula de α – tocoferol a) y tratamiento a $\text{pH} = 1.7$ b) (Elaboración propia).

En la Figura 3.3 se observa una disminución en la intensidad de color, y posiblemente un proceso de liberación y difusión del α – tocoferol. Fue evidente que la resistencia de la cápsula disminuye conforme disminuye la concentración de CaCl_2 ; existió una relación entre el tiempo de residencia de la cápsula en la solución cálcica con la difusión del α – tocoferol al exterior, manifestada con la disminución en la intensidad de color. Este fenómeno fue verificado al introducir las cápsulas en soluciones de HCl en tiempos cortos (30 s) que causaron la

deformación en la estructura de la cápsula con presencia de porosidad o rugosidades sobre la superficie.





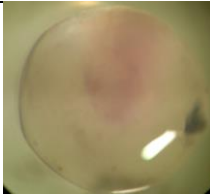
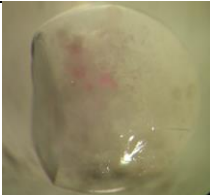
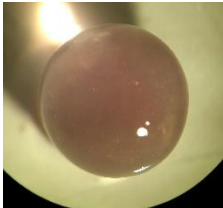
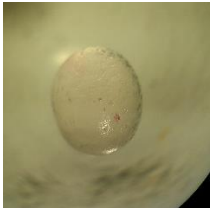

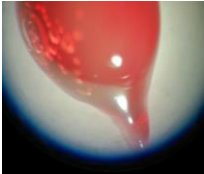
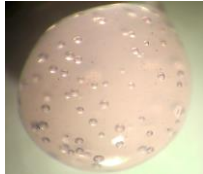
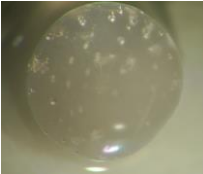
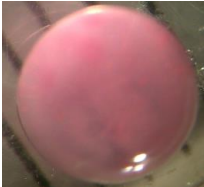
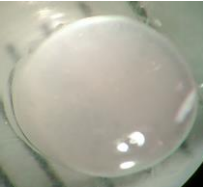
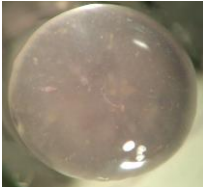
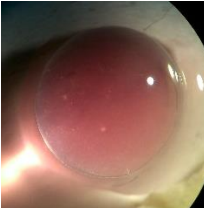


Medios de liberación simulada			
Formulación	Boca	Estomago	Intestino
			
F1			
F2			
F3			
F4			
F5			

Figura 3.3: Proceso de liberación simulada en condiciones gástricas in vitro (Elaboración propia)

Los cambios observados en la coloración de las esferas eran dependientes de distintos factores, el primero de ellos fue el tiempo de inmersión de las cápsulas en la solución de CaCl_2 , el segundo fue el pH de la solución ya que en soluciones más ácidas ocurría una mayor decoloración en las cápsulas y la tercera fue la concentración de alginato de sodio y cloruro de calcio con que fue realizado el proceso de encapsulamiento. Se puede decir que las cápsulas que se obtuvieron con una mayor concentración de la solución de alginato de sodio permanecieron casi intactas al tratamiento ácido en su estructura, muy pocas de éstas presentaron alguna deformación importante, el único cambio fue la decoloración de las cápsulas.

Los cambios registrados en el color de las cápsulas F1, F2 y el cambio de estructura morfológica permitió asegurar la fácil liberación del α – tocoferol en condiciones gástricas simuladas.

3.1.3. Eficiencia de encapsulación

Se obtuvieron valores de eficiencia promedio del 61% en la formulación F2, mientras que con la formulación F1 se obtuvo un valor promedio del 35%.

Estos resultados pueden ser explicados en base a la propiedad formadora del alginato de sodio para formar películas, inmovilización de principios activos con baja y mediana solubilidad en agua, y con ello potencia la capacidad para encapsular el α -tocoferol.

En la Figura 3.4 se presenta el cromatograma obtenido durante la inyección de las cápsulas fracturadas. A partir del rompimiento de las cápsulas y su análisis cromatográfico. Se inyectó el estándar al HPLC con dos microcápsulas fracturadas en disolución, obteniendo tiempos de retención de 5.2011 ± 0.02 min y 6.0001 ± 0.02 min respectivamente.

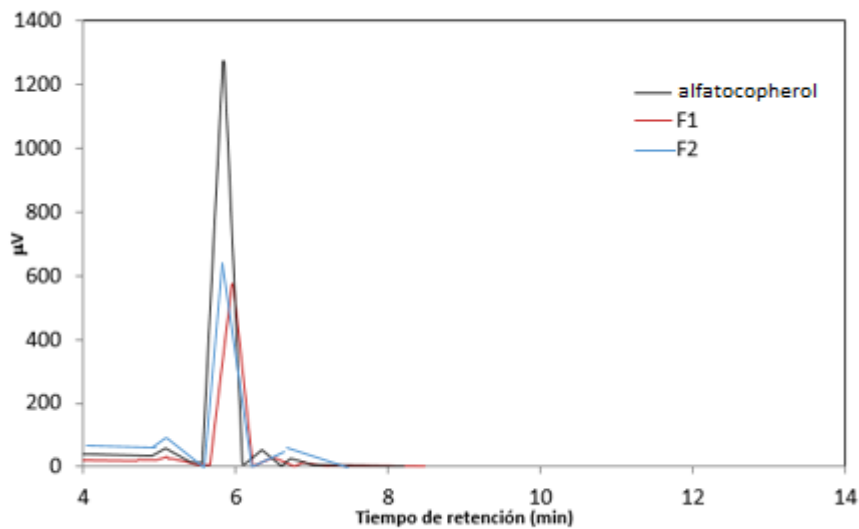


Figura 3.4: Señales cromatográficas de las cápsulas de α -tocoferol F1 y F2 (Elaboración propia)

Los resultados al evaluar la eficiencia de encapsulación se describen en el cuadro 3.1, donde se presentan los valores promedio de las cápsulas con las diferentes formulaciones estudiadas. Los dos tipos de cápsulas obtenidas presentan diferentes porcentajes de eficiencia de encapsulación; las cápsulas obtenidas usando el alginato de sodio con un mayor tiempo de residencia en la solución cálcica presentaron una menor eficiencia de encapsulación, en comparación con la formulación F2.

Cuadro 3.1: *Eficiencia de encapsulación de las cápsulas estudiadas (Elaboración propia).*

Formulación de cápsulas	Porcentaje de encapsulación $X \pm$ S.D. n=5
F1	35.17 \pm 5.84
F2	61.25 \pm 4.25

3.1.4. Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico provee información sobre el contenido de compuestos volátiles tales como solventes o agua y sobre el comportamiento de descomposición de la muestra, reflejado en cambios de masa de la misma que es sujeta a un programa de temperatura. El termograma se presenta en la Figura 3.5 en el cual se observó que a una temperatura menor de 130 °C la muestra F1 y alginato de sodio presentaron una pérdida de masa que corresponde al agua en cada muestra. Por otra parte a una temperatura por arriba de 220 °C se observa la descomposición de los materiales en las muestras F2 y alginato de sodio, mientras a una temperatura por arriba de 280 °C ocurre la descomposición en la F1 y α -tocoferol. Además se presentó una mayor pérdida de agua en F2 en comparación con F1, demostrando que la concentración del material de pared y el tiempo de estancia en la solución cálcica modificaron el perfil termogravimétrico de las cápsulas. Una menor residencia en la solución cálcica presentó mayor pérdida de humedad debido probablemente a su alta

higroscopicidad y débil fenómeno de cierre en la estructura de caja de huevo, siendo F2 más débil en esta estructura manifestándose en mayor pérdida de humedad.

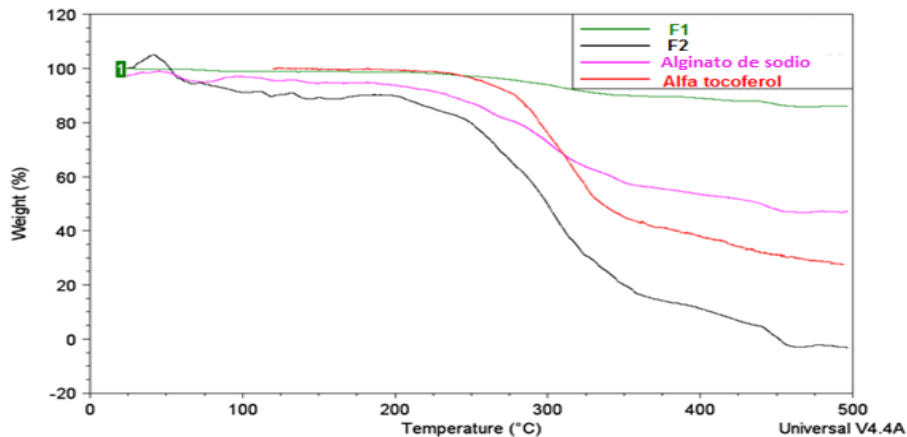


Figura 3.5: Análisis TGA en las formulaciones F1 y F2 usando alginato de sodio y α -tocoferol como control (Elaboración propia).

3.1.5. Análisis térmico de las cápsulas

El análisis térmico se presentan en la Figura 3.6 en el que indica que la incorporación del aceite altera la estructura del gel de alginato de calcio al modificar la temperatura de transición sol gel lo que puede probablemente atribuirse a una interacción entre los grupos fenólicos y la molécula del alginato. En tal sentido la energía requerida para el α -tocoferol fue de 20W/g, mientras que las muestras de F1 y F2 presentaron valores de la energía requerida de 17 W/g y 11W/g lo que muestra una diferencia de energía y confirmaría la existencia de una fuerte interacciones entre todos los compuestos existentes dentro de la matriz polimérica de las capsulas.

Por otra parte se observa que las temperaturas obtenidas en los picos endotérmico para cada caso se presentan cercanos (20 y 17W/g) a 235-250°C, lo que puede indicar que las fuertes interacciones entre los compuestos fenólicos y el alginato permiten su estabilidad.

Por tanto se piensa que este efecto de estabilidad se manifiesta como una acción de la matriz del gel formado por el α -tocoferol encapsulado y el alginato para la formulación F2, y con un menor efecto con la formulación F1

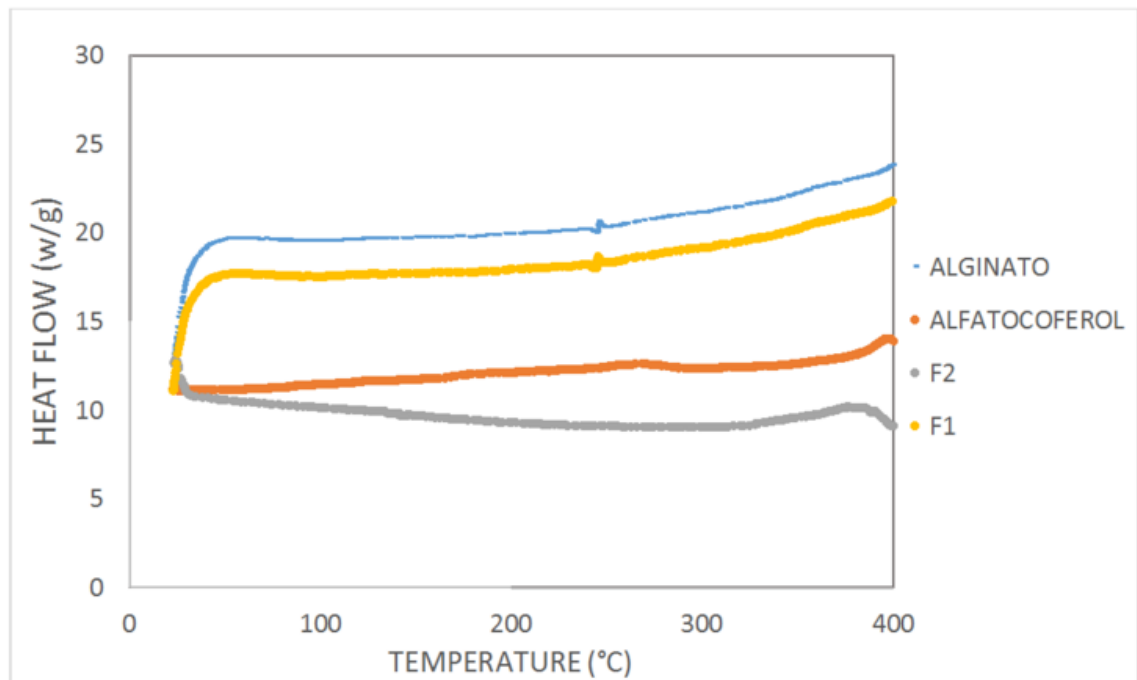


Figura 3.6: Termograma de las formulaciones F1 y F2 usando como control alginato de sodio y α -tocoferol (Elaboración propia)

3.1.6. Esfuerzo cortante y velocidad de corte

Las representaciones gráficas del esfuerzo de corte (τ) vs. gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) para las formulaciones F1 y F2 previo a adición de la solución cálcica se presentan en la Figura 3.7, en donde puede observarse que a bajos gradientes

de velocidad el esfuerzo cortante requerido es de menor magnitud en comparación con los registrados a mayores gradientes de velocidad.

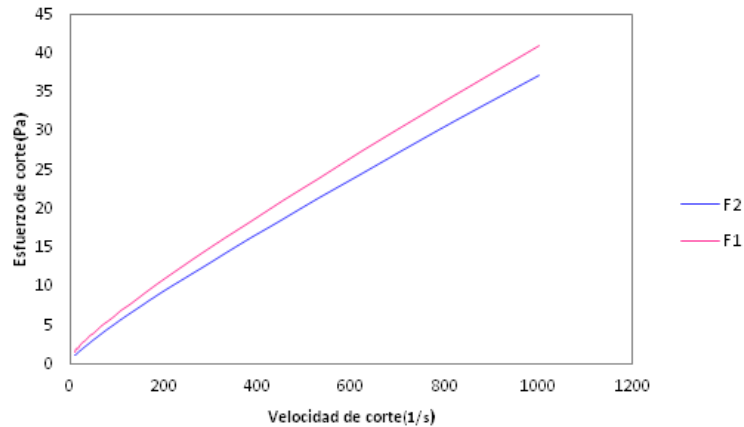


Figura 3.7: Dependencia entre el gradiente de velocidad y la tensión de corte de las formulaciones F1 y F2 (Elaboración propia).

De acuerdo a los datos experimentales existió diferencia significativa de los valores de la tensión de corte de las muestras empleadas, F1 se caracterizó por valores superiores con respecto a F2.

Dada la importancia del comportamiento reológico de los materiales encapsulantes que limitan el secado de las muestras, se ajustaron los datos experimentales a un modelo conocido como la Ley de potencia, que permite establecer el tipo de fluido. Con las representaciones gráficas logarítmicas del esfuerzo de corte (τ) vs gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) de cada una de las formulaciones estudiadas se estimaron los parámetros n (índice de flujo) y K (índice de consistencia) de la siguiente ecuación (modelo de la ley de Potencia).

$$\tau = K(-\dot{\gamma})^n$$

Donde:

n =Índice de flujo ($n < 1$).

K =Índice de consistencia (Pa.s).

γ = Gradiente de velocidad (1/s).

Cuadro 3.2: Parámetros de la ecuación de la Ley de Potencia (LP), n y K (índice de flujo e índice de consistencia) (Elaboración propia).

Formulación	Modelo reológico	n (adimensional)	K (Pa.s)	R^2
F1	LP	0.714	0.76483129	0.994
F2	LP	0.785	0.53660126	0.996

Las emulsiones estudiadas presentaron un comportamiento pseudoplástico, debido a que las partículas dispersas en las emulsiones son deformables por su naturaleza y se puede observar con los valores de índice de flujo (n) que se ubica entre 0.71 y 0.79 ver cuadro 3.2.

El valor del índice de consistencia (K) de la emulsión de α – tocoferol F1 es de 0.76 [Pa·s] mayor que la registrada por la emulsión F2 de 0.53 [Pa·s], un valor menor de este parámetro refleja un alto valor del índice de flujo y en consecuencia una menor viscosidad, estableciendo que la emulsión F2 presento valores significativamente menores que F1, debido a mayor concentración alginato de sodio.

3.2. Selección de la formulación de muffin

Aunque se trabajó un mayor número de formulaciones solamente se presentan las que mejor resultado tuvieron en cuanto a presentación final y aspecto, esto con el objetivo de realizar un anteproyecto para su producción a escala industrial.

Como primer paso se realizaron las pruebas sensoriales con el objetivo de identificar la formulación más aceptable entre la población estudiantil.

3.2.1. Análisis sensorial

Se aplicó un análisis a los datos obtenidos de la evaluación sensorial para determinar la formulación de muffins de más agrado al panel y así adicionar las cápsulas de α -tocoferol. Para la evaluación se tomaron en cuenta tres formulaciones T1, T2 y T3 (Figura 3.8)

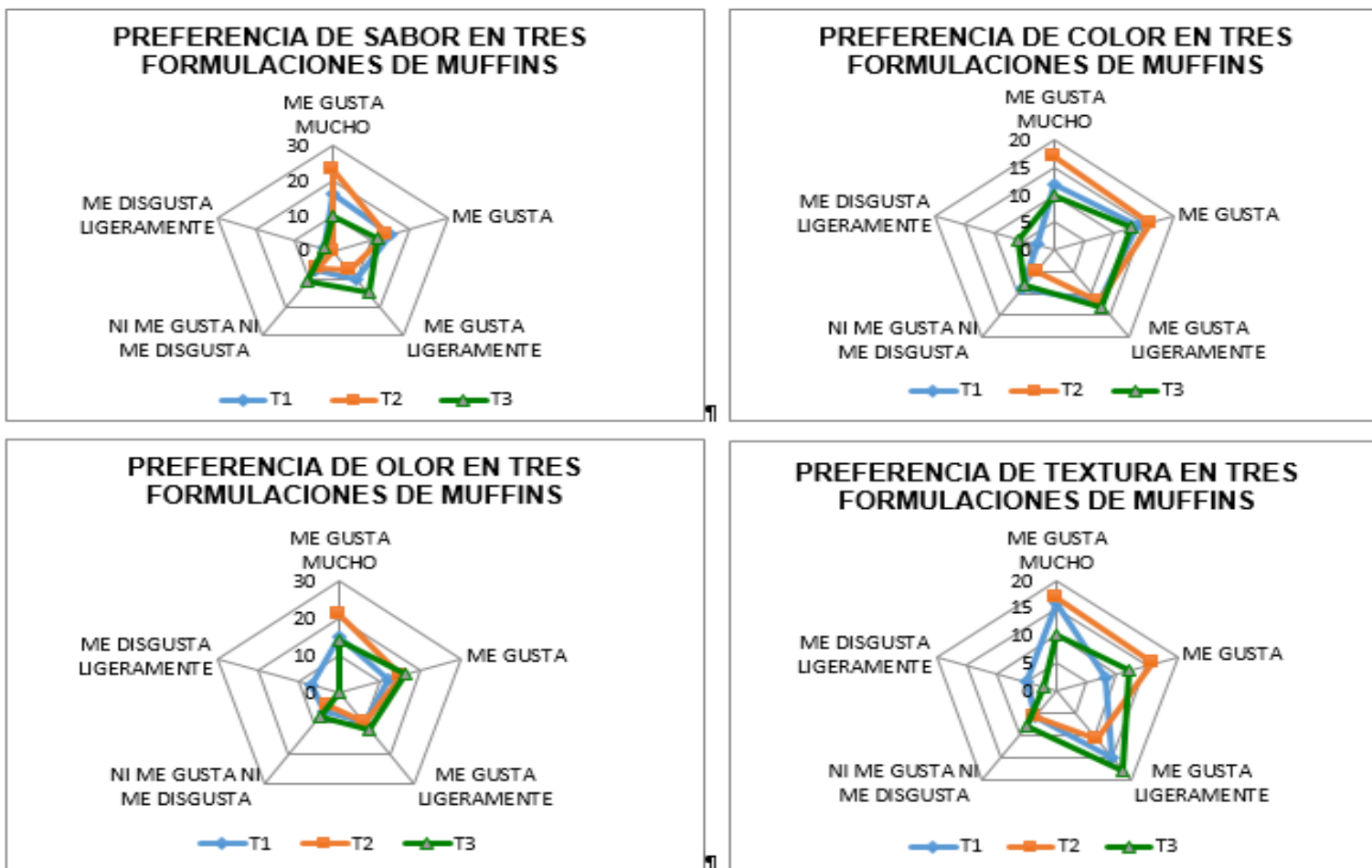


Figura 3.8: Aceptación sensorial de las formulaciones de muffin (T1, T2 y T3) (Elaboración propia).

En el cuadro 3.3 se consideró la media de todos los descriptores, en consideración de la ponderación similar de todos los descriptores.

Cuadro 3.3: Evaluación sensorial (Elaboración propia).

Atributos	Valor		
	T1	T2	T3
Sabor	5.72±1.178	6.08±1.046	5.34±1.153
Color	5.46±1.215	5.9±0.994	5.26±1.29
Olor	5.44±1.402	6.06±0.977	5.72±1.050
Textura	5.48±1.328	5.88±1.023	5.4±1.106
Promedio	5.5	6.1	5.62

El análisis estadístico permitió concluir que para el descriptor de sabor, la formulación T2 agradó en mayor proporción a los jueces, seguida de la T1 y T3; en cuanto al color la T2 tiene una mayor aceptación entre los jueces, dejando al final a las formulaciones T1 y T3. En el olor, la T2 presentó una mayor aceptación en comparación a los resultados obtenidos en la T1 y T3. Con respecto a la textura, se reflejó que el muffin T3 es más suave con respecto T2 y T1 sin embargo es más aceptada la T2 siguiéndole la T3. Concluyendo que la formulación T2, presentó un valor promedio de los descriptores superior a las formulaciones T1 y T3, razón por la cual se seleccionó dicha formulación para la incorporación de cápsulas de α -tocoferol y por lo tanto se determinó la vida útil del producto en base a análisis fisicoquímicos y microbiológicos tomando como muestra control una formulación sin la adición de cápsulas de α -tocoferol (cuadro 3.4).

Cuadro 3.4: Preparación del muffin con T2 (Elaboración propia).

Ingredientes	T2*	T2
Harina de trigo	350g	350g
Huevo	100g	100g
Leche	175g	175g
Azúcar	200g	200g
Sal	3g	3g
Polvo para hornear	4g	4g
Mantequilla	110g	110g
Cápsulas	---	9g

*Formulación utilizada como control sin la adición de cápsulas

3.3. Caracterización fisicoquímica del muffin adicionado con microcápsulas de α -tocoferol

Proceso de horneado

En la Figura 3.9 Se presentan las imágenes del producto de panificación con y sin cápsulas observados en el microscopio óptico.

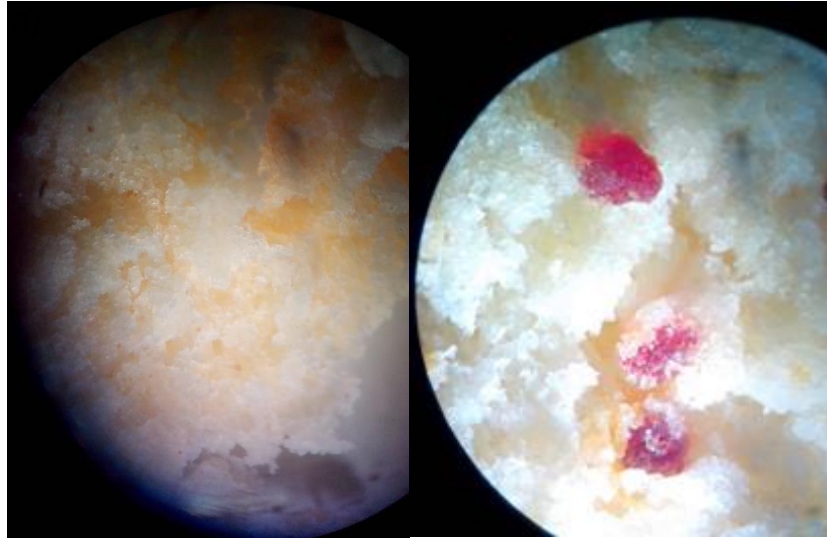


Figura 3.9: Fotografías del muffin sin cápsulas a) con cápsulas b) (Elaboración propia)

3.3.1. Determinación de humedad

En la cuadro 3.5 se observa un cambio en la humedad de ambos productos de panificación del día 0 al día 10, esto es debido a que con el paso de los días los productos de panificación se van deshidratando. Mientras que entre las muestras con capsula y sin capsula no se encontró una diferencia significativa.

Cuadro 3.5: Humedad de los muffins con y sin cápsulas (Elaboración propia).

Muestra	Tiempo (días)		
	0	5	10
Con cápsulas	29.58 ^a	25.46 ^b	22.57 ^c
Sin cápsulas	27.68 ^a	24.87 ^b	20.26 ^c

Los resultados son el promedio de 3 mediciones. Medias en las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes. Medias en renglones con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

3.3.2. Determinación de color

En el Cuadro 3.6 se presentan los resultados de color de las muestras obtenidas durante el tiempo de almacenamiento. De los datos experimentales obtenidos se observó que el cambio más importante en el color del producto durante el almacenamiento fue el parámetro b de Hunter, para los panes sin cápsulas y con cápsulas, dado que el parámetro disminuyó en un 2.96 para los panes con cápsulas y 2.76 sin capsula lo que nos indica que ambos productos se volvieron ligeramente más oscuros, lo cual fue notable a simple vista y se puede atribuir a la deshidratación del mismo. Por otra parte el cambio en la luminosidad, denotado por el parámetro L de Hunter fue de 0.36 y 1.24 para panes con capsula y sin capsula es debido por la deshidratación, afectando el proceso de reflexión de la luz.

Es necesario recalcar que el seguimiento microbiológico de ambos productos de panificación mostró que no existió crecimiento de hongos verdes filamentosos (*Aspergillus* o *Penicillium*), descartando el parámetro b se hubiese modificado por la presencia de dichos hongos.

Los valores h° de las muestras de muffins con cápsulas (85.73) son estadísticamente similares que los muffins control (86.82) en el día 0, al pasar el tiempo estas muestras son estadísticamente diferentes a los 10 días de evaluación con un valor de (80.29) para los muffins con cápsulas y para los muffins control 81.22, este parámetro indica el cambio de tono. En cuanto a los valores de C^*_{ab} estadísticamente hay diferencias para los días de almacenamiento y en cuanto la muestras con capsulas y sin capsulas. Este

parámetro es un indicador del cambio de cromaticidad que presentaron ambos productos de panificación, durante su vida útil.

Se calculó también la diferencia neta de color y se obtuvo que al final del tiempo de almacenamiento, un valor de ΔE de 3.70 y ΔE de 2.40 para el producto con cápsulas y sin cápsulas respectivamente.

Cuadro 3.6: Medición de color valores L^* , a^* , b^* y diferencia de color total hue and chroma (Elaboración propia).

Muestra	Parámetros de color	0	5	10
Con cápsulas	L^*	70.05 ^a	70.31 ^b	69.69 ^c
	a^*	2.32 ^a	2.12 ^a	4.61 ^b
	b^*	26.91 ^a	24.28 ^b	23.95 ^c
	Cab	27.01 ^a	24.37 ^b	27.34 ^c
	$^{\circ}h$	85.73 ^a	85.01 ^a	80.29 ^b
	ΔE^*	0 ^a	2.65 ^b	3.7 ^c
Sin cápsulas	L^*	70.57 ^b	70.42 ^c	69.33 ^d
	a^*	1.45 ^b	1.67 ^b	3.61 ^c
	b^*	26.14 ^c	24.28 ^b	23.38 ^a
	Cab	26.18 ^b	24.34 ^c	23.66 ^d
	$^{\circ}h$	86.82 ^b	86.06 ^b	81.22 ^a
	ΔE^*	0 ^a	1.88 ^c	2.4 ^d

Los resultados son el promedio de 3 mediciones. Medias en las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes. Medias en renglones con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

3.3.3. Determinación de actividad de agua (a_w)

Respecto a la actividad de agua se observó la disminución de humedad en ambos productos de panificación del día 0 al día 10, esto a consecuencia de la deshidratación del producto a través del tiempo. Este proceso de deshidratación presenta efectos positivos y negativos en el producto durante su vida útil. Sin embargo entre los productos de panificación del día 0 al día 5 estadísticamente no se encontró diferencia con respecto a_w

Por otro lado una reducción en el contenido de humedad genera una mayor estabilidad microbiológica del producto, no obstante se presenta un proceso de endurecimiento de la matriz panaria, lo que reduce la aceptación del posible consumidor (cuadro 3.7).

Cuadro 3.7: *Determinación de a_w en el muffin (Elaboración propia).*

Muestra	Tiempo (días)		
	0	5	10
Con cápsulas	0.885 ^a	0.871 ^a	0.843 ^b
Sin cápsulas	0.880 ^a	0.877 ^a	0.812 ^b

Los resultados son el promedio de 3 mediciones. Medias en las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes. Medias en renglones con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Se ha reportado en literatura que los diferentes microorganismos crecen a distintos valores de a_w .

a_w de 0.98: Los microorganismos que crecen en este valor de a_w crecen sin impedimento y son causantes de toxiinfecciones.

a_w 0.93 – 0.98: Pueden crecer un gran número de patógenos.

a_w 0.85 – 0.93: Crece *Staphylococcus aureus* y los hongos.

a_w 0.60 – 0.85.- Microorganismos altamente resistentes a bajas a_w (osmófilos o halófilos).

$a_w < 0.60$: No hay crecimiento microbiano.

3.3.4. Textura

Los productos de panificación con y sin cápsulas presentaron un aumento en la fuerza de penetración con un valor de 0.7 Kgf y 0.6 Kgf para el final del tiempo de almacenamiento, siendo mayor para los productos con cápsulas. El aumento de este parámetro significa que ambos productos se deshidrataron como previamente se había reportado (cuadro 3.8).

Cuadro 3.8: Análisis de textura (Elaboración propia).

Componente	Textura (Kgf)		
	0	5	10
Con cápsulas (%)	0.36 ^a	0.45 ^a	0.7 ^b
Sin cápsulas (%)	0.33 ^a	0.38 ^a	0.6 ^b

Los resultados son el promedio de 3 mediciones. Medias en las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes. Medias en renglones con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

3.4. Análisis bromatológico

En el cuadro 3.9 Se presentan los resultados del análisis bromatológico en los dos productos de panificación (con y sin cápsulas).

Cuadro 3.9: Análisis bromatológico (Elaboración propia).

ANALISIS BROMATOLOGICOS		
Componente	Con cápsulas (%)	Sin cápsulas (%)
Proteina	7.88a	8.84b
Grasas	12.16a	12.16a
Fibra cruda	12.64a	12b
Cenizas	0.0075a	0.145b
Carbohidratos	67.3a	67.3a

Los resultados son el promedio de 3 mediciones. Medias en reglones con la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los productos analizados presentaron diferencias significativas en cuanto a su composición en proteínas, fibra cruda y cenizas. El producto con cápsulas presentó una menor concentración de proteínas, debido a la adición de las cápsulas que generó un mayor contenido de carbohidratos y fibra como resultado del ácido alginico y aceites, caso contrario mostrado en cuanto a fibra y cenizas. En el cuadro 3.10 se presenta la etiqueta nutrimental diseñada para los productos de panificación.

La formulación del producto de panificación con cápsulas se comparó con un producto similar comercial “mantecadas Bimbo” encontrándose una diferencia de proteínas de mayor cantidad en los muffins con capsula que las comerciales.

Mientras que en los carbohidratos se encontró mayor cantidad en los muffins con capsula que en las mantecadas comerciales. Como se puede observar en su respectiva información nutrimental de mantecadas bimbo mostrada en el cuadro 3.11.

Cuadro 3.10: Información nutrimental del muffin (Elaboración propia).

Información nutrimental del muffin	
Tamaño de la porción: 1	
Peso por porción: 31.25 g	
<hr/>	
Contenido energético KJ (Kcal)	128.175
Proteínas (g)	2.46
Grasas totales (g)	3.80
Carbohidratos (g)	21.03
Fibra cruda (g)	3.95
Cenizas (g)	0.00

Cuadro 3.11: Composición nutrimental del muffin (Elaboración propia).

Información nutrimental del muffin	
Tamaño de la porción: 1	
Peso por porción: 31.25 g	
<hr/>	
Contenido energético Cal (KJ)	534
Proteínas (g)	1.9
Grasa total (g)	7
Hidratos de carbono (g)	14
Fibra dietética (g)	0
Sodio (mg)	110

3.5. Evaluación microbiológica

Las pruebas microbiológicas se realizaron a los 0, 1, 2, 5 y 10 días en el producto panificado con y sin cápsulas después de su elaboración. Las pruebas microbiológicas de los productos de panificación T2 con y sin cápsulas fueron

realizadas a los 0, 1 2, 5 y 10 días después de su elaboración obteniendo los resultados mostrados en los cuadros 3.12 y 3.13.

Se observó mayor población de hongos y levaduras en la muestra 2, pero cumple con la norma en el periodo que fue realizado el análisis. Muy probablemente exista un incremento de la población de hongos y levaduras a un mayor tiempo de almacenamiento.

Cuadro 3.12: Cuentas microbianas obtenidas para la F2 sin cápsulas durante su almacenamiento a temperatura ambiente (Elaboración propia).

Microorganismos	Días de almacenamiento			
	1	2	5	10
Mesófilos aerobios (UFC/g)	Negativo	Negativo	negativo	Negativo
Hongos y Levaduras (UFC/g)	19.3±1.4 E+3	19.3±1.4 E+3	19.3±1.4 E+3	19.3±1.4 E+3
Coliformes totales (UFC/g)	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Cuadro 3.13: Cuentas microbianas obtenidas para la F2 con cápsulas durante su almacenamiento a temperatura ambiente (Elaboración propia).

Microorganismos	Días de almacenamiento			
	1	2	5	10
Mesófilos aerobios (UFC/g)	Negativo	Negativo	negativo	Negati vo
Hongos y Levaduras (UFC/g)	20.9 ±1.2 E+3	20.9 ±1.2 E+3	20.9 ±1.2 E+3	20.9 ±1.2 E+3
Coliformes totales (UFC/g)	Negativo	Negativo	Negativo	Negati vo

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Fue factible producir un producto de panificación enriquecido con cápsulas de α -tocoferol sin la adición de antimicrobianos, con una vida útil de 10 días, presentando propiedades sensoriales adecuadas.
- Se realizaron varias formulaciones siendo F2 la que mayor aceptación sensorial presentó, de acuerdo a los análisis realizados en una muestra de 50 jueces no entrenados.
- La adición de las cápsulas de α -tocoferol en el producto de panificación no fue objetada por el consumidor.
- El producto al cual se le adicionaron las cápsulas presentó buena aceptación sensorial por el público en general.
- El sabor y aroma del producto final fue modificado positivamente debido a la adición de las cápsulas durante su formulación.
- Por lo tanto se puede decir que la adición de cápsulas de α -tocoferol durante la elaboración de productos de panificación es una opción para su conservación y mejoramiento obteniendo un alimento aceptable, con características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas aceptables.

5. BIBLIOGRAFÍA

Aggett P, Ashwell M, Borner F, Diplock A, Fern E, Roberfroid M (1999). Scientific Concepts of food functional in Europe: Consensus Document. *Brit J Nutr* 1999; 81 (Suppl. 1): S1-S27

Atkins T. D. and Larsen N. G (1990). Prediction of mechanical dough development, water absorption and baking performance from farinograph parameters Article first published online 20 septiembre 2006.

Azzi, A., & Stocker, A. (2000). Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progress in Lipid Research*, 39(3), 231-255.

Bauernfeind, J., & Desai, I. (1977). The tocopherol content of food and influencing factors. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 8(4), 337-382.

Champagne, C.P.; Blahuta, N.; Brion, F. and Gagnon, C. 2000. A vortex-bowl disk atomizer system for the production of alginate beads in a 1500-liter fermentor. *Biotechnology and Bioengineering*. 68(6):681-688.

Champagne, Claude P. and Fustier, Patrick. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*. 18(2):184-190.

Chan, Eng Seng; Lee, Boon Beng; Ravindra, Pogaku and Poncelet, Denis (2009). Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced

through extrusion-dripping method. *Journal of Colloid and Interface Science*. 338(1):63-72.

Chao, J., Wang, H., Zhao, W., Zhang, M., & Zhang, L. (2012). Investigation of the inclusion behavior of chlorogenic acid with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 277-282.

Choe, E., & Min, D. B. (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science*, 70(9), R142-R159.

Delgado, O. L., Betanzos, C. G., & Sumaya, M. M. T. (2010). Importancia de los anti-oxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, 50, 10-15, 1665-4412.

Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. Foodstuff-determination of ether extract (soxhlet). Normas mexicanas. Dirección general de normas. NMX-F-089-S-1978. Fecha de aprobación y publicación: Noviembre 03, 1978.

Determinación de proteínas. Foods. determination of proteins. Normas mexicanas. Dirección general de normas. NMX-F-068-S-1980. Fecha de aprobación y publicación: Agosto 4, 1980.

Dohnal, Jiří and Štěpánek, František. (2010). Inkjet fabrication and characterization of calcium alginate microcapsules. *Powder Technology*. 200(3):254-259.

Draget, K.I. 2000. Alginates. In Handbook of hydrocolloids. (pp. 379-395). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited -Boca Raton, FL, USA: CRC Press LLC.

Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., et al. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chemistry, 129, 345e350.

Funami, Takahiro; Fang, Yapeng; Noda, Sakie; Ishihara, Sayaca; Nakauma, Makoto; Draget Kurt I. Nishinari, Katsuyoshi and Phillips, Glyn O. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. Food Hydrocolloids. 23(7):1746-1756.

Gibbs, Bernard F.; Kermasha, Selim; Alli, Inteaz and Mulligan, Catherine N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 50(3):213-224.

Gouin, Sébastien. 2004. Microencapsulation: industria appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food Science & Technology. 15(7-8):330-347.

Helgerud, Trond; Gåserød, Olav; Fjæreide, Therese; Andersen, Peder O. and Larsen, Christian K. 2010. Alginates. In Food stabilizers, thickeners and gelling agents. (pp. 50-72). United Kingdom: WileyBlackwell.

Huma, N., Anjum, M., Sehar, S., Issa Khan, M., & Hussain, S. (2008). Effect of soaking and cooking on nutritional quality and safety of legumes. *Nutrition & Food Science*, 38(6), 570-577.

Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L.-Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.

Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106-126.

Liqin, Zheng; Zhansheng, Ding; Min, Zhang; Jincal, Sun (2011). Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. *Journal of Engineering*, 104:89 – 95.

Lozano-Vazquez, G., Lobato-Calleros, C., Escalona-Buendia, H., Chavez, G., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2015). Effect of the weight ratio of alginate-modified tapioca starch on the physicochemical properties and release kinetics of chlorogenic acid containing beads. *Food Hydrocolloids*, 48, 301-31.

Mark, Daniel; Haeberle, Stefan; Zengerle, Roland; Ducree, Jens and Vladisavljević, Goran T. 2009. Manufacture of chitosan microbeads using centrifugally driven flow of gel-forming solutions through a polymeric micronozzel. *Journal of Colloid and Interface Science*. 336(2):634-641.

Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., 10 de noviembre de 1995.

Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma Oficial Mexicana, NOM-113-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., 10 de mayo de 1995.

Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994 Diario Oficial de la Federación. México, D.F., 10 de mayo de 1995.

Mofidi, N.; Aghai-Moghadam, M. and Sarbolouki, M.N. (2000). Mass preparation and characterization of alginate microspheres. *Process Biochemistry*. 35(9):885-888.

Mortazavian, A., Razavi, S. H., Ehsani, M. R. y Sohrabvandi, S. (2007). Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology*. 254:1-18.

Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., & Osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food chemistry*, 187, 174-181.

Pal, Kunal; Paulson, Allan T. and Rousseau, Dérick. 2009. Biopolymers in controlled release delivery systems. In *Modern biopolymer science. Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application*. (pp. 519-557). London-Burlington-San Diego: Academic Press.

Poncelet, D. 2001. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. In Bioartificial organs III: tissue sourcing immunoisolation and clinical trials. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 944:74-82.

Roleira, F. M. F., Tavares-da-Silva, E. J., Varela, C. L., Costa, S. C., Silva, T., Garrido, J., et al. (2015). Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry*, 183, 235-258.

Sandhir, R., Yadav, A., Sunkaria, A., & Singhal, N. (2015). Nano-antioxidants: An emerging strategy for intervention against neurodegenerative conditions. *Neurochemistry International*, 89, 209-226.

Schneider, C. Chemistry and biology of vitamin E, *Mol. Nutr. Food Res.* 49 (2005) 7–30, <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.200400049>.

Smidsrod, O. y Skjak-Braek, G. (1990). Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology*.8:71-78

Serna, S. S. R. (2001). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor. Mexico D.F.

Sonwane C.G. and Bhatia S.K. (2000). Characterization of pore size distribution of mesoporous mterials from adsorption isotherms, 9099-9110.

Tajima, k., and H. Yoshizumi. 1972. Effects of the inorganic salt concentration on yeast metabolism in alcoholic fermentation. III. Metabolic pathway of abnormal fermentation by yeast in the salted medium. *J. Ferment. Technol*, 50: 764-769.

Zuidam, Nicolaas Jan and Shimoni, Eyal. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. (pp. 3-29). New York, NY, USA: Springer Science Bus.