

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROCÁPSULAS
CON ACEITE ESENCIAL DE CANELA PARA SU APLICACIÓN
EN LA FABRICACIÓN DE PELÍCULAS DE ALMIDÓN”.**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN
INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

Ing. Luz del Carmen López Zapata

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Leticia López Zamora

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. José Amir González Calderón





FECHA: 06/03/2018
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I

C. LUZ DEL CARMEN LOPEZ ZAPATA
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

**"ELABORACION Y CARACTERIZACION DE MICROCAPSULAS CON ACEITE
ESENCIAL DE CANELA PARA SU APLICACION EN LA FABRICACION DE
PELICULAS DE ALMIDON".**

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E


RUBEN POSADA GOMEZ

JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO

C.A. TITULACIÓN



**SECRETARIA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO
TECNOLÓGICO
DE ORIZABA**

ggc





"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA : 22/01/2018

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. RUBEN POSADA GOMEZ
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACION.
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

LUZ DEL CARMEN LOPEZ ZAPATA

la cual lleva el título de:

"ELABORACION Y CARACTERIZACION DE MICROCAPSULAS CON ACEITE ESENCIAL DE CANELA PARA SU APLICACION EN LA FABRICACION DE PELICULAS DE ALMIDON".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DRA. LETICIA LOPEZ ZAMORA

SECRETARIO : DR. JOSE AMIR GONZALEZ CALDERON

VOCAL : DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO

VOCAL SUP. : M.I. ADRIAN REYES BENITEZ

FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



Dedicatorias

Especialmente a mis padres, gracias por que hasta hoy en día he podido comprender sólo un poco de su arduo trabajo como padres al criar 4 hijas, gracias por sus sacrificios por querer siempre lo mejor para nosotras los admiro y los amo inmensamente.

A Rosario, mi querida mamá. Gracias por que a pesar de mis errores tú siempre confías en mí, por tu amor, por tus enseñanzas, porque siempre das todo, gracias por tu fuerza y tu valentía.

A Eladio, mi papá. Gracias por ser parte de mi vida y apoyarme.

A mis hermanas, Gabi, Dulce y Chayo porque sin ustedes no sería quien soy hoy en día, porque siempre han estado para mí, apoyándome, las quiero mucho.

A mis sobrinos consentidos Zuri y Leví porque son mi alegría, siempre los llevo en mis pensamientos, los quiero mucho.

A Juan Pablo, Héctor y Heber, gracias por formar parte de esta travesía, por los momentos de risas, de trabajo, de enseñanzas, a ustedes gracias por su amistad.

A Héctor, porque estos 6 años que llevo de conocerte más que mi novio eres mi mejor amigo, mi confidente, mi consejero. Te agradezco porque siempre me diste tu confianza, gracias por apoyarme, por impulsarme a seguir mis sueños, porque en los momentos en los que me rendía tu siempre me diste tu mano para levantarme y no rendirme. Por cada uno de los momentos vividos, gracias.

Ma. Elsa Donis Estrada, gracias por sus consejos.

Gracias a todos los nombrados anteriormente, haber estado lejos de mi tierra natal fue realmente difícil, pero gracias al apoyo de cada uno de ustedes siempre me sentí cerca de casa.

Si caminas solo, irás más rápido; si caminas acompañado, llegarás más lejos.

Proverbio chino

Agradecimientos

Dra. Leticia López Zamora

Gracias a usted por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, así como de realizar este trabajo de investigación. Por sus valiosos consejos y guía en la realización del mismo.

Dr. José Amir González Calderón

Gracias a por darme la oportunidad de realizar una estancia en el Tecnológico de Celaya, fue una experiencia realmente valiosa.

Dra. Ma. Cristina Irma Pérez Pérez

Gracias por la confianza brindada para formar parte de su equipo de trabajo en el Tecnológico de Celaya, así como de integrarnos y hacernos sentir parte de su grupo de investigación.

M. C. Susana Elizabeth Altamirano Romo

Gracias Maestra Susi, por brindarme su confianza para trabajar en el laboratorio del Tecnológico de Roque.

A mis compañeros del laboratorio de Investigación de Físicoquímica y Materiales de Empaque Alternativos del ITCelaya gracias por su amistad.

Parte de esta tesis se desarrolló en el Instituto Tecnológico de Celaya, y así como en el Instituto Tecnológico de Orizaba durante el periodo Enero 2016- Enero 2018. Las presentaciones en congresos y publicaciones obtenidas de esta tesis se enlistan a continuación:

PRESENTACIONES EN CONGRESOS

- | | | |
|------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2017 | Poster | Composición química del aceite de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> y <i>Canelón</i>). 52° Congreso Mexicano de Química, Puerto Vallarta, Jalisco. 26-29 de Septiembre. |
| 2017 | Ponencia | Microencapsulación del aceite esencial de canela (<i>Canelón</i>) mediante secado por aspersion utilizando goma arábica y almidón de maíz como material de pared. Congreso internacional de investigación de Academia Journals, Celaya Guanajuato. 8-10 de Noviembre. |

PUBLICACIONES

- | | |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2017 | Luz Del Carmen López Zapata, Leticia López Zamora, J. A. González Calderón. Composición química del aceite de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> y <i>Canelón</i>). Memorias del 52° Congreso Mexicano de Química, Puerto Vallarta, Jalisco. 26-29 de Septiembre. |
| 2017 | Dra. Leticia López Zamora, Dr. J. A. González Calderón e Ing. Luz Del Carmen López Zapata. Microencapsulación del aceite esencial de canela (<i>Canelón</i>) mediante secado por aspersion utilizando goma arábica y almidón de maíz como material de pared. Memorias del Congreso internacional de investigación de Academia Journals, Celaya Guanajuato. 8-10 de Noviembre. |

RESUMEN

Elaboración y caracterización de microcápsulas con aceite esencial de canela para su aplicación en la fabricación de películas de almidón

Realizado por: I. Q. Luz Del Carmen López Zapata

Dirigido por: Dra. Leticia López Zamora
Dr. José Amir González Calderón

El aceite esencial de canela (AEC) presenta propiedades antimicrobianas debido a los compuestos químicos que la constituyen, sin embargo, una principal desventaja es la oxidación una vez que estos son extraídos, lo que hace necesario implementar técnicas que permitan conservar sus propiedades. La microencapsulación es una alternativa factible que permite la protección de compuestos bioactivos. El objetivo de este estudio fue identificar las condiciones óptimas para el proceso de microencapsulación de AEC para mejorar las propiedades antimicrobianas de bio-recubrimientos a base almidón, utilizando el proceso de secado por aspersión. Los materiales que se seleccionaron para la microencapsulación fueron: almidón de maíz y goma arábica debido a sus propiedades emulsificantes. Se empleó un diseño Box- Behnken para estudiar diversas formulaciones para su microencapsulación, siendo las variables independientes concentración de materiales encapsulantes (10, 20, 30%), concentración de AEC (10, 20, 30%) y proporción de materiales (25:75, 50:50, 75:25) siendo la variable de respuesta la eficiencia de microencapsulación, se realizó la caracterización de las microcápsulas (morfología, humedad, humectabilidad, actividad de agua a_w , rendimiento, ρ_{aparente} , ρ_{compacta}) resultado de la mejor y peor eficiencia, Finalmente, se estudió la actividad antimicrobiana del AEC y de las microcápsulas. Como resultado de la caracterización del AEC se demostró que la especie *Canelón* procedente de la región de Veracruz, México presentó un 47.4% de Cinamaldehído, un 9.8% superior al obtenido para la especie *Cinnamomum zeylanicum* de Matara, Sri Lanka. La densidad del AEC tuvo un valor de 0.99 g/mL, los rendimientos del AEC fueron de 6.64% y 4.3 para la especie *Canelón* y *Cinnamomum zeylanicum* respectivamente. El análisis DPPH corroboró la oxidación del AEC. A partir de los resultados del diseño Box-Behnken se determinó que las condiciones óptimas de trabajo fueron: materiales de encapsulación (10%), concentración de AEC (10%) y proporción de materiales encapsulantes (50:50) obteniéndose una eficiencia máxima de 34.55%. Mediante el análisis de varianza (nivel de confianza del 93%) se determinó que las variables que repercuten de manera positiva a la eficiencia de la microencapsulación son la concentración de los materiales de encapsulación y la relación de AEC. La morfología de las microcápsulas presentó formas irregulares, sin fisuras en su superficie, lo que determina una buena impregnación de AEC. Los valores de a_w y de humedad fueron inferiores a 0.3 y 10% respectivamente, lo que demuestra la estabilidad de los microencapsulados de AEC. Los valores de humectabilidad fueron de 29.99 min, indicando que los materiales encapsulantes elegidos permiten que el material activo dentro de las microcápsulas posea una liberación controlada. Asimismo, los resultados para la ρ_{aparente} , ρ_{compacta} de las microcápsulas fueron 0.55 y 0.50 g/mL respectivamente. El AEC y los microencapsulados presentaron actividad antimicrobiana del tipo bactericida contra *E. coli* y *Salmonella* excepto contra *Staphylococcus* a partir de la concentración del 60%, lo que demuestra su eficiencia con los bacilos gramnegativos.

ABSTRACT

Preparation and characterization of microcapsules with cinnamon essential oil for application in the manufacture of starch films

By: I. Q. Luz Del Carmen López Zapata

Advisors: Dra. Leticia López Zamora
Dr. José Amir González Calderón

Cinnamon essential oil of (AEC) has anti-microbial properties due to the chemicals that constitute it, however, a main disadvantage is oxidation once these are extracted, making it necessary to implement techniques that allow keep its properties. The microencapsulation is a feasible alternative that allows the protection of bioactive compounds. The objective of this study was to identify the optimal conditions for the microencapsulation process of AEC to improve antimicrobial properties of bio-coatings based starch, using the drying process by spraying. The materials that have been selected for the microencapsulation were: corn starch and gum Arabic due to its emulsifying properties. A Box-Behnken design was used to study various formulations for its microencapsulation, the independent variables were: encapsulating materials concentration (10, 20, 30%), AEC concentration (10, 20, 30%) and materials proportion (25: 75, 50:50, 75:25), the response variable was the microencapsulation efficiency, the characterization of the microcapsules (morphology, moisture, wettability, water activity a_w , yield, ρ_{apparent} , ρ_{compact}) was the result of the best and worse efficiency, finally, we studied the antimicrobial activity of the AEC and the microcapsules. As result of the characterization of the AEC, showed that the species *Canelón* from Veracruz, Mexico presented a 47.4% of *Cinnamaldehyde*, 9.8% higher than that obtained for the species *Cinnamomum zeylanicum* from Matara, Sri Lanka. The density of the AEC had a value of 0.99 g/mL, the yields of the AEC were 6.64% and 4.3 for the species *Canelón* and *Cinnamomum zeylanicum* respectively. The DPPH analysis corroborated the oxidation of the AEC. Based on the results of the Box-Behnken design was determined the optimal conditions of work were: encapsulation materials (10%), AEC concentration (10%) and encapsulating materials proportion (50:50) obtaining 34.55% of maximum efficiency. Through of variance analysis (93% confidence level) was determined that the variables affecting positively the efficiency of microencapsulation are the concentration of encapsulation materials and the relation of AEC. The morphology of the microcapsules presented irregular shape, no cracks on its surface, what determines a good impregnation of AEC. a_w and moisture values were lower than 0.3 and 10% respectively, which demonstrates the stability of the microencapsulated of AEC. Values of wettability were 29.99 min, indicating that the chosen encapsulation materials allow the active material inside the microcapsules to possess a controlled release. Likewise, the results for the ρ_{apparent} , ρ_{compact} of the microcapsules were 0.55 and 0.50 g / mL respectively. The AEC and the microencapsulated showed antimicrobial activity of antibacterial type against *E. coli* and *Salmonella* except against *Staphylococcus* from the concentration of 60%, which demonstrates its efficiency with gram-negative bacillus.

ÍNDICE

	Página
Resumen	iv
Abstract	v
Lista de Figuras	x
Lista de Tablas	xii
Nomenclatura	xiii
Introducción	1
CAPÍTULO 1 Fundamentos teóricos	3
1.1 Aceites esenciales	4
1.1.1 Aceite esencial de canela	5
1.2 Métodos de extracción de los aceites esenciales	6
1.2.1 Destilación por arrastre de vapor	6
1.2.2 Hidrodestilación	7
1.2.3 Extracción con disolventes	7
1.2.4 Extracción por fluidos supercríticos	8
1.2.5 Extracción por microondas	9
1.2.6 Efecto de pre-tratamientos con ultrasonido de baja frecuencia	9
1.3 Canela	10
1.3.1 Botánica de la canela	11
1.3.2 Ecología y cultivo	11
1.3.3 Cinamaldehído	12
1.4 Microencapsulación	12
1.4.1 Estructura de las microcápsulas	13
1.4.2 Microencapsulación de aceites esenciales	14
1.4.3 Métodos de liberación de los materiales microencapsulados	16
1.5 Técnicas de microencapsulación	17
1.5.1 Secado por aspersion	17
1.5.2 Componentes de un secador por aspersion	21
1.6 Componentes para la formación de microcápsulas	22
1.6.1 Goma arábica	22
1.6.2 Almidón	22
1.7 Recubrimientos comestibles	23
	vi

1.7.1 Tipos de recubrimientos comestibles	24
1.7.2 Recubrimientos comestibles en frutas	24
1.7.3 Formación de recubrimientos	26
1.8 Biopolímeros en el uso de recubrimientos comestibles	27
1.8.1 Polisacáridos	27
1.8.2 Proteínas	28
1.8.3 Lípidos	29
1.9 Propiedades fisicoquímicas de los alimentos	29
1.9.1 Actividad de agua	29
1.9.2 Humedad	30
1.9.3 Densidad aparente	31
1.10 Métodos de evaluación de la capacidad antimicrobiana de extractos de plantas y ácidos orgánicos	32
1.10.1 Métodos en agar	32
1.11 Antecedentes	33
CAPITULO 2 Materiales y métodos	35
2.1 Métodos	36
2.2 Proceso de extracción del AEC	37
2.2.1 Selección de la materia prima	37
2.2.2 Preparación de la materia prima	37
2.2.3 Condiciones de extracción por hidrodestilación	38
2.2.4 Extracción del AEC por hidrodestilación	38
2.2.5 Extracción de AEC con pretratamiento de ultrasonido	39
2.2.6 Extracción de AEC con pretratamiento de maceración	39
2.2.7 Recolección del AEC	39
2.2.8 Separación de componentes del destilado de canela	40
2.2.9 Almacenamiento del AEC	41
2.3 Caracterización del AEC	42
2.3.1 Densidad del AEC	42
2.3.2 Rendimiento de extracción del AEC	42
2.3.3 Análisis del AEC por espectroscopia infrarroja (FT-IR)	43
2.3.4 Evaluación de la capacidad antioxidante del AEC	44
2.3.5 Cromatografía de gases/ Espectrometría de masas (GC-MS) del AEC	45
2.4 Conformación de la emulsión	46

2.4.1	Preparación de la emulsión	46
2.4.2	Estabilidad de la emulsión	48
2.5	Proceso de microencapsulación del AEC	48
2.5.1	Diseño experimental para metodología de superficie de respuesta	48
2.5.2	Microencapsulación mediante secado por aspersión	50
2.6	Caracterización fisicoquímica de las microcápsulas	52
2.6.1	Rendimiento de la microencapsulación	52
2.6.2	Contenido de aceite total	52
2.6.3	Eficiencia de microencapsulación	53
2.6.4	Determinación de humedad	53
2.6.5	Humectabilidad	54
2.6.6	Densidad aparente	54
2.6.7	Densidad compacta	54
2.6.8	Actividad acuosa de las microcápsulas	55
2.6.9	Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)	55
2.6.10	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	57
2.7	Actividad antimicrobiana	57
2.7.1.	Método por papel filtro para microcápsulas de AEC	58
2.7.2	Método por orificios para el AEC	58
CAPITULO 3 Resultados y discusión		61
3.1	Proceso de extracción del AEC	61
3.2	Densidad del AEC	61
3.3	Rendimiento de extracción del AEC	61
3.4	Análisis del AEC por espectroscopia infrarroja (FT-IR)	62
3.5	Evaluación de la capacidad antioxidante del AEC	64
3.6	Cromatografía de gases/ espectrometría de masas (GC-MS) del AEC	67
3.7	Proceso de microencapsulación del AEC	68
3.7.1.	Diseño experimental Box-Behnken para el proceso de microencapsulación	68
3.8	Caracterización fisicoquímica de las microcápsulas de AEC	71
3.8.1	Estabilidad de la emulsión	71
3.8.2	Rendimiento	72
3.8.3	Eficiencia de la microencapsulación	74
3.8.4	Humedad	76

3.8.5 Humectabilidad	76
3.8.6 Densidad aparente y compacta	77
3.8.7 Actividad acuosa (a_w)	78
3.8.8 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)	79
3.8.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	81
3.8.10 Actividad antimicrobiana	83
Conclusiones y recomendaciones	112
Referencias bibliográficas	114

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Equipo de hidrodestilación simple	7
1.2	Canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	9
1.3	Morfología de las microcápsulas	13
1.4	Representación esquemática de un secador por aspersión	21
1.5	Mapa de la estabilidad de los alimentos	30
2.1	Metodología general del proceso para la obtención de microcápsulas de aceite esencial de canela para su aplicación en la fabricación de películas de almidón	36
2.2	Muestras de los dos tipos de canela: a) <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , b) <i>Canelón</i> .	37
2.3	Equipo de extracción del aceite esencial de canela	38
2.4	Muestras recolectadas de destilado para cada experimento realizado	40
2.5	Destilado de canela centrifugado	41
2.6	Muestras de aceite esencial almacenadas en tubos de ensaye	41
2.7	Equipo FT-IR con detector ATR Perkin Elmer	43
2.8	Espectrofotómetro UV/VIS Genesys 10S	44
2.9	Equipo de cromatografía	45
2.10	Diseño Box-Behnken de tres factores	49
2.11	Secador por aspersión Yamato ADL311S	51
2.12	Calorímetro TA instruments modelo Q-2000	56
3.1	Espectro de infrarrojo del aceite esencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	63
3.2	Espectro de infrarrojo del aceite esencial de canela (<i>Canelón</i>)	63
3.3	Porcentaje de inhibición de radicales libres para diferentes concentraciones de AEC para <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .	66
3.4	Porcentaje de inhibición de radicales libres para diferentes concentraciones de AEC para <i>Canelón</i>	66
3.5	a) Superficie de respuesta y b) contornos para la eficiencia de microencapsulación del AEC	70
3.6	Curvas de DSC de materiales de encapsulación: a) goma arábica y b) almidón de maíz	80

3.7	Curvas de DSC de microencapsulados de AEC: a) experimento 1 y b) experimento 11	80
3.8	Micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), muestra 1 (experimento 1)	81
3.9	Micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), muestra 2 (experimento 11)	82

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.1	Características de algunos métodos de encapsulación	18
2.1	Condiciones de operación para la extracción del aceite esencial de canela	39
2.2	Cantidad de materiales para la preparación de la emulsión	47
2.3	Factores para el diseño Box-behnken del proceso de microencapsulación del AEC	50
3.1	Tiempo final del proceso de extracción del AEC	61
3.2	Rendimiento de extracción del AEC	62
3.3	Absorbancia a diferentes concentraciones de AEC <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	64
3.4	Absorbancia a diferentes concentraciones de AEC <i>Canelón</i>	65
3.5	Compuestos mayoritarios presentes en el AEC (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> y <i>Canelón</i>)	67
3.6	Análisis de varianza de las distintas formulaciones de materiales de encapsulación	69
3.7	Estabilidad de las emulsiones	71
3.8	Rendimientos obtenidos de la microencapsulación del AEC con almidón de maíz y goma arábica	73
3.9	Eficiencia de microencapsulación de las microcápsulas de AEC	75
3.10	Humedad de las microcápsulas de las microcápsulas de AEC	76
3.11	Humectabilidad de las microcápsulas de AEC	76
3.12	Densidad aparente de las microcápsulas de AEC	78
3.13	Actividad de agua de las microcápsulas de AEC	79
3.14	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Canelón</i> contra <i>E. Coli</i>	83
3.15	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Canelón</i> contra <i>Salmonella</i>	87
3.16	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Canelón</i> contra <i>Staphylococcus</i>	91
3.17	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Cinnamomum zeylanicum</i> contra <i>E. Coli</i>	95
3.18	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Cinnamomum zeylanicum</i> contra <i>Salmonella</i>	99
3.19	Actividad antimicrobiana del AEC especie <i>Cinnamomum zeylanicum</i> contra <i>Staphylococcus</i>	103

3.20	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra <i>E. coli</i>	108
3.21	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra <i>Salmonella</i>	109
3.22	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra <i>Staphylococcus</i>	109
3.23	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra <i>E. coli</i>	110
3.24	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra <i>salmonella</i>	110
3.25	Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra <i>staphylococcus</i>	111

NOMENCLATURA

a_w	Actividad de agua
RC	Recubrimiento comestible
AEC	Aceite esencial de canela
%R	Porcentaje del rendimiento de extracción
P_p	Peso del producto (g)
P_m	Peso de la materia prima (g)
I	Inhibición
A_0	Absorbancia control
A	Absorbancia
T_0	Temperatura inicial
T_1	Temperatura
V_1	Volumen de la fase superior (mL)
V_0	Volumen inicial de la emulsión (mL)
W_m	Peso total de microcápsulas (g)
W_0	Peso total de sólidos de entrada en cada emulsión (g)
RE	Rendimiento de la microencapsulación (%)
A_T	Contenido de aceite total (g)
A_I	Contenido de aceite inicial (g)
m	Masa de la caja con la muestra húmeda (g)
m_1	Masa de la caja con la muestra seca (g)
m_2	Masa de la muestra (g)
P_m	Peso de la muestra
V_{me}	Volumen medido (mL)
P_{mc}	Peso de la muestra compactada (g)
V_{me}	Volumen medido (mL)
T_c	Temperatura de cristalización
T_m	Temperatura de fusión
UFC	Unidades formadoras de colonias
H_u	Humectabilidad (min)
$\rho_{aparente}$	Densidad aparente
$P_{compacta}$	Densidad compacta

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe la demanda creciente por parte de los consumidores de adquirir alimentos fáciles de preparar o de consumir, seguros, naturales y que además tengan propiedades biológicas más allá de las nutricionales, todo ello sin renunciar a las características sensoriales de frescura del alimento, estas razones han motivado a los investigadores e industrias a desarrollar nuevas tecnologías de procesado y conservación conocidas como “procesado mínimo”, cuyo principal objetivo es la inactivación de enzimas y de microorganismos alterantes y/o patógenos que dan lugar al deterioro del producto pero eliminando las consecuencias adversas de las tecnologías tradicionales (tratamientos térmicos, secado, acidificación, salado, aditivos químicos, etc.) (González-Aguilar *et al.*, 2005; Oms-Oliu *et al.*, 2010).

A través de los años se han creado tecnologías para prolongar la vida útil de alimentos frescos, que estos a su vez sean mínimamente procesados. Entre estas tecnologías destaca el desarrollo y uso de recubrimientos comestibles (RC), los cuales tienen la capacidad de controlar la transferencia de agua y gases como lo son el oxígeno y dióxido de carbono, controlar la tasa de crecimiento microbiano y conservar las características de los alimentos. Dichos recubrimientos son elaborados con materiales tales como los: polisacáridos, lípidos, proteínas o mezclas de los ya mencionados. Además de estos componentes básicos, los recubrimientos pueden contener otros ingredientes como agentes antioxidantes, nutrimentos adicionales, compuestos antimicrobianos y otros componentes que incrementen la calidad, integridad, mecánica, valor nutricional, inocuidad, funcionalidad y aceptabilidad del producto (Velázquez-Moreira y Guerrero-Beltrán, 2014).

Recientes investigaciones científicas indican que la especia conocida como canela (*Cinnamomum zeylanicum*) posee propiedades antimicrobianas, lo cual justifica su adición como conservadores en los alimentos procesados; así mismo y de manera

complementaria, el sabor de estas especias puede contribuir a las características sensoriales de sabor y olor en los alimentos a los cuales se apliquen (Burt, 2004).

La canela, el comino y el tomillo se utilizaban en el antiguo Egipto en los embalsamamientos; en India y China para conservar alimentos y como remedios medicinales. Otra propiedad funcional de los aceites esenciales es la de actuar como antioxidantes, retrasando o inhibiendo la oxidación de aceites o lípidos en general (Hirasa y Takemasa, 2002).

El uso de los agentes antimicrobianos en alimentos ha sido estudiado desde hacía varias décadas y se ha demostrado que las hierbas, plantas y especias (o sus componentes y aceites esenciales) tienen propiedades bactericidas y fungicidas además de actuar como ingredientes tradicionales y saborizantes en los alimentos. Actualmente, los consumidores demandan productos alimenticios más seguros, naturales y saludables, por lo que la investigación de los antimicrobianos naturales cada vez cobra mayor importancia (Gómez y López, 2009).

La encapsulación es una técnica en la que un material o mezcla de materiales es cubierta o atrapada con otro material. El componente que se recubre se denomina material activo, y la cubierta externa se conoce con el nombre de agente encapsulante o cubierta (Dziezak, 1988).

Hoy en día, el método de encapsulación ha extendido su uso a la industria farmacéutica, química, cosmética y alimentaria. En el campo de la alimentación, la encapsulación se ha desarrollado en grasas y aceites, en componentes aromáticos, oleorresinas, vitaminas, minerales, colorantes y enzimas (Jackson y Lee, 1991; Shahidi y Han, 1993).

El objetivo de este trabajo consiste en Identificar las condiciones óptimas para el proceso de microencapsulación de aceite esencial de canela que permitan mejorar las propiedades antimicrobianas de bio-recubrimientos base almidón.

CAPÍTULO 1
FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1. Aceites esenciales

El término aceite esencial (AE) es utilizado para referirse a sustancias líquidas, volátiles, de carácter lipofílico y con fuertes propiedades aromáticas. Estas sustancias son sintetizadas por las plantas como metabolitos secundarios y pueden ser extraídas mediante métodos físicos como la destilación a vapor o hidrodestilación. Poseen una composición química compleja que consiste en una mezcla de sustancias orgánicas como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc., de peso molecular menor de 400 Da y presión de vapor suficientemente alta para volatilizarse a temperatura ambiente (Surburg y Panten, 2006).

Los AE son conocidos desde la Edad Media por sus propiedades antisépticas, terapéuticas y por su intenso aroma, despertando un gran interés para la conservación de alimentos. El uso de los AE de condimentos y especias en las industrias de alimentos y farmacéutica es cada vez más generalizado, debido en parte a la homogeneidad del aroma y la minimización de las posibilidades de contaminación microbiana, cuando se compara con el uso directo de tales especias y condimentos (Vázquez *et al.*, 2001).

La mayoría de los aceites esenciales son extractos de plantas aromáticas localizadas en zonas templadas y cálidas como áreas mediterráneas y tropicales. Son líquidos, volátiles, cristalinos, raramente coloreados, solubles en disolventes orgánicos y generalmente con menor densidad que el agua. Son sintetizados por los distintos órganos de las plantas: semillas, flores, hojas, tallos, raíces, ramas, y se almacenan en canales, células epidérmicas o en tricomas glandulares para su posterior secreción. La extracción del AE de la planta consiste, principalmente, en una destilación a baja o alta presión mediante el uso de agua (hidrodestilación), corrientes de vapor o mediante el uso de dióxido de carbono líquido. Teniendo en

cuenta que el producto de la extracción puede variar en calidad, cantidad y composición dependiendo de factores como las características de la tierra de cultivo, el órgano de la planta del cual se hace la extracción, edad y estado del ciclo vegetativo, es necesario controlar el material y las condiciones de extracción para obtener un AE de características homogéneas (Masotti *et al.*, 2003; Angioni *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales se caracterizan por sus propiedades físicas, como densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica. La mayoría de los aceites esenciales tiene una densidad menor a la del agua excepto los aceites de almendras amargas, mostaza, canela, perejil o clavo. El índice de refracción es una propiedad característica de cada aceite esencial y cambia cuando éste se diluye o mezcla con otras sustancias (Ortuño, 2006).

1.1.1. Aceite esencial de canela

Por su riqueza en aceites esenciales destaca el género *Cinnamomum*, que es la fuente de la canela y también del género *cassia*. A lo largo de la historia se han confundido estas dos especias que, aunque muy parecidas, son diferentes. La canela se obtiene exclusivamente a partir de *Cinnamomum zeylanicum*, el cuál es originario de Sri Lanka (Ceilán), la casia deriva de otras especies del género *Cinnamomum* tales como *C. cassia*, *C. burmannii*, y *C. loureirii*. Los productos derivados de estas especies distintas son también diferentes, por ejemplo: el AE derivado de la corteza de *C. zeylanicum* contiene eugenol el cuál solo está presente en trazas o bien ausente en el AE obtenido de la corteza de la *cassia* (Gómez y López, 2009).

Los AE que se extraen de la corteza, de las hojas y de la raíz tienen composiciones diferentes. El AE que se extrae de la corteza (máximo 4%) está constituido principalmente por cinamaldehído (65-75%) y eugenol (5-10%). El AE que se obtiene de las hojas (1%) está constituido principalmente por eugenol (76-84%).

También contiene pequeñas cantidades (1-15%) de cinamaldehído, benzoato de bencilo, linalol y β -cariofilano (Muthuswamy *et al.*, 2008).

Recientes investigaciones han demostrado que la corteza y las hojas de canela poseen una fuerte actividad antimicrobiana frente a un amplio espectro de bacterias Gram+: (*Bacillus*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Streptococcus mutants*, *Staphylococcus aureus*) y Gram -: (*E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *salmonella typhimurium*, *Brucella*), mohos (*Aspergillus*, *Fusarium*), levaduras (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*) y dermatofitos (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* and *T. mentagraphytes*) (Velluti *et al.*, 2003, Gupta *et al.*, 2008).

El aceite de corteza encapsulado también ha demostrado ser efectivo en reducir el deterioro de tomates cherries (Xing *et al.*, 2011).

1.2. Métodos de extracción de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se pueden extraer por diversos métodos como se presenta a continuación:

1.2.1. Destilación por arrastre de vapor

En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros “no volátiles”. Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este “vapor de arrastre”, pero en realidad su función no es la de “arrastrar” el componente volátil, si no condensarse formando otra fase inmisible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia (Wankat, 1988).

1.2.2 Hidrodestilación

El método de hidrodestilación es el método más simple para la extracción de Aceites esenciales, consiste en la inmersión del material vegetal en agua en estado de ebullición, el esquema del equipo utilizado se muestra en la Figura 1.1. El agua penetra en los tejidos de la planta y el aceite contenido en las glándulas se difunde a través de las paredes celulares por medio de ósmosis. Una vez que el aceite se ha difundido hasta la fase acuosa, se vaporiza y transporta por la corriente de vapor. Posteriormente los vapores pasan por un refrigerante, donde se enfrían, condensan y transforman en un líquido formado por dos fases inmiscibles: fase orgánica (aceite esencial) y fase acuosa. El destilado se recolecta en un recipiente para llevar a cabo la separación de fases por diferencia de densidad (Ortuño,2006; Santos *et al.*, 2009).

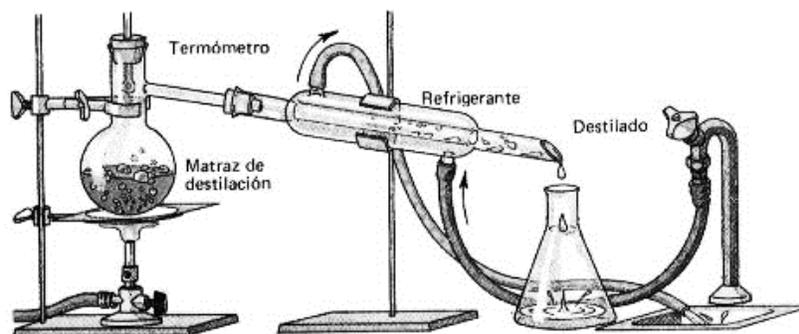


Figura 1. 1 Equipo de hidrodestilación simple

1.2.3. Extracción con disolventes

En el método de extracción con disolventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes orgánicos tales como alcohol y cloroformo, entre otros. Estos disolventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una oleoresina o un extracto impuro. Se utiliza a escala de laboratorio por que a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos disolventes orgánicos volátiles (Martínez, 2003).

Algunos disolventes utilizados en este método de extracción tienen restricciones en cuanto a los residuos máximos que pueden dejarse cuando los aceites esenciales son la materia prima en las industrias de los perfumes o alimentos. Los disolventes derivados del petróleo, como éter dietílico, ciclohexano, hexano, acetato de metilo, propanol, etc., son tóxicos al inhalarlos y al contacto con la piel, y dependiendo del tiempo de exposición será la gravedad de los efectos. Los extractos obtenidos de estos disolventes suelen ser más oscuros, ya que arrastran pigmentos, su solubilidad en alcohol diluido es menor y se recuperan muchos compuestos de tipo aromático (Ortuño, 2006).

La extracción con disolventes tiene importantes desventajas, además de que requiere de periodos de tiempo relativamente largos, los aceites esenciales obtenidos contienen trazas de los disolventes utilizados; limitando su uso en la industria de los alimentos, la industria cosmética o farmacéutica (Khajeh *et al.*, 2004; Guan *et al.*, 2007).

1.2.4. Extracción por fluidos supercríticos

Es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión crítica. Es posible obtener extractos libres de disolvente usando fluidos supercríticos y la extracción es más rápida que con la utilización de disolventes orgánicos convencionales. Estas ventajas son debidas a la alta volatilidad de los fluidos supercríticos (gases en condiciones ambientales normales) y a las propiedades de transporte mejoradas (alta difusividad y baja viscosidad). Usando dióxido de carbono, en particular, el tratamiento es a temperatura moderada y es posible lograr una alta selectividad de micro-componente valioso en productos naturales. La selectividad del CO₂ también es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos, carotenoides antioxidantes, antimicrobianos y sustancias relacionadas, que son usadas como ingredientes para alimentos, medicinas y productos de perfumería y que son obtenidas de especias, hierbas y otros materiales biológicos (Del Valle y Aguilera, 1999).

Entre las ventajas de la extracción por fluidos supercríticos se encuentran: que los tiempos de extracción se reducen; se obtienen rendimientos mayores; es posible seleccionar sustancias y la composición de los parámetros de extracción. La principal desventaja es que ceras cuticulares y compuestos de alto peso molecular son extraídos junto con el aceite esencial (Khajeh *et al.*, 2004; Damjanovic *et al.*, 2005; Guan *et al.*, 2007; Yamini *et al.*, 2008).

1.2.5. Extracción por microondas

El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Esta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidrodestilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente (Kimbaris *et al.*, 2006; Golmakani y Rezaei, 2008; Bousbia *et al.*, 2009). La extracción por microondas sin disolvente, SFME (solvent free microwave extraction) por sus siglas en inglés, combina el calentamiento por microondas y la destilación seca. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco (Bayramoglu *et al.*, 2008).

Ofrece beneficios como una reducción considerable del tiempo y del consumo de energía (Kimbaris *et al.*, 2006). Este método puede realizarse a gran escala con reactores de microondas, pero se requieren altos niveles de seguridad (Bousbia *et al.*, 2009).

1.2.6. Efecto de pre-tratamientos con ultrasonido de baja frecuencia

El ultrasonido de alta intensidad tiene la capacidad de inducir cavitación. También se ha considerado una fuente potencial para incrementar la reactividad química. Puede usarse en diversos procesos químicos e industriales (Filgueras *et al.*, 2000).

El ultrasonido se aplica como una alternativa de extracción o para asistir en procesos de extracción de componentes volátiles de plantas, incluyendo aceites esenciales. La proporción en la composición de los extractos y el rendimiento de

éstos depende de la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso y del disolvente, o mezcla de disolventes, que se utilicen (Proestos y Komaitis, 2006).

En general, la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia o alta intensidad, incrementa la eficiencia de la extracción y reduce el tiempo de ésta (Thongson *et al.*, 2004; Proestos y Komaitis, 2006). También disminuye el riesgo de degradación térmica, cuando la extracción se realiza a temperaturas de 25°C (Kimbaris *et al.*, 2006).

1.3. Canela

La canela (Figura 1.2) es una de las especies más comunes, debido a su profundo y exótico aroma. Se obtiene de la corteza de los árboles *Cinnamomum zeylanicum*, árbol con corteza papirácea marrón claro, perteneciente a la familia de las lauráceas (Moreno-Hernández *et al.*, 2010).



Figura 1. 2 Canela (*Cinnamomum zeylanicum*)

La canela es una de las especias conocidas desde hace miles de años. En China se empleaba ya en el año 2500 a. C. Los árabes la utilizaban para aromatizar carnes, ya que la canela contiene un aceite esencial rico en fenol que inhibe las bacterias responsables de su putrefacción (Moreno-Hernández *et al.*, 2010).

Sin embargo, su uso no acaba en la cocina, sus propiedades terapéuticas incluyen su uso como antioxidante, antiinflamatorio e incluso como antimicrobiano; tal ha sido su repercusión medicinal que llegó a tener reputación como remedio contra resfriados. Estas propiedades se deben a los compuestos químicos que constituyen la canela: ácido cinámico, cinamaldehído, cinamato, eugenol (Ranasinghe *et al.*, 2013).

1.3.1 Botánica de la canela

La clasificación botánica del género *Cinnamomum* es la siguiente (Trease y Evans, 1986):

División: Angiospermas

Clase: Dicotiledóneas

Sub-clase: Archichlamydae

Orden: Magnoliales

Sub-orden: Lauraceae

Familia: Lauraceae

Género: *Cinnamomum* (Aproximadamente 250 especies)

Las especies más conocidas del género *Cinnamomum* que se conocen comúnmente como canelas son: *C. Burmanni Blume* (Canela de Batavia), *C. Cassia Blume* (Canela de China), *C. Zeylanicum Nees* (Canela de Ceilán) y *C. Loureii Nees* (Canela de Saigón) (Ikhlas y Ehab, 2010).

1.3.2 Ecología y cultivo

La canela contiene esencias en todos los órganos, pero más en los planos (hojas y corteza). Las cortezas comerciales provienen de plantas cultivadas sometidas a un tratamiento especial. No las dejan convertirse en árboles, se les recorta severamente para que formen malezas de ramas delgadas, cuya altura no

sobrepase los 2.5 m. Para su adecuado crecimiento y óptima producción necesita lluvia abundante comprendida entre los 2 y 4 m por año. Exige también una temperatura media elevada (alrededor de los 30 °C), sol directo y situación ecuatorial. El suelo debe estar constituido de arenas finas, con cuarzo, sobre un rico subsuelo y a altitud no mayor de 500 m sobre el nivel del mar. El árbol de la canela puede multiplicarse en almácigas, por acodos y por trozos de troncos viejos (Rosengarten, 1969; Fonnegra y Jiménez, 2007).

1.3.3 Cinamaldehído

El cinamaldehído fue aislado por primera vez del AE de hojas de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en 1834 por Bumas y Peligot. El producto natural es el trans-cinamaldehído, cuya molécula consiste en un grupo fenol unido a un aldehído insaturado, clasificado como GRAS (generally regarded as safe) por la FDA y su uso está aprobado en los alimentos. Al cinamaldehído se le atribuyen propiedades antioxidantes (Ali *et al.*, 2009), anticancerígenas, antifúngicas y antimicrobianas (Cabello *et al.*, 2009). Así se ha demostrado que es capaz de inhibir el crecimiento de *Cronobacter sakasalii* en películas comestibles usadas en fórmulas infantiles y alimentos similares (Ali *et al.*, 2009).

1.4. Microencapsulación

Es una técnica en la que un compuesto producto activo es encapsulado con ciertos polímeros para proporcionarle protección frente a radicales libres, humedad u otras condiciones que son desfavorables para su estabilidad (Desai y Park, 2005). El término microcápsula aplica para partículas que tienen tamaños que van desde 1 µm a 500 µm, mientras que a las que son inferiores a 1 µm, se les denomina nanocápsulas (Lozano-Berna, 2009).

Existen diferentes tipos de microcápsulas, las cuales presentan una amplia variedad de estructuras, esféricas o irregulares, pueden ser simples, de una sola pared con una cubierta de membrana, una estructura multipared, con paredes de algunas o varias composiciones o numerosos núcleos dentro de una estructura pared. Las

microcápsulas simples pueden tener o no un núcleo en el centro, es decir, microcápsulas huecas (Lozano-Berna, 2009).

En general la microencapsulación se ha convertido en un proceso muy atractivo en las últimas décadas, siendo adecuada para los ingredientes alimentarios, así como para la formulación de productos químicos, fármacos o cosméticos, teniendo el propósito de incrementar la estabilidad y vida media de anaquel de estos productos (Fuchs *et al.*, 2006).

1.4.1 Estructura de las microcápsulas

En su forma más simple, una microcápsula es una esfera pequeña con una pared uniforme rodeándola, cuyo diámetro puede variar de algunos micrones a pocos milímetros (Nesterenko *et al.*, 2013, Fang y Bhandari, 2010). Prácticamente el núcleo puede ser un material cristalino, una partícula absorbente, una emulsión, una suspensión de sólidos, o una suspensión de microcápsulas pequeñas (Esquivel *et al.*, 2015).

Dependiendo de la tecnología de proceso utilizada para producir microcápsulas, así como del material de núcleo y pared del cual se formará, se pueden producir diversas morfologías, pero las dos principales son: cápsula mononuclear, la cual tiene sólo un núcleo envuelto por una capa, mientras que los otros son agregados, es decir, muchos núcleos envueltos en una matriz (Fang y Bhandari, 2010; Gharsallaoui *et al.*, 2007; Nesterenko *et al.*, 2013; Nazzaro *et al.*, 2012).

También se pueden producir microcápsulas con múltiples paredes o capas. En la Figura 1.3 se presentan diferentes tipos de morfologías de distintas microcápsulas, observadas por (Gibbs *et al.*, 1999).

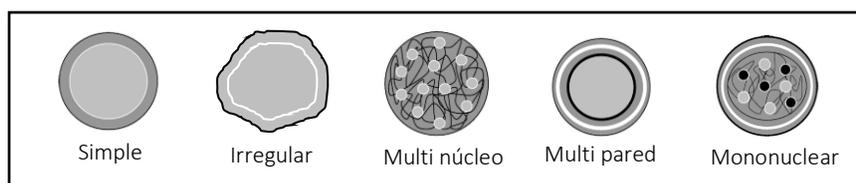


Figura 1. 3 Morfología de las microcápsulas

1.4.2 Microencapsulación de aceites esenciales

Los aceites esenciales son microencapsulados con el objetivo de impedir su pérdida, para protegerlos de la reacción con otros compuestos presentes en el medio, o para impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno. Una ventaja adicional es que un compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado y, se obtienen productos con mejores características (Asbahani *et al.*, 2015).

Se han encontrado diversos estudios acerca de la encapsulación de aceites esenciales que tienen distintas aplicaciones. A continuación, se mencionan algunas de ellas:

Aplicaciones en la agricultura:

- Encapsulación de una mezcla de aceites esenciales de limón, lavanda y tomillo mediante polimerización interfacial, empleando como material de membrana la poliurea. Las microcápsulas obtenidas presentan propiedades herbicidas (Scarfato *et al.*, 2007)
- Encapsulación de aceite de lavanda mediante técnicas de precipitación a alta presión, en este estudio se ha determinado la actividad antimicrobiana con aceite de lavanda, del cual se concluye que hay una mejora considerable en la actividad antimicrobiana del aceite debido a la encapsulación y esta mejora depende principalmente de la concentración de aceite de lavanda y del agente de la encapsulación (Varonaa *et al.*, 2010).
- Encapsulación de aceite esencial (AE) de citronella empleando quitosano como membrana, el principal caso de estudio del AE de citronella se debe a su uso como repelente de insectos, así como también reducción de estrés, de esta manera se encontró una forma de liberación del AE controlado y constante utilizando la microencapsulación. Concluyendo que la velocidad de liberación de aceite aumenta cuando el diámetro de las microcápsulas disminuye con un pretratamiento térmico de 80°C (Wen-Chuan *et al.*, 2006).

Aplicaciones en alimentación:

- Encapsulación de aceite de naranja mediante secado por atomización empleando como material de membrana goma arábica y diversas proteínas, se demostró en este estudio que la goma arábica (GA) y el aislado de proteína de suero (WPI) son menos capaces de encapsular el aceite de naranja, por otra parte los mejores resultados de eficiencia de encapsulación se presentaron con proteína de soya aislada (SPI) y caseinato de sodio (SC), Estos dos últimos materiales fueron capaces de retener el AE de naranja durante el secado por atomización (Young y Morr, 1996).
- Encapsulación de aceite de chía en una matriz compuesta de 25% (w/w) de sólidos de pared y 0.3% (w/w) de azida de sodio como agente antimicrobiano. Prepararon soluciones encapsulantes a diferentes proporciones de concentrado proteico del suero de la leche, goma de mezquite y goma arábica. Las emulsiones obtenidas resultaron ser muy estables independientemente del material de pared que utilizó ya que no presentaron tendencias a la floculación. La estabilidad de estas emulsiones se atribuye a las propiedades surfactantes de la goma arábica, goma de mezquite, y concentrado proteico de suero de leche (Rodea-González *et al.*, 2012).
- Encapsulación de aceite esencial de romero utilizando goma arábica, almidón modificado, inulina y maltodextrina, el uso de inulina disminuye la humectabilidad y la higroscopicidad de las partículas, pero disminuye la eficiencia de la microencapsulación (Fernandes *et al.*, 2013).

Aplicaciones en cosmética y farmacia:

- Encapsulación de aceites esenciales en ciclodextrinas para la liberación controlada (aromaterapia). Se realizó este estudio ya que la aromaterapia es cada vez más popular como un enfoque para la curación con sustancias naturales, se demostró que se podían formar compuestos de inclusión de ciclodextrina y fragancia, las ciclodextrinas pueden transferir el aroma con

éxito al tejido del algodón y no causan irritación cutánea, sensibilidad ni efectos mutagénicos (Wang y Chen, 2010).

1.4.3 Métodos de liberación de los materiales microencapsulados

La liberación controlada de los ingredientes alimentarios en el lugar y el momento adecuado es una funcionalidad clave que puede ser proporcionada por la microencapsulación, que, a su vez, también proporciona estabilidad al componente atrapado, tal que, al momento de liberarlo, esta conserva las mismas propiedades que antes de ser microencapsulado. En la microencapsulación de materiales básicos o biomoléculas de interés se han utilizado diferentes biopolímeros para obtener una liberación controlada de los componentes que han sido atrapados. Cada biopolímero posee una única propiedad emulsionante y de formación de película, que definen su capacidad de funcionar como un encapsulante, por lo tanto, su correcta selección para cada aplicación es una tarea de importancia (Kim y Morr, 1996).

Algunos de los métodos para liberar el material microencapsulado son: de disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla, por temperatura, por reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica. La liberación de componentes de una cápsula puede ser controlada por difusión de la pared de la cápsula o por una membrana que cubre la pared. La permeabilidad a través de la matriz y la solubilidad del componente de la pared de la cápsula influyen en la velocidad de difusión. El compuesto que va a difundir debe ser soluble en la matriz, aunque la presión de vapor de sustancias volátiles en cada lado de la matriz puede ser la fuerza que determine la difusión (Yáñez *et al.*, 2005).

La eficacia en la protección o liberación controlada del material englobado o atrapado, depende principalmente de la composición y estructura del material pared establecido, pero también de las condiciones de funcionamiento durante la producción y el uso de estas partículas (temperatura, pH, presión, humedad) (Gibbs *et al.*, 1999).

1.5. Técnicas de microencapsulación

Se pueden utilizar varios procesos para obtener ingredientes encapsulados: secado por aspersion, lecho fluidizado, separación de fase (coacervación), expansión de fluido supercrítico, polimerización interfacial (policondensación), polimerización en emulsión, atrapamiento de liposoma, separación por suspensión centrífuga, liofilización, cocrystalización y extrusión (Nesterenko *et al.*, 2013; Fang y Bhandari, 2010).

Son diversas las técnicas de encapsulación que existen, pero sólo algunas presentan ventajas favorables. Al disminuir el contenido y la actividad de agua, el secado por aspersion generalmente se usa en la industria de los alimentos para asegurar la estabilidad de productos, evitar el riesgo de degradaciones químicas y biológicas, reducir los costos de transporte y almacenamiento y finalmente para obtener un producto con propiedades específicas como solubilidad instantánea (Esquivel *et al.*, 2015).

1.5.1. Secado por aspersion

El secado por aspersion es una operación unitaria mediante el cual el material en estado líquido es atomizado mediante una corriente de gas caliente para obtener un polvo instantáneamente. El gas generalmente usado es aire y más raramente un gas inerte como nitrógeno. El líquido inicial alimentado al aspersor puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. Dependiendo del material inicial alimentado y de las condiciones de operación, el secado por aspersion produce un polvo muy fino (10-50 μm) o partículas de tamaño grande (2-3 mm) (Gharsallaoui *et al.*, 2007); por tal razón es una técnica común para producir encapsulados de alimentos (Ferrari *et al.*, 2012; Medina *et al.*, 2013; Ahmed *et al.*, 2010).

Para microencapsular mediante secado por aspersion, existen dos tipos de atomización, las cuales son:

Tabla 1. 1 Características de algunos métodos de encapsulación

Proceso de encapsulación	Ventajas	Desventajas	Ilustración de características
Secado por aspersión	<ul style="list-style-type: none"> Económico Apropiado para materiales sensibles al calor Utilizado en industria alimenticia 	<ul style="list-style-type: none"> Limitado número de materiales de cubierta 	
Coacervación	<ul style="list-style-type: none"> Uso para materiales lábiles de alto valor Encapsulación de aceites vegetales 	<ul style="list-style-type: none"> Costoso Proceso complejo 	
Inclusión en liposomas	<ul style="list-style-type: none"> Los agentes bioactivos pueden protegerse de la digestión en el estómago Utilizada en industria farmacéutica 	<ul style="list-style-type: none"> Los componentes son expuestos a solventes orgánicos 	
Liofilización	<ul style="list-style-type: none"> Técnica simple para encapsular esencias solubles en agua y aromas naturales 	<ul style="list-style-type: none"> Elevado consumo de energía Costoso 	
Cocrystalización	<ul style="list-style-type: none"> Homogeneidad Estabilidad Los materiales del núcleo se pueden convertir a una forma de polvo seco <p>Ventajas para los dulces y farmacéuticos</p>	<ul style="list-style-type: none"> Estructuras con espacios vacíos 	
Inclusión molecular	<ul style="list-style-type: none"> Estabilidad química Estabilidad térmica Liberación controlada <p>Protección de sabores y aromas</p>	<ul style="list-style-type: none"> Rendimientos bajos Falta de estabilidad frente a la oxidación Costoso 	

- **Atomización de tipo rotatoria**, la alimentación de la mezcla líquida es centrífugamente acelerada por altas velocidades antes de ser descargada dentro de una atmósfera gas-aire. La mezcla se extiende sobre la superficie

rotatoria formando una película delgada (Master, 1979). La desintegración de la mezcla en gotas, mediante un disco giratorio, es gobernada por: la viscosidad y tensión superficial de la mezcla, la inercia sobre la periferia del disco, la fricción y esfuerzos de corte que finalmente forma la gota. A bajas velocidades de la periferia del disco, la viscosidad de la mezcla y la tensión superficial son factores predominantes. Las altas velocidades del disco, más inercia y la fricción del aire contribuyen al mecanismo de formación de la gota (Adler y Marshall, 1951).

- **Atomización con boquilla**, la función del atomizador es la aceleración y reducción del flujo de la mezcla, terminando con la dispersión de las gotas resultantes para formar una atomización. La boquilla de presión centrífuga es la más comúnmente utilizada (Dombrowski y Munday, 1968). El principio de atomización en boquilla por presión centrífuga, es la conversión de energía de presión dentro de las dimensiones del líquido en energía cinética para el movimiento de las delgadas capas de líquido. La desintegración de las capas de líquido, se da bajo la influencia de las propiedades físicas del líquido y por los efectos de fricción con el medio en el cual las capas de líquido son descargadas. El medio invariable es aire. El intervalo del grosor de las capas de líquido es de 0.5 a 4 μm . Las capas rápidamente llegan a ser inestables, influenciadas por las fluctuaciones en el intervalo de grosor de las capas de líquido, lo cual promueve la desintegración del líquido y la formación de las gotas (Master, 1979).

Por otro lado, también se tiene la atomización en boquilla neumática a presión de dos fluidos, la cual involucra el impacto del líquido con un gas (aire) a altas velocidades. El mecanismo de esta atomización es mediante un gas a alta velocidad creando fuerzas de fricciones altas sobre la superficie de los líquidos causando la desintegración del líquido en forma de atomización de gotas.

La desintegración del líquido en presencia de un flujo gaseoso, involucra una situación compleja de inestabilidad del líquido, y se puede considerar que el proceso

se produce en dos fases. La primera fase involucra la desintegración del líquido en los filamentos y la formación de gotas grandes. La segunda fase completa la atomización por rompimiento de la forma del líquido en pequeñas gotas. Todo el proceso es influenciado por la magnitud de las propiedades del líquido: tensión superficial, densidad y viscosidad y las propiedades del flujo gaseoso, de velocidad y densidad (Master, 1979).

El medio gaseoso usado principalmente en la atomización con boquilla neumática a presión de dos fluidos incluye aire y vapor. Habitualmente, en el secado por aspersión, la atomización en medio gaseoso, es referida como aire, a menos de que el equipo especifique lo contrario. Los atomizadores que son alimentados con fluidos poco viscosos producen tamaños de gota pequeños con alto grado de homogeneidad, no así con alimentaciones altamente viscosas, en las cuales se producen tamaños más grandes de gotas (Máster, 1979; Mujumdar, 1995).

En general, la atomización de fluidos en forma de gotas y el secado de partículas, son una parte inherente del secado por aspersión. Es de vital importancia que las gotas y partículas puedan ser representadas de una manera conveniente para su fácil referencia. La terminología aceptada es válida para expresar tamaños y distribución de tamaños. El tamaño de la partícula está estrictamente relacionado al tamaño de la gota, pero raramente son iguales, debido al comportamiento de la gota durante el secado. La gota se refiere al estado de subdivisión de la alimentación sobre el asperjado del atomizador. Por otro lado, la partícula se refiere al estado de subdivisión del producto secado (Master, 1979).

La calidad de los polvos producidos por secado mediante aspersión depende de las características de la solución alimentada (viscosidad, velocidad de flujo, etc.) el aire de secado (temperatura, presión y flujo), contacto entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado (flujo en corrientes paralelas o contra corriente), así como el tipo de atomizador utilizado (Ferrari *et al.*, 2012).

Se considera una microencapsulación eficiente mediante secado por aspersion cuando se alcanza una máxima cantidad de material de núcleo dentro de las partículas de polvo, una buena estabilidad de las microcápsulas, prevención de pérdida de compuestos volátiles, y una extensión de la vida útil del producto. Por lo cual resulta importante conocer las características del material a secar, así como las especificaciones deseadas del polvo (Medina *et al.*, 2013). La conveniencia en el uso de esta técnica radica en los tiempos cortos de producción, la factibilidad económica y el uso de bajas temperaturas lo cual es un parámetro crucial para aquellos productos sensibles al calor, debido a que promueve una alta retención de sabor, color y nutrientes (Ferrari *et al.*, 2012; Ahmed *et al.*, 2010).

Para evitar que las partículas que son atomizadas se fragmenten o aglomeren, durante el proceso de secado, se emplean aditivos o materiales de microencapsulación.

1.5.2. Componentes de un secador por aspersion

Los principales componentes de un secador por aspersion son (ver Figura 1.4): un sistema de calefacción y circulación de aire, un atomizador que forma la aspersion (aspersor rotatorio o boquilla), una cámara de secado y un sistema de recuperacion del producto (Brennan *et al.*, 1980).

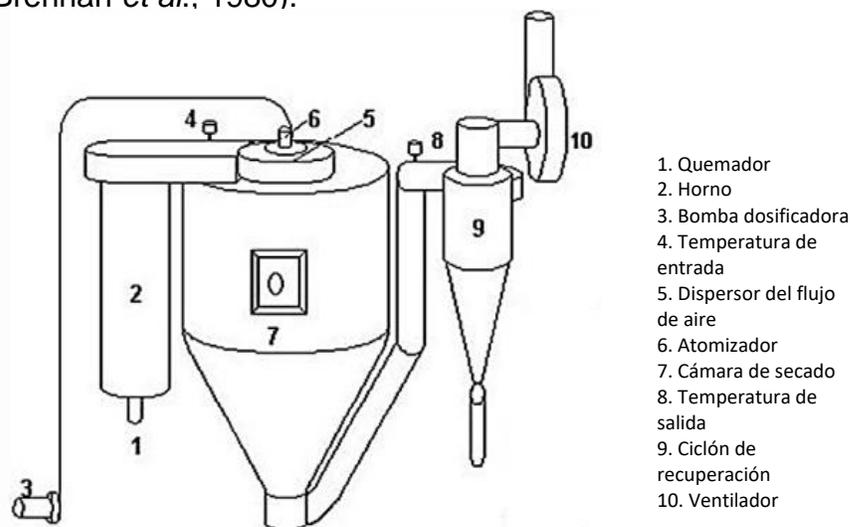


Figura 1. 4 Representación esquemática de un secador por aspersion

1.6. Componentes para la formación de microcápsulas

Gharsallaoui et al. (2007) menciona que en un proceso de microencapsulación la selección del material de pared es importante tanto para la eficiencia del proceso como para la estabilidad de las microcápsulas.

1.6.1. Goma arábica

La goma arábica es un polisacárido complejo, con una estructura altamente ramificada, con una cadena principal formada por unidades de D-galactopiranosas. Por sus características estructurales presenta un carácter anfifílico, lo que le permite absorber en superficies lipófilas y actuar como un coloide protector; como un buen agente formador de cápsulas (Bemiller y Whistler, 1996).

Es una exudación gomosa, endurecida al aire, que fluye de forma natural o por incisión del tronco y de las ramas. Existen alrededor de 500 especies de Acacia que se distribuyen en las áreas subtropicales y tropicales de África, India, Australia, América Central y el Suroeste de Norteamérica, pero solo unas pocas son comercialmente importantes (Gracia, 2014).

Propiedades emulsificantes de la goma arábica

La goma arábica es un agente emulsificante muy efectivo debido a su función de coloide protector que ha encontrado amplio uso en la preparación de emulsiones alimenticias de aceite en agua. La goma arábica forma una película visible en la interfase grasa, pero el mecanismo de emulsificación aún no está claramente entendido. Se cree que la goma como agente formador de película, previene la coalescencia de los glóbulos de aceite, permitiendo así un alto grado de dispersión al disminuir el diámetro de los glóbulos (Gracia, 2014).

1.6.2. Almidón

El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas superiores constituyendo una fuente de energía esencial para muchos organismos, especialmente el hombre (Buléon *et al.*, 1990). Este biopolímero constituye una excelente materia prima para modificar la textura, apariencia y consistencia de los

alimentos; sin embargo, no solo la cantidad de almidón si no de igual manera el tipo de almidón son críticos para conferir la textura deseada a un alimento en particular (French, 1984, Biliaderis *et al.*, 1980).

Almidón de maíz

El maíz es la fuente más abundante de almidón de la que se dispone actualmente, del total de tubérculos y granos producidos en el mundo, sólo el 1.3% es procesado para la obtención de almidón. El 75% de almidón producido en el mundo proviene del maíz. El 25% restante estando distribuido entre la papa, el trigo, la yuca y el arroz en el mismo orden de importancia. El mundo produce alrededor de 16 millones de toneladas de almidón de maíz (Jacob y Monod, 1961).

1.7. Recubrimientos comestibles

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo (Lin y Zhao, 2007).

El uso de RC en alimentos y especialmente en productos altamente perecederos está condicionado por parámetros tales como el costo, la disponibilidad, la funcionalidad, las propiedades mecánicas como flexibilidad y tensión, las propiedades ópticas como brillo y opacidad, la barrera que proporcionan contra el flujo de gases, la aceptabilidad sensorial y la resistencia estructural contra agua y microorganismos. Dichas características dependen del tipo de material utilizado como matriz estructural, las condiciones en que se formaron los recubrimientos (tipo de disolvente, pH, concentración de componentes y temperatura) y el tipo y concentración de aditivos (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

Los aditivos son agregados durante el proceso de elaboración de los recubrimientos comestibles y pueden ser agentes: antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, pigmentos o nutrimentos (Pascall y Lin, 2013).

Un RC debe cumplir con exigencias de calidad, seguridad y rendimiento. Uno de los principales propósitos de los recubrimientos es mejorar la apariencia del producto, brindando brillo y a veces color, que debe mantenerse a través de los procesos de transporte, manejo y comercialización. Para que la aplicación sea exitosa en el producto, el recubrimiento debe secar rápidamente, no debe producir espuma y se debe remover fácilmente de los equipos. Una vez aplicado, no debe agrietarse, decolorarse o caerse durante la manipulación. No debe reaccionar de manera adversa con los alimentos ni poner en riesgo la calidad sensorial del producto, durante el almacenamiento de los productos, el recubrimiento no debe fermentar, coagular, separarse, desarrollar sabores desagradables, entre otras anomalías (Baldwin *et al.*, 1997).

1.7.1. Tipos de recubrimientos comestibles

Los polisacáridos, las proteínas y los lípidos son los tres principales ingredientes poliméricos usados para producir RC. En algunos casos, dos o más materiales son mezclados para producir un material compuesto con mejores características físicas. Los RC a base de polisacáridos son hidrofílicos y permiten la formación de enlaces de hidrógeno, que se pueden utilizar para la unión con aditivos. Debido a sus propiedades químicas, estos recubrimientos constituyen una barrera muy eficiente contra el oxígeno, pero deficiente contra la humedad. Los RC a base de lípidos proporcionan una buena barrera contra la humedad debido a su naturaleza hidrofóbica, pero presentan propiedades mecánicas deficientes. Los RC a base de proteínas también son hidrofílicos y tienen una buena resistencia mecánica, por lo que pueden ser utilizados en frutas para reducir las lesiones durante su transporte; sin embargo, proporcionan una pobre barrera contra la humedad (Pascall y Lin, 2013).

1.7.2. Recubrimientos comestibles en frutas

Un alimento conservado a diferencia de un procesado es un producto que apenas cambia durante su elaboración, en el cuál el método de conservación no modifica su individualidad como alimento. Existen varios métodos de conservación de frutas

los cuales se basan en factores que afectan el crecimiento de los microorganismos y los cambios bioquímicos causados por enzimas. Dichos métodos pueden basarse en el control de temperatura, humedad, acidez o presencia de oxígeno, sin embargo, el consumidor busca alimentos que conserven sus características nutricionales y sensoriales (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2003).

Aunque pareciera que el uso de recubrimientos comestibles en alimentos es nuevo, desde hace mucho tiempo se ha aplicado. Durante los siglos XII y XIII se practicó en China la inmersión en cera de naranjas y limones para retardar la pérdida de agua. En el siglo XVI, en Inglaterra, el recubrimiento con manteca fue utilizado para prevenir la pérdida de humedad en alimentos. Actualmente recubrimientos comestibles son aplicados en una variedad de productos como: embutidos, chocolate, nueces, vegetales y frutas (Kroachta *et al.*, 1994).

Los recubrimientos comestibles en frutas crean una atmósfera modificada en el interior de éstas, reduciendo la velocidad de transpiración y retrasando el proceso de envejecimiento, debido a que crean una barrera semipermeable a gases como O₂, CO₂ y vapor de agua. Esto retrasa el deterioro de la fruta causado por la deshidratación, mejora las propiedades mecánicas, ayuda a mantener la integridad estructural del alimento y a retener compuestos volátiles. La efectividad de un recubrimiento comestible en frutas depende del control de la humectabilidad, y de la capacidad de la matriz para mantener compuestos de diversa funcionalidad (plastificantes, antimicrobianos, antioxidantes, sabores y olores) debido a que la pérdida de los componentes afecta el espesor del recubrimiento y su solubilidad en agua (Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013).

Los biopolímeros utilizados para recubrimientos de frutas, al ser consumidos deben ser inocuos evitando causar riesgos a la salud del consumidor. Las soluciones formadoras de recubrimientos comestibles pueden incluir polisacáridos, compuestos de naturaleza protéica, lipídica o por una mezcla de los mismos, la

última permite aprovechar las propiedades de cada compuesto y la sinergia entre ellos (Quintero *et al.*, 2010).

El propósito de los RC en frutas radica en reducir la pérdida de agua, retardar el envejecimiento, impartir brillo y conservar el color, permitiendo así una mejor calidad y precio de estos productos (Baldwin *et al.*, 1997).

1.7.3. Formación de recubrimientos

La primera etapa en la elaboración de películas comestibles es la disolución del material (biopolímero) correctamente en algún disolvente como agua, alcohol, soluciones de ácidos diluidos, o mezclas de disolventes; el material debe quedar dispersado. En algunos casos, es necesario calentar o ajustar el pH de la suspensión que contiene el biopolímero con el fin de disolver la macromolécula.

La segunda etapa consiste en adicionar una sustancia con propiedades plastificantes. Ésta proporcionará al recubrimiento un buen comportamiento mecánico en términos de flexibilidad y resistencia a la rotura, reduciendo la fragilidad.

El plastificante más utilizado es el glicerol debido a su mayor estabilidad y compatibilidad con las cadenas biopoliméricas hidrófilas en comparación con el sorbitol, polietilenglicol y azúcares.

De igual manera es posible adicionar otros componentes como lo es agentes antimicrobianos, antioxidantes a la solución formadora de película, con la finalidad de conferir alguna propiedad funcional (Abdollahi *et al.*, 2012).

La tercera etapa consiste en la eliminación del disolvente en exceso, por lo cual se debe realizar un proceso de secado controlado. La velocidad de secado y las condiciones ambientales determinarán el espesor fino y las características estructurales del recubrimiento (Campos *et al.*, 2011).

1.8. Biopolímeros en el uso de recubrimientos comestibles

Los biopolímeros utilizados en recubrimientos de frutas, al ser consumidos deben ser inocuos evitando causar riesgos a la salud del consumidor. Las soluciones formadoras de recubrimientos comestibles pueden incluir polisacáridos, compuestos de naturaleza protéica, lipídica o por una mezcla de los mismos, la última permite aprovechar las propiedades de cada compuesto y la sinergia entre ellos (Quintero *et al.*, 2010).

1.8.1. Polisacáridos

Los polisacáridos derivados de celulosa (metilcelulosa, hidroximetil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa y carboximetilcelulosa), pectinas, derivados de almidón, alginatos, carragenina, quitosano y gomas, son capaces de constituir una matriz estructural, permitiendo obtener recubrimientos comestibles transparentes y homogéneos, sin embargo, están limitados por su solubilidad en agua y pobre barrera a la humedad y propiedades mecánicas moderadas (Eum *et al.*, 2009). Para mejorar sus propiedades mecánicas se utilizan mezclas con diferentes biopolímeros (Chambi y Grosso, 2011), se adicionan materiales hidrófobos como aceites, ceras o se modifica la estructura del biopolímero mediante métodos químicos. Un polisacárido que forma recubrimientos mecánicamente resistentes, flexibles, totalmente transparentes y resistentes a grasas y aceites es la celulosa (Lin y Zhao, 2007).

A partir de almidones ricos en amilosa se forman recubrimientos con propiedades mecánicas adecuadas, sin embargo, debido al proceso de retrogradación puede ser afectada esta propiedad (Fama *et al.*, 2006).

Las gomas son polisacáridos de alto peso molecular, poseen propiedades coloidales, se dispersan en agua fría o caliente produciendo soluciones o mezclas con alta viscosidad. El alginato obtenido de algas marinas, tiene la capacidad de formar geles y soluciones viscosas a partir de las cuales se forman recubrimientos bastantes frágiles con poca resistencia al agua (Campos *et al.*, 2011).

Las carrageninas son polisacáridos naturales presentes en algas rojas, forman coloides viscosos o geles en medios acuosos, por lo que han sido estudiadas en el área de alimentos como recubrimientos comestibles mezclándolas con compuestos que inhiben el pardeamiento enzimático, presentando una barrera semipermeable contra el aire para controlar la tasa de respiración inicial en frutas mínimamente procesadas (Lee *et al.*, 2003).

Gomas obtenidas a partir de exudados de plantas (arábica, tragacanto y karaya), de semillas de plantas (garrofín y guar), así como por fermentación microbiana (xantana y gelana) han sido utilizadas como material para elaborar recubrimientos mezclándolas con almidón (Flores *et al.*, 2010; Soares *et al.*, 2005; Veiga *et al.*, 2005).

El quitosano es un polímero natural, no tóxico y biodegradable derivado de la desacetilación de la quitina [poli- β -(1- \rightarrow 4)-N-acetil-D-glucosamina], componente principal de las conchas de los crustáceos, polisacárido catiónico de alto peso molecular que exhibe propiedades antibacterianas y actividad antifúngica. Los recubrimientos a base de quitosano presentan buenas propiedades mecánicas y permeabilidades selectivas al CO₂ y O₂, este polímero se utiliza para mejorar la calidad y prolongar la vida útil de frutas frescas (Djioua *et al.*, 2010).

1.8.2. Proteínas

Las proteínas forman biorecubrimientos con barreras más débiles que los polisacáridos al vapor de agua por su naturaleza hidrofílica, pero, por otro lado, desarrollan muy buenas propiedades de barrera al oxígeno, lo que ayuda a controlar el intercambio de gases entre el fruto y el medio ambiente (Krochta *et al.*, 1997), así como propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos (Lin y Zhao, 2007).

La capacidad de diferentes proteínas depende de su peso molecular, conformaciones, propiedades eléctricas y estabilidad térmica (Campos *et al.*, 2011).

1.8.3. Lípidos

Los lípidos ofrecen una buena barrera de humedad debido a su naturaleza hidrofóbica, lo que reduce la pérdida de agua en frutas recubiertas, además, mejoran el brillo de los frutos, los protegen contra la oxidación y crecimiento microbiano, sin embargo, su naturaleza no polimérica limita su capacidad para formar recubrimientos, se mejoran las características de barrera al agua (Campos *et al.*, 2011).

1.9. Propiedades fisicoquímicas de los alimentos

En alimentos, se pueden definir, como aquellas propiedades que son importantes para el diseño de procesos y manufactura de alimentos y que son medidas y expresadas en forma fisicoquímica. Hoy en día es necesario comprender las propiedades fisicoquímicas de los alimentos, porque estas se relacionan con diferentes aplicaciones como son el procesamiento, preservación, almacenamiento y control de calidad de los alimentos (Rahman, 2009).

1.9.1. Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) es un parámetro termodinámico de equilibrio relacionado al contenido de agua de una matriz específica, por lo que describe la disponibilidad de agua para participar en reacciones físicas, químicas y microbiológicas, sin embargo, las condiciones de equilibrio son obtenidas rara vez a partir solamente de la actividad de agua (Al-Muhtaseb *et al.*, 2002).

La actividad de agua es la relación que existe entre la presión parcial de vapor de agua contenida en el alimento (p) con respecto a la presión parcial de vapor de agua pura (p_o) a la misma temperatura y su expresión matemática está dada por la Ecuación 1.1.

$$a_w = \frac{p}{p_o} = \frac{HR}{100} \quad (1.1)$$

Es posible expresar la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas como una función de la a_w tal como se ilustra en la Figura 1.5 donde se representa el mapa de estabilidad tal como lo describió Labuza *et al.* (1985).

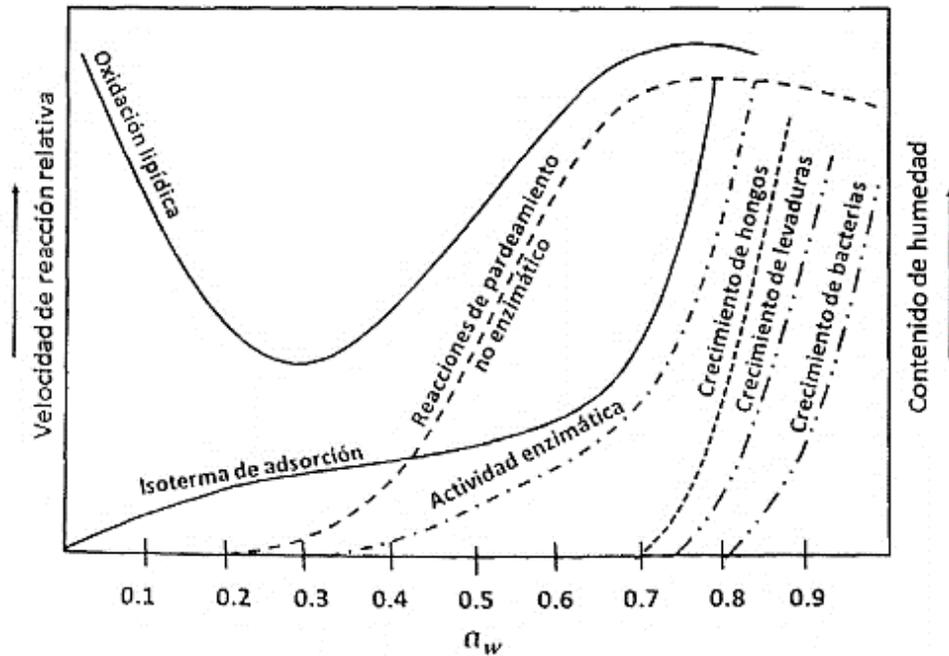


Figura 1. 5 Mapa de la estabilidad de los alimentos

1.9.2. Humedad

La humedad indica la cantidad de agua presente en una muestra, su estimación durante y después del procesamiento de alimentos se convierte en una parte esencial de la vigilancia y control de calidad. El contenido de humedad puede expresarse en base seca o en base húmeda. La humedad en base húmeda (X_{wb}) es la cantidad de agua por unidad de masa de muestra húmeda y está definida matemáticamente por la ecuación 1.2.

$$X_{wb} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{masa de la muestra húmeda}} \quad (1.2)$$

La humedad en base seca (X_{db}) es la cantidad de agua por unidad de masa de sólido seco, la cual se define matemáticamente por la ecuación 1.3.

$$X_{db} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{masa de la muestra seca}} \quad (1.3)$$

El contenido de humedad de los alimentos no elaborados o frescos se expresa generalmente en base húmeda, pero muchos productos alimenticios que son sometidos a un proceso de secado su contenido de humedad es expresada en base seca (Bhuyan, 2007).

1.9.3. Densidad aparente

La densidad aparente es una práctica fundamental en el control de calidad de la industria alimenticia. Este parámetro permite determinar, por ejemplo, si un producto final puede ser empaquetado en un contenedor predeterminado, por lo que una densidad aparente alta es preferible si el polvo será transportado a grandes distancias, debido a que los costos de envío serán menores al ser una pequeña cantidad de polvo. En otros casos una densidad aparente baja es preferida para mostrar de manera visual una gran cantidad de polvo.

La densidad aparente se clasifica según su método de medición de la siguiente forma (Ibarz y Barbosa-Canovas, 2014):

- Densidad compactada: es determinada después de comprimir la totalidad de masa del polvo por presión mecánica, vibración o impactos.
- Densidad tras compactación: resulta del volumen del polvo después de ser compactado o vibrado bajo condiciones específicas y es la más útil para observar el comportamiento del polvo durante la compactación.
- Densidad aparente suelta: es medida después de que el polvo es libremente vertido en un contenedor.

1.10. Métodos de evaluación de la capacidad antimicrobiana de extractos de plantas y ácidos orgánicos

No existe una reglamentación y/o estandarización de la metodología para la evaluación de la capacidad inhibitoria de extractos de plantas, como se establece para antibióticos. La mayoría de los métodos están basados en los métodos utilizados para evaluar la resistencia y/o susceptibilidad a antibióticos.

Los métodos utilizados para evaluar actividad de extractos de plantas sobre bacterias y hongos suelen ser similares, variando la preparación del inóculo, medio de cultivo, temperatura y tiempo de incubación (Cowan, 1999).

Para el ensayo antimicrobiano de los aceites esenciales se han utilizado métodos convencionales aplicados usualmente para los antibióticos, entre los cuales destacan dos técnicas básicas que consisten en el método de difusión en agar y el método de dilución en agar o en caldo (Kalemba y Kunicka, 2003).

1.10.1. Métodos en agar

Entre estos métodos el más utilizado por su sencillez y rapidez en la lectura de resultados es el método de difusión por discos, basados en la metodología utilizada por (Bauer *et al.*, 1966). El principio del método involucra la aplicación de una cantidad determinada de un antimicrobiano u otra sustancia en un sustrato, (usualmente discos de papel) en la superficie del agar sobre el cual se ha distribuido un inóculo del microorganismo en estudio; se formará así, por difusión un gradiente de concentración del producto alrededor del disco y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano.

El diámetro obtenido dependerá no sólo de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa de agar, del pH y de la composición del medio de cultivo, de la capacidad de difusión del producto en el medio, de la temperatura y de la atmósfera de incubación, de la velocidad de

duplicación bacteriana, y del tamaño del inóculo y fase de crecimiento de la bacteria o microorganismos en estudio (Kalembe y Kunicka, 2003).

1.11. Antecedentes

Almeida *et al.* (2013) llevaron a cabo la microencapsulación de aceite esencial de orégano en materiales a base de almidón, la concentración ideal para sus microcápsulas tiene una formulación de 20% de almidón de arroz y 1% de gelatina. Obteniendo una eficiente impregnación del aceite esencial de orégano en las microcápsulas, y llevando a cabo sus condiciones de operación moderadamente para evitar la degradación del aceite esencial de orégano.

Palma *et al.* (2013) realizaron un trabajo llamado microencapsulación de ácido ascórbico mediante secado por aspersion en almidones nativos modificados de diferentes fuentes botánicas. En este trabajo eligieron el secado por aspersion debido a que es un método económico y sencillo de realizar, tomando en cuenta para la formulación de las microcápsulas que realizaron una concentración de ácido ascórbico de 10% en peso con respecto al almidón, el material de las microcápsulas se seleccionó de acuerdo a la interacción del material de cubierta con el material de matriz, eligiendo de esta manera las microcápsulas de almidones modificados de patatas y arroz, ya que presentaron mayor retención de superficie de ácido ascórbico.

Verdalet *et al.* (2013) llevaron a cabo la caracterización de nuevas fuentes de almidones derivados como materiales de la pared de aceite esencial de naranja (d-limoneno) por secado por aspersion, el material de cubierta que seleccionaron fue almidones de arroz y taro, utilizando el método de secado por aspersion, obteniendo una eficiencia del 96.9% del almidón de taro y 96.8% del almidón de arroz siendo estos materiales potencialmente aceptados para la microencapsulación de aceite esencial de naranja (d-limoneno).

Torrenegra *et al.* (2015) utilizaron la radiación por microondas debido a la mejora de la calidad que se presenta en los aceites esenciales, así como también la reducción de costos de operación. En esta investigación se realizó una comparación de la eficiencia de extracción, así como de la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, extraídos mediante hidro-destilación convencional (HD) e hidro-destilación asistida por radiación de microondas (MWHD), en el cual concluyeron con rendimientos de 0.09% por método de (HD) y 0.92% por (MWHD) con respecto a la composición química. El rendimiento de los Aceites esenciales de *Minthostachys mollis* tuvo un porcentaje mayor por el método hidrodestilación asistida por microondas (MWHD), por lo cual se sugiere el método (MWHD) ya que es amigable con el medio ambiente, ya que se evita el uso de disolventes orgánicos y la cantidad de CO₂ es menor en comparación con la hidrodestilación convencional.

Xing *et al.* (2011), estudiaron los efectos del recubrimiento de quitosano enriquecido con aceite de canela sobre las propiedades cualitativas del pimiento dulce (*Capsicum annum L.*), almacenado a 8°C durante 35 días. El tratamiento con recubrimiento de aceite de quitosano-canela mostró el mejor efecto de control sobre la descomposición (por debajo del 5%), al final del almacenamiento, las muestras tratadas con recubrimientos de aceite de quitosano-canela mantuvieron una buena aceptabilidad sensorial, mientras que la calidad sensorial de las muestras de control resultaron inaceptables. Por otra parte, las imágenes que obtuvieron por microscopía de fuerza atómica mostraron que la superficie del pimiento dulce sin tratamiento de revestimiento era más áspera que la de los pimientos tratados con recubrimiento de aceite de quitosano-canela. Como conclusión los autores sugieren que el recubrimiento de aceite de quitosano-canela podría ser un candidato prometedor para mejorar la calidad de conservación de los pimientos dulces, el recubrimiento de aceite de quitosano puede ser considerado para aplicaciones comerciales durante el almacenamiento y comercialización.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPITULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Métodos

La investigación experimental se realizó en el Laboratorio de investigación de Físicoquímica y materiales de empaque alternativos del Instituto Tecnológico de Celaya. En la Figura 2.1 se muestra un diagrama de bloques en el cual se describen las actividades a realizadas.

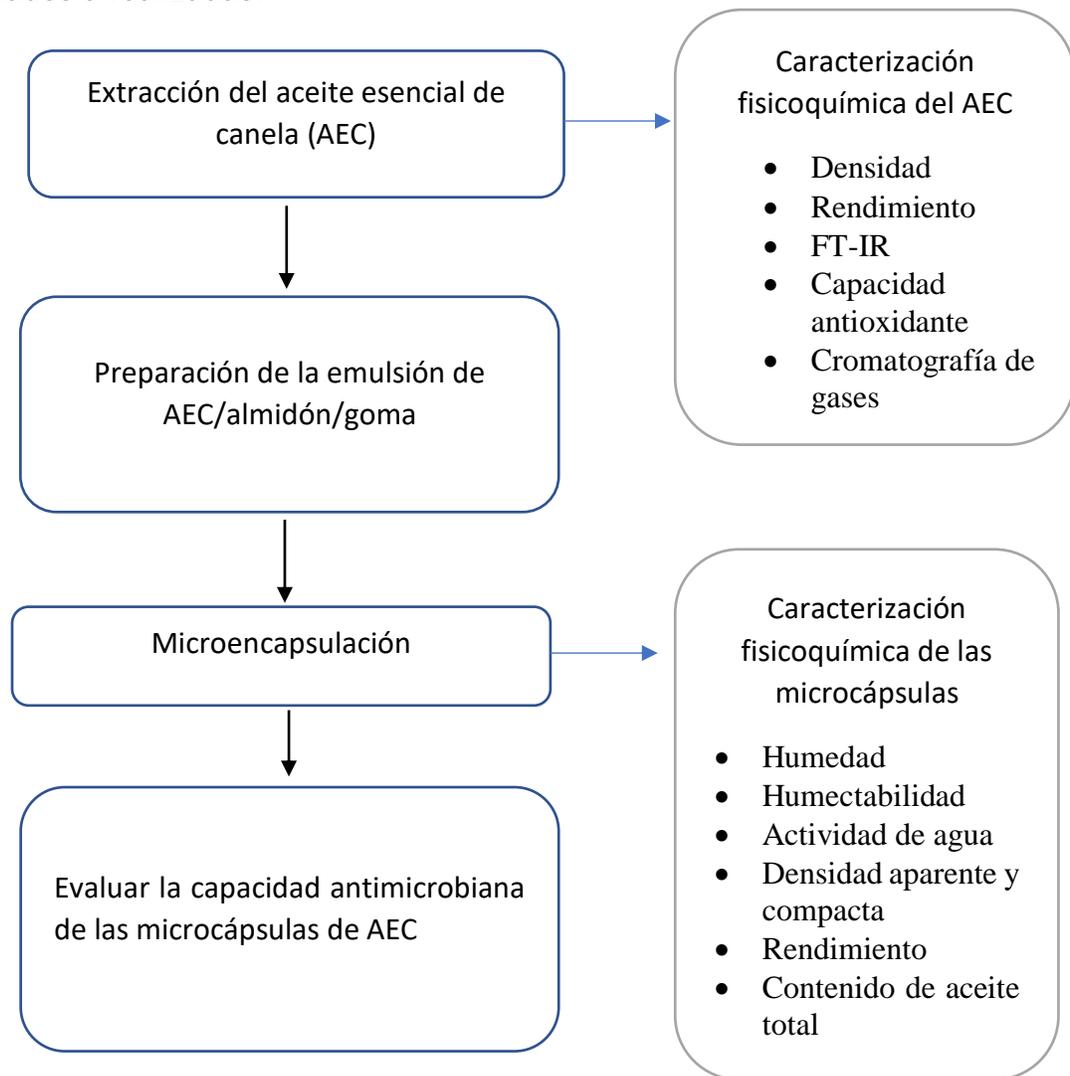


Figura 2. 1 Metodología general del proceso para la obtención de microcápsulas de aceite esencial de canela para su aplicación en la fabricación de películas de almidón

2.2. Proceso de extracción del aceite esencial de canela (AEC)

Se eligió cómo proceso de extracción del AEC el método de hidrodestilación, ya que el material vegetal está en contacto directo con el solvente aprovechando una mayor superficie de contacto. Este método consiste en calentar una suspensión del material vegetal con agua hasta ebullición, condensando los vapores. El aceite, no miscible con el agua, se separa al condensarse esto debido a la diferencia de densidades. El material vegetal en suspensión debe mantenerse en agitación para evitar su aglomeración en el fondo del recipiente y que se degrade en contacto directo con superficies calientes.

2.2.1. Selección de la materia prima

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizaron como materia prima dos tipos de canela, el tipo *Cinnamomum zeylanicum*, procedente de Sri Lanka y el tipo “canelón” procedente de la región de Veracruz, México (Figura 2.2). Para lo cual dos lotes de cada tipo de canela fueron adquiridos en el mes de Febrero del año 2017.

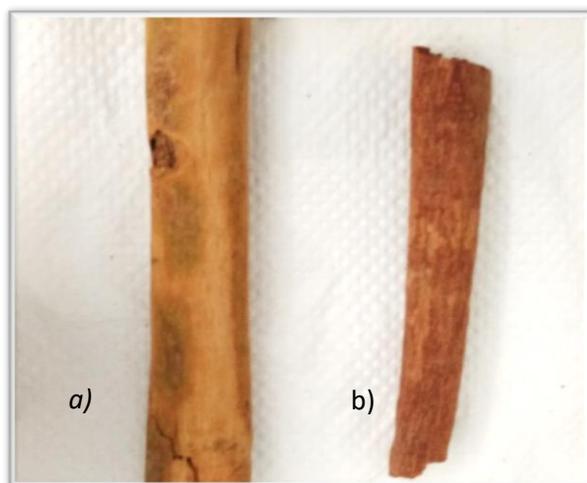


Figura 2. 2 Muestras de los dos tipos de canela: a) *Cinnamomum zeylanicum*, b) Canelón

2.2.2. Preparación de la materia prima

Para la preparación de la muestra, se tomó en cuenta la superficie de contacto que existe entre la materia prima y el solvente a utilizar (Noria-Balderas y Pérez-Pérez,

2015), ya que esto influirá en la eficiencia de extracción que se obtenga para cada experimento.

Tanto la canela tipo *Cinnamomum zeylanicum* y tipo *canelón* se cortaron en tamaños de 1 cm de largo, debido a su textura, la primera es más sensible a su manipulación en tanto que la segunda es más rígida.

2.2.3. Condiciones de extracción por hidrodestilación

Las condiciones de extracción que se mantuvieron constantes en cada experimento son: Masa de canela 30 g, temperatura de ebullición del agua en Celaya, Gto., correspondiente a 95°C, velocidad de agitación de 300 rpm y volumen de agua destilada (300 mL) como solvente de extracción (Figura 2.3). El tiempo de extracción se contempló a partir de que la primera gota de destilado cayó al baño con hielo, este momento es crucial para iniciar con el conteo del tiempo de extracción del AEC.



Figura 2. 3 Equipo de extracción del aceite esencial de canela

Con la finalidad de encontrar una mejor eficiencia de extracción se trabajó con diferentes condiciones experimentales, se realizaron cuatro variaciones en las condiciones de operación de la hidrodestilación, cada una de ellas con ambos tipos de canela, las cuales se definen en la Tabla 2.1.

Tabla 2. 1 Condiciones de operación para la extracción del Aceite esencial de canela

No. Experimento	Condiciones	Tiempo
1	Hidrodestilación Sin pretratamiento	-
2	Hidrodestilación/pretratamiento de ultrasonido	10 min
3	Hidrodestilación/pretratamiento de ultrasonido	60 min
4	Hidrodestilación/pretratamiento de Maceración	720 min

2.2.4. Extracción de AEC por hidrodestilación

Cada tipo de canela se agregó en un matraz balón y se colocó un agitador magnético a cada matraz. Ambas muestras se colocaron en parrillas para comenzar con la extracción por hidrodestilación.

2.2.5. Extracción de AEC con pretratamiento de ultrasonido

Para las corridas con pretratamiento de ultrasonido se empleó un baño ultrasónico marca Cole-Parmer 08895-59 (40 Khz; potencia: 110 W), se consideraron dos rangos de tiempos (10 y 60 min) y temperatura de 30 °C. Cada tipo se agregó en un matraz balón y se colocaron en el baño ultrasónico por separado de acuerdo al tiempo de sonicado. Transcurrido el tiempo de sonicado las muestras se sometieron a hidrodestilación.

2.2.6. Extracción de AEC con pretratamiento de maceración

Cada tipo se agregó en un matraz balón, los matraces se cubrieron para evitar contaminación de los alrededores. Se condicionaron a temperatura ambiente y se sometieron a maceración por 12 h, transcurrido este tiempo ambas muestras se sometieron a hidrodestilación.

2.2.7. Recolección del AEC

El destilado que se obtuvo de cada experimento de extracción se recolectó en matraces Erlenmeyer cubiertos por papel aluminio para evitar que el destilado se

encuentre en contacto con la luz y de esta manera prevenir la oxidación de la sustancia destilada.

2.2.8. Separación de componentes del destilado de canela

El destilado de canela obtenido mediante el proceso de hidrodestilación está compuesto por hidrolato, también conocido como agua floral y en pequeña cantidad de aceite esencial. Para separar estas dos sustancias y obtener sólo el aceite esencial, se centrifugó el destilado de cada uno de los experimentos, las muestras se colocaron en tubos de plástico de fondo cónico con capacidad de 50 mL y se pesaron, para su uso posterior. La centrifuga marca Eppendorf modelo 5810 R se utilizó a las condiciones de operación de 4000 rpm, tiempo de 10 min y temperatura controlada de 4°C.

Una vez centrifugada la muestra, se recolectó el aceite esencial obtenido con la ayuda de jeringas de plástico, el cual se encontraba en la parte inferior de los tubos esto debido a su mayor densidad y en la parte superior se observó el hidrolato (Figura 2.4).

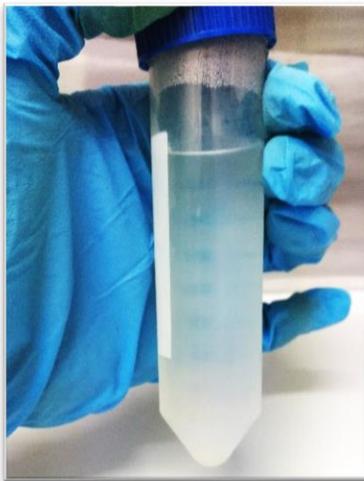


Figura 2. 4 Destilado de canela centrifugado

2.2.9. Almacenamiento del AEC

Los tubos de ensaye conteniendo las muestras obtenidas de AE para cada experimento se almacenaron cubiertos por aluminio y en refrigeración, a fin de evitar la oxidación del aceite.

2.3. Caracterización fisicoquímica del AEC

Fue preciso realizar una caracterización fisicoquímica del AEC, para identificar los componentes presentes en los aceites obtenidos de los dos tipos de canela estudiados en esta investigación.

2.3.1. Densidad del AEC

La cantidad del aceite esencial de canela obtenido debe ser reportado como la masa obtenida del producto final, para posteriormente reportar el rendimiento de extracción en términos de masa de la muestra inicial por esta razón fue necesario calcular la densidad del AEC, para la cual se midió la masa de 1 mL de AEC y se obtuvo la densidad mediante la ecuación 2.1.

$$\rho = \frac{m_{AEC}}{V_{AEC}} \quad (2.1)$$

Donde m_{AEC} es la masa del AEC (g) y V_{AEC} es el volumen del AEC (mL).

2.3.2. Rendimiento de extracción del AEC

Para evaluar el mejor método de extracción de AEC fue necesario calcular el rendimiento de extracción para cada experimento realizado de acuerdo a las dos variaciones de canela que se utilizaron *Cinnamomum zeylanicum* y *canelón*.

Para calcular el rendimiento de extracción se utilizó el método descrito por (Navarrete *et al.*, 2009) con algunas modificaciones, las cuales corresponden al tipo de aceite en la ecuación 2.2.

$$\% R = \frac{P_p}{P_m} * 100 \quad (2.2)$$

Donde % R es el porcentaje del rendimiento de extracción, P_p es el peso del producto en (g) y P_m corresponde al peso de la materia prima en (g).

2.3.3. Análisis del AEC por espectroscopía infrarroja (FT-IR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) es un método que se aplica para la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo, sobre todo orgánicas y bioquímicas.

El espectro de IR de un compuesto es la representación de la absorción que ocurre en la región infrarroja en función de la frecuencia de radiación. La cantidad de radiación absorbida se mide como % de transmitancia. Teniendo en cuenta que cada molécula o grupo funcional tiene una absorción característica, a una longitud de onda determinada, a partir del espectro de absorción es posible identificar los grupos funcionales de cada compuesto.

Para identificar los grupos funcionales presentes en el AEC se empleó un espectro de infrarrojo con transformada de Fourier acoplado a un detector de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR Perkin Elmer Spectrum 100) ubicado en el laboratorio de polímeros del Departamento de Ingeniería química del Instituto Tecnológico de Celaya (Figura 2.5).



Figura 2. 5 Equipo FT-IR con detector ATR Perkin Elmer

Para analizar la muestra de AEC se elaboró una pastilla de bromuro de potasio (KBr) impregnada de AEC y se midió en un rango de $(4000-600\text{ cm}^{-1})$ con 40 scans y corregido con una línea base en modo de transmitancia.

2.3.4. Evaluación de la capacidad antioxidante del AEC

Uno de los métodos más utilizados para evaluar la capacidad antioxidante de compuestos o extractos específicos es mediante la prueba DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil). En este método los extractos se hacen reaccionar con el radical estable DPPH en solución de metanol. La capacidad de reducir el radical libre DPPH a una longitud de onda característica (Proestos *et al.*, 2013).

Para medir la capacidad antioxidante del AEC se prepararon disoluciones de aceite esencial de canela de 0.5, 1, 2.5, 5 y 10 mg/mL en metanol para los dos tipos de aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y *canelón* obtenidos del experimento número 3, las cuales se colocaron en viales de plástico. También se preparó una solución 0.1 Mm de DPPH en metanol de la cual se agregaron 2475 μL en viales de plástico más 25 μL de cada disolución de aceite esencial de canela. Las muestras se agitaron con la ayuda del equipo Vortex Genie por 30 s, las muestras se mantuvieron por 30 min en oscuridad. Finalmente, transcurrida la reacción, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro ultravioleta-visible Thermo Scientific Genesys 10S (Figura 2.6) a una longitud de onda de 515 nm.



Figura 2. 6 Espectrofotómetro UV/VIS Genesys 10S

El porcentaje de inhibición de radicales libres se calculó para cada solución en base a la ecuación (2.3).

$$\% I = [(A_0 - A)/A_0] * 100 \quad (2.3)$$

Donde A_0 es la absorbancia control de la solución DPPH 0.1 mM sin el AEC (0.855) y A es la absorbancia de cada muestra después de 30 min de haber reaccionado con el DPPH 0.1 mM.

2.3.5. Cromatografía de gases/ Espectrometría de masas (GC-MS) del AEC

El análisis GC-MS se realizó en un espectrómetro de masas marca Agilent Mod. 5975C con detector de triple eje, acoplado con un sistema de cromatografía de gases marca Agilent Mod 7890^a (Figura 2.9). Las condiciones de operación que se utilizaron fue una temperatura inicial (T_0) de 50°C durante 3 min, para iniciar con una rampa de calentamiento de 20°C/min hasta llegar a 250°C (T_1) y se mantuvo a esa temperatura durante 3 min, tiempo total de la corrida 20 min. La columna que se utilizó fue HP INNOWAX, la inyección de la muestra se realizó en modo “splitless”, con una temperatura del inyector de 260°C, se inyectó 1 μ L, con un flujo de 1 mL/min, con un SIM de iones de 164 y 131, característicos del eugenol y cinamaldehído, componentes principales de estudio del aceite esencial de canela.



Figura 2. 7 Equipo de cromatografía

Preparación de la muestra de AEC para (GC-MS)

Se analizaron las muestras obtenidas de los 4 experimentos que se realizaron anteriormente para los dos tipos de canela, “*Cinnamomum zeylanicum*” y “canelón” teniendo un total de 8 muestras para analizar.

Se utilizaron 50 μL de aceite esencial de canela y se agregaron a 400 μL de diclorometano (99.8%), esta mezcla se llevó a cabo en microtubos de 1.5 mL y se llevaron a agitación con ayuda del equipo Vortex Genie por un tiempo de 1 min (Acevedo *et al.*, 2013).

2.4. Conformación de la emulsión

Un punto importante a considerar en la microencapsulación del AEC es lograr una buena estabilidad de las microcápsulas y esto dependerá de la preparación de la emulsión, la cual debe presentar una buena estabilidad, propiedades emulsificantes, distribución del componente activo y viscosidad moderada para evitar obstrucción en el secador por aspersion.

2.4.1. Preparación de la emulsión

La solución se preparó con diferentes concentraciones de materiales encapsulantes al 10, 20 y 30% p/v (goma arábica y almidón de maíz). La cantidad de aceite esencial de canela utilizado fue de 10, 20 y 30% en peso en relación con los materiales encapsulantes. Como material encapsulante utilizado para la microencapsulación del AEC se seleccionó la goma arábica y almidón de maíz.

Para los 15 experimentos del diseño Box-Behnken se utilizaron diferentes concentraciones de materiales encapsulantes, AEC, el contenido total de agua destilada que se utilizó fue de 40 mL, las cantidades de cada material se describen en la Tabla 2.2.

Para la preparación de la emulsión, se realizaron 15 formulaciones en las cuales para cada una de ellas la goma arábica y el almidón de maíz se prepararon por

separado, primero en un vaso de precipitado de 250 mL se disolvió la goma arábica en una cantidad correspondiente del 50% del total de agua destilada a temperatura de 65°C.

Tabla 2. 2 Cantidad de materiales para la preparación de la emulsión

No. Experimento	M. E. (g)	AEC (mL)	Almidón (g)	Goma (g)	A+G (g)	Agua (mL)
1	4	0.4	1.8	1.8	3.6	36
2	12	2.4	4.8	4.8	9.6	28
3	4	0.8	1.6	1.6	3.2	36
4	12	2.4	4.8	4.8	9.6	28
5	4	0.8	0.8	2.4	3.2	36
6	12	2.4	2.4	7.2	9.6	28
7	4	0.8	2.4	0.8	3.2	36
8	12	2.4	7.2	2.4	9.6	28
9	8	1.6	1.6	4.8	6.4	32
10	8	1.6	1.6	4.8	6.4	32
11	8	1.6	4.8	1.6	6.4	32
12	8	1.6	4.8	1.6	6.4	32
13	8	1.6	3.2	3.2	6.4	32
14	8	1.6	3.2	3.2	6.4	32
15	8	1.6	3.2	3.2	6.4	32

*Donde M. E. es materiales encapsulantes, AEC es aceite esencial de canela, A+G es almidón de maíz más goma arábica

Por otra parte, en otro vaso de precipitado de 250 mL se disolvió el almidón de maíz con el 50% restante de agua destilada a 65°C ambas muestras se mantuvieron en agitación constante en una plancha de calentamiento, dejándolas enfriar a temperatura ambiente, una vez frías se colocó el almidón de maíz en agitación a temperatura ambiente y se le añadió de manera moderada la solución de goma arábica, la mezcla se mantuvo en agitación hasta obtener una suspensión uniforme.

A la suspensión de goma arábiga y almidón se le añadió la cantidad de AEC correspondiente al número de experimento (10, 20 y 30% en peso en relación con los materiales encapsulantes), esta mezcla se mantuvo en agitación constante.

Finalmente, la suspensión que se obtuvo se llevó a un proceso de microfluidización en un ultraturrax en el nivel 1 por un lapso de tiempo de 10 min con la finalidad de tener una emulsión más estable que se conoce como emulsión fina.

2.4.2. Estabilidad de la emulsión

El grado de estabilidad de la emulsión, se midió inmediatamente después de haberla preparado, tomando una alícuota de 5 mL y transfiriéndola a tubos para centrifuga tipo Falcon graduados de plástico, con la finalidad de cuantificar el volumen de separación. Posteriormente se almacenó a temperatura ambiente por un día.

Una vez transcurridas las 24 horas se midió el volumen de la fase superior y se aplicó la ecuación (2.4).

$$\% \text{ Separación} = \left[\left(\frac{V_1}{V_0} \right) * 100 \right] \quad (2.4)$$

Donde V_0 representa el volumen inicial de la emulsión (mL) y V_1 es el volumen de la fase superior (mL).

2.5. Proceso de microencapsulación del AEC

Para el proceso de microencapsulación del AEC se consideraron dos puntos importantes previos al proceso de microencapsulación, tales como la definición de un análisis de diseño de experimentos y la preparación de la emulsión los cuales se describen a continuación.

2.5.1. Diseño experimental para metodología de superficie de respuesta

Con el objetivo de evaluar el efecto de las variables del proceso de la microencapsulación del AEC, se aplicó como análisis de superficie de respuesta un diseño Box-Behnken. Las variables independientes consideradas en el diseño de experimentos son: materiales encapsulantes: almidón de maíz más goma arábica en una concentración de 10, 20 y 30%, concentración de aceite esencial 10, 20 y 30% en peso en relación con los materiales encapsulantes, proporción de almidón/goma arábica de 25:75, 50:50, 75:25.

El diseño de experimentos considerando las variables naturales se presenta en la Tabla 2.3. La variable de respuesta evaluada durante el proceso de microencapsulación del AEC, fue la eficiencia de la misma.

Tabla 2. 3 Factores para el diseño Box-Behnken del proceso de microencapsulación del AEC

Experimento	Factores de estudio		
	Materiales encapsulantes	Relación AEC	Almidón + Goma
1	10	10	50:50
2	30	10	50:50
3	10	30	50:50
4	30	30	50:50
5	10	20	25:75
6	30	20	25:75
7	10	20	75:25
8	30	20	75:25
9	20	10	25:75
10	20	30	25:75
11	20	10	75:25
12	20	30	75:25
13	20	20	50:50
14	20	20	50:50
15	20	20	50:50

2.5.2. Microencapsulación mediante secado por aspersión

Para el proceso de secado por aspersión se empleó un secador por aspersión modelo ADL-311S marca Yamato ubicado en el laboratorio de fisicoquímica de alimentos del Instituto Tecnológico de Roque (Figura 2.8).

Una vez elaborada la emulsión, se procede a realizar el secado por aspersión de cada una de las muestras. La primera etapa del proceso consiste en atomizar la emulsión en pequeñas gotas por medio de una boquilla a presión. El principal objetivo de esta etapa es crear la máxima superficie de contacto entre el aire seco y el líquido contenido en las partículas, con el fin de optimizar la transferencia de calor y masa del proceso.



Figura 2. 8 Secador por aspersión Yamato ADL311S

Para obtener una buena eficiencia de microencapsulación, incluso si el material encapsulante no es el adecuado, se deben usar las condiciones óptimas para el proceso de secado por aspersión. Los principales factores a considerar son: la temperatura de alimentación, la temperatura de entrada y salida de aire, el flujo de alimentación de la muestra y el flujo de entrada del aire.

La temperatura de entrada de aire de salida, contrario a la de entrada, no se puede controlar de forma directa, ya que esta depende de la temperatura de entrada que se haya suministrado. La temperatura de salida ideal para la microencapsulación se ha reportado entre 50-80°C (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Condiciones de operación del proceso de microencapsulación

Las condiciones de operación que se utilizaron para el secador por aspersion marca Yamato ADL311S se mantuvieron constantes, el equipo se encendió y se precalentó la cámara de secado con esto se estabilizó el sistema para garantizar un secado uniforme, las condiciones de operación fueron: temperatura de aire de entrada 160 °C, temperatura de salida del aire 65 °C \pm 2 °C, flujo de entrada del aire 0.32 m³/min, presión de compresión del aire 1MPa, flujo de alimentación de la muestra 13 mL/min. Finalmente, las microcápsulas obtenidas se vertieron en cajas Petri esterilizadas, las cuales se sellaron y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis.

2.6. Caracterización fisicoquímica de las microcápsulas

El producto obtenido del proceso de microencapsulación por secado por aspersion, a nivel macroscópico, consiste en un polvo fino, con características físicas similares a las de los polímeros que fueron utilizados como matriz encapsulante. Por esta razón fue preciso realizar una caracterización fisicoquímica de los polvos obtenidos, para identificar puntos clave que nos pueden describir la eficiencia del proceso.

2.6.1. Rendimiento de la microencapsulación

El rendimiento de la microencapsulación fue calculado como la relación entre el contenido de sólidos totales en el polvo resultante y el total de contenido de sólidos en la mezcla de alimentación expresado como porcentaje, mediante la ecuación 2.5.

$$RE(\%) = \frac{W_m}{W_o} \times 100 \quad (2.5)$$

Donde RE corresponde al rendimiento de la microencapsulación (%m), W_m es el peso total de microcápsulas obtenido (g) y W_o es el peso total de sólidos de entrada en cada emulsión (g).

2.6.2. Contenido de aceite total

Para medir el contenido de aceite total o extracto etéreo se tomó como referencia el método (AOAC 922.06, 2005) para determinación de grasa total por hidrólisis ácida.

Se pesaron 0.5 g de cada uno de los 15 experimentos de microencapsulado del AEC, a los cuales se les adicionó 0.5 mL de alcohol etílico y 2.5 mL de ácido clorhídrico, se mezcló y se llevó a baño maría por 40 min, posteriormente se añadieron 2.5 mL de alcohol etílico y se dejó enfriar.

Cada tratamiento se transvasó a tubos de ensayo con rosca con el fin de mantener una adecuada manipulación de la muestra, se realizaron 4 lavados con éter etílico y éter de petróleo y se transvasaron a vasos previamente pesados donde se dejó evaporar el solvente por aproximadamente 1 h y finalmente se llevó a estufa a 100 °C por 1 h.

2.6.3. Eficiencia de microencapsulación

Se define como la cantidad de algún compuesto activo encapsulado en una matriz en relación a la cantidad inicial de dicho componente utilizado en el proceso. La eficiencia fue calculada con base en el AEC retenido dentro de las microcápsulas mediante la ecuación 2.6.

$$E(\%) = \frac{A_T}{A_I} * 100 \quad (2.6)$$

Donde E es la eficiencia de la microencapsulación en (%), A_T es el contenido de aceite total (g), A_I corresponde al contenido de aceite inicial (g)

2.6.4. Determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente en horno de convección a 105 °C de acuerdo al método descrito por (Fernandes *et al.*, 2013).

La prueba se realizó por triplicado, se pesó 1 g de muestra en cajas de aluminio y se llevaron al horno de convección durante 4 h, las cajas se dejaron enfriar en un desecador por 45 min y se registró su peso. La humedad se calculó de acuerdo a la ecuación 2.7.

$$H = \frac{m - m_1}{m_2} \times 100 \quad (2.7)$$

Donde H es la humedad en (%), m es la masa de la caja con la muestra húmeda (g), m_1 es la masa de la caja con la muestra seca (g), y m_2 corresponde a la masa de la muestra en (g).

2.6.5. Humectabilidad

La humectabilidad de un material es su tendencia a hacer que los líquidos se extiendan sobre su superficie. Es decir, el tiempo necesario para que un gramo de polvo desaparezca de la superficie de agua (Fuchs *et al.*, 2006).

Para medir la humectabilidad del microencapsulado se siguió el proceso que se detalla en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2 469:2009 para la determinación en leche en polvo instantánea.

Se midió un volumen de 100 mL de agua destilada, y se colocaron en un vaso de precipitado de 250 mL, con la finalidad de tener una mejor visualización del fenómeno. Se pesó 1 g de microcápsulas y se procedió a colocarlas en la superficie del agua destilada de manera homogénea, una vez añadida la muestra de polvo se puso en marcha el cronómetro y se tomó el tiempo en minutos que se demoraron las partículas en mojarse por completo.

2.6.6. Densidad aparente

La densidad aparente fue determinada por la metodología de (Carniero *et al.*, 2013), se llenaron probetas de 50 mL, previamente taradas, con la muestra de aceite microencapsulado y se registró su peso en gramos y se calculó de acuerdo a la ecuación 2.8.

$$\rho_{aparente} = \frac{P_m (g)}{V_{me} (mL)} \quad (2.8)$$

En donde P_m es el peso de la muestra (g) y V_{me} corresponde al volumen medido (mL).

2.6.7. Densidad compacta

Para determinar la densidad compacta, se empleó el método descrito por (Aghbashio *et al.*, 2013). Las muestras se realizaron por triplicado, se pesó 1 g de aceite microencapsulado y se transfirió a un tubo graduado de vidrio enseguida se le dieron 50 golpes contra una superficie horizontal, la densidad compacta se determinó de acuerdo a la ecuación 2.9.

$$\rho_{compacta} = \frac{P_{mc} (g)}{V_{me} (mL)} \quad (2.9)$$

En donde P_{mc} corresponde al peso de la muestra compactada en (g) y V_{me} es el volumen medido (mL).

2.6.8. Actividad acuosa de las microcápsulas

La actividad acuosa es la medida del estado de energía del agua en un sistema. La actividad acuosa de un sistema es medida mediante el equilibrio de la fase líquida en la muestra con la fase vapor del agua y la medida de la humedad relativa.

En el Aqualab, la muestra es colocada en un porta muestras, el cual es sellado y colocado contra el bloque sensor. Dentro del bloque se encuentra un ventilador, un

sensor de punto de rocío, un sensor de temperatura y un termómetro infrarrojo. El sensor del punto de rocío mide la temperatura del punto de rocío del aire y el termómetro infrarrojo mide la temperatura de la muestra. A partir de estas mediciones de temperatura, el equipo proporciona la actividad acuosa cuando la actividad acuosa de la muestra y humedad relativa en el aire están en equilibrio, el propósito del ventilador es acelerar el equilibrio.

Se determinó la actividad acuosa por triplicado de las microcápsulas de AEC obtenidas del experimento número 1, se llenó el porta muestras hasta la mitad y se tomaron lecturas a temperatura ambiente (25°C).

2.6.9. Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se realizó el análisis de calorimetría diferencial de barrido a las microcápsulas de AEC obtenidas del experimento 1 y 11 de la Tabla 2.3, los cuales corresponden a la mejor y peor eficiencia respectivamente, el análisis se realizó en un calorímetro marca TA Instruments modelo Q-2000, localizado en el laboratorio de polímeros del Departamento de Ingeniería Química del ITC (Figura 2.12).



Figura 2.12 Calorímetro TA Instruments modelo Q-2000

El análisis de (DSC) determina el rango de temperatura de descomposición de los materiales que forman la microcápsula, obteniendo así un termograma en el que resulten fácilmente identificables y cuantificables los fenómenos de fusión y descomposición para poder realizar su posterior análisis de resultados.

Para analizar el comportamiento térmico de las muestras de estudio se realizó una rampa, como primer paso se estabilizó el equipo a una temperatura de 30°C, consecutivamente se calentó hasta 350 °C a una velocidad de 10°C/min.

Preparación de la muestra para DSC

Las muestras que se analizaron correspondieron a las microcápsulas de AEC que tuvieron el mejor y el peor rendimiento los materiales de pared (goma arábica y almidón de maíz). De cada una de las muestras se pesaron de 5 a 10 mg, los cuales se trasladaron a crisoles para análisis térmicos. Las muestras que se pesaron se colocaron en la base de los crisoles, posteriormente se cubrieron y se colocaron en una prensa, de esta manera se sellaron los crisoles para el análisis de las muestras.

2.6.10. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de las microcápsulas fue observada mediante un microscopio electrónico de barrido o SEM por sus siglas en inglés (Scanning Electron Microscope) modelo JEOL JSM-820, localizado en el instituto de Física de la UASLP.

Las condiciones a las que fueron tomadas las imágenes son: una aceleración de electrones de 20 kV, una distancia de 13 mm y una apertura del haz de 50 con aumentos del objetivo de 700x, 1000x y 2000x. Las microcápsulas de AEC que se analizaron fueron las obtenidas del experimento número 1 y número 11, correspondientes a la mejor y peor eficiencia de microencapsulación. Se tomaron las muestras de cada uno de los contenedores mediante una cinta adhesiva de carbón de doble cara para poder observarlas sin llegar a la degradación, además, la medición fue hecha mediante el detector de electrones secundarios.

2.7. Actividad antimicrobiana

Las muestras de estudio fueron las microcápsulas obtenidas del experimento 1 y 11, y el aceite esencial de canela nacional (“*canelón*”). El microorganismo indicador

que se seleccionó para el análisis microbiológico fue *E. coli*, *salmonella* y *staphylococcus*.

Las bacterias se sembraron en medio agar MacConkey, con excepción de *staphylococcus*, que se sembró en medio agar nutriente (Biocen) y se incubaron a 35°C durante 48 h, los agares se prepararon de acuerdo a las especificaciones detalladas en cada una de las etiquetas de los contenedores de los medios de cultivo.

2.7.1. Método por papel filtro para microcápsulas de AEC

La actividad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en agar de acuerdo a la técnica descrita por Bauer *et al.* (1966), la cual se basa en la medición del diámetro de una zona de inhibición del crecimiento bacteriano, generado por difusión del compuesto en el agar. El tamaño de la zona indica la sensibilidad del microorganismo a dicho antimicrobiano.

Suspensiones de cada microorganismo fueron preparadas para contener aproximadamente 10^7 UFC/mL usando la escala McFarland como estándar. A Cajas Petri esterilizadas se le añadieron 15 mL de agar Mueller Hinton, dejando solidificar, posteriormente fueron inoculadas con las suspensiones microbianas. Muestras de 0.5 g de microcápsulas de AEC fueron colocadas sobre discos de papel filtro estériles de 5 mm de diámetro y cada uno fue colocado sobre las placas previamente inoculadas. Las placas fueron incubadas por 24 h a 32°C.

2.7.2. Método por orificios para el AEC

A cajas Petri esterilizadas se le añadieron 15 mL de agar Mueller Hinton, dejando solidificar, posteriormente fueron inoculadas con las suspensiones microbianas (10^7 UFC/mL), a cada caja se le perforaron 3 orificios de 4 mm de diámetro cada uno utilizando un sacabocado estéril.

A estos orificios se les añadió 1 μL de concentraciones crecientes de 1 a 100 % de AEC y las placas se incubaron a 32°C por 24 h.

La actividad antibacteriana se determinó observando el halo de inhibición alrededor de cada orificio (la distancia desde el borde del orificio hasta donde termina el halo).

CAPÍTULO 3

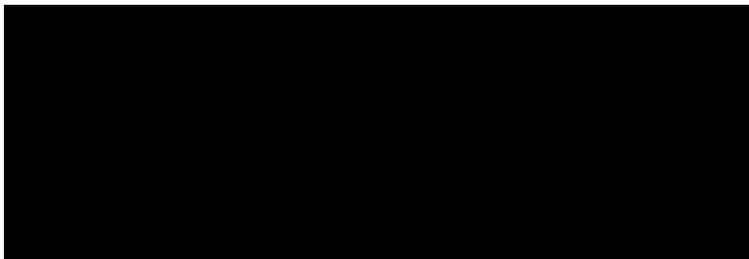
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Proceso de extracción del AEC

Para cada experimento realizado se contó el tiempo en que la extracción tardó en efectuarse, el tiempo se empezó a cronometrar en el momento en que cayó la primera gota en la extracción, los resultados se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3. 1 Tiempo final del proceso de extracción del AEC



El tiempo de extracción reportado en la Tabla 3.1 se refiere al proceso de extracción por hidrodestilación, para todas las muestras con y sin pretratamiento. Cabe destacar que el tiempo de extracción no es un factor importante a considerar ya que la variable a estudiar en el proceso de extracción es la eficiencia de extracción del AEC.

3.2. Densidad del AEC

Para obtener la densidad del AEC se midió la masa de 1 mL de AEC, el valor de la densidad se calculó empleando la Ec. (2.1) y obteniéndose un valor de 0.9973 g/mL.

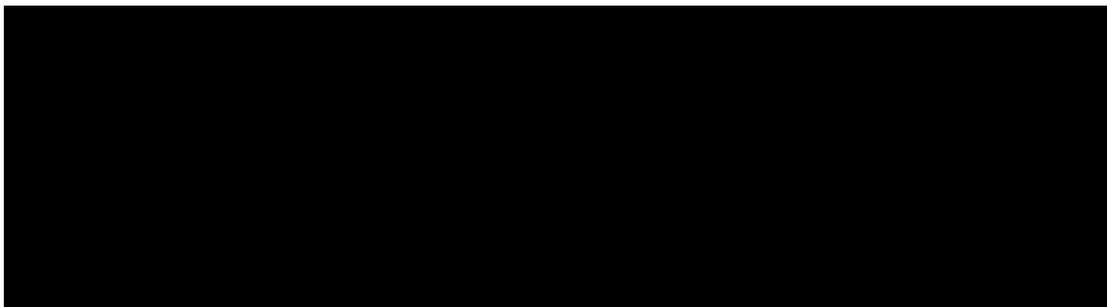
3.3. Rendimiento de extracción del AEC

Se realizó la cuantificación de la cantidad de AEC extraído para cada corrida experimental, y de esta manera se llevó a cabo el cálculo del rendimiento de la extracción, los resultados se muestran en la Tabla 3.2.

De acuerdo a la Tabla 3.2, el experimento 3, fue el que presentó un mayor rendimiento para ambos tipos de materia prima, siendo las condiciones de operación: hidrodestilación con pretratamiento de ultrasonido a 30°C y tiempo de 60

min, relación de sólidos agua 1:10 y tiempo de extracción 5 h, con un rendimiento para *canelón* de 6.64% y para *Cinnamomum zeylanicum* de 4.32%.

Tabla 3. 2 Rendimiento de extracción del AEC



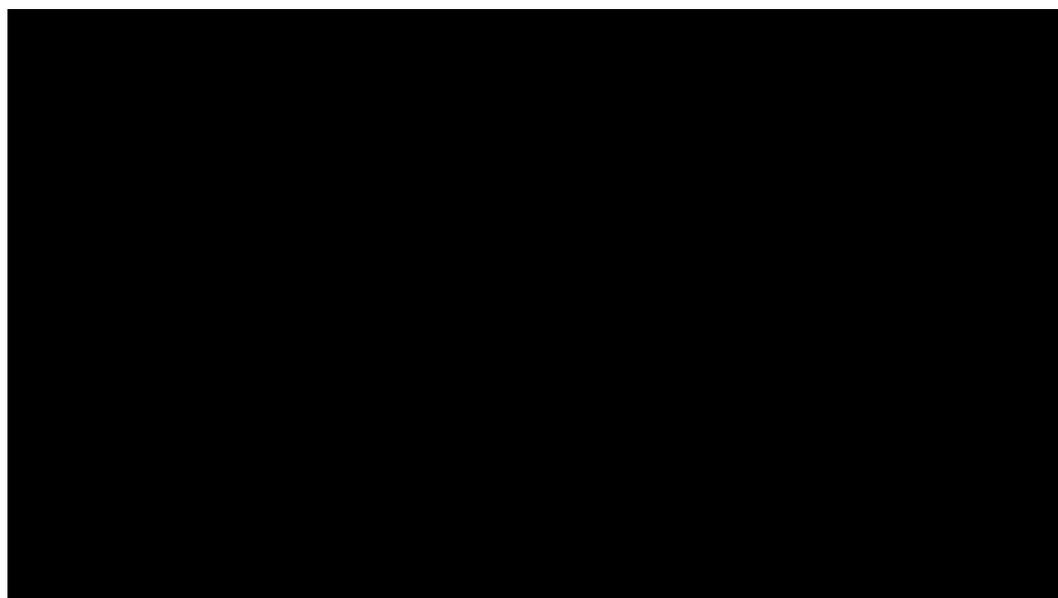
Por lo cual se puede decir que la canela tipo canelón correspondiente a la zona de Veracruz, México presenta mayor cantidad de aceite comparado con la *Cinnamomum zeylanicum* de Sri Lanka.

3.4. Análisis del AEC por espectroscopia infrarroja (FT-IR)

En la Figura 3.1 y 3.2 se pueden observar los espectros de infrarrojo para el AEC obtenido de los 4 diferentes experimentos mostrados en la Tabla 2.1 para las especies de canela tipo *Cinnamomum zeylanicum* y *canelón* respectivamente.

La interpretación de los espectros del AEC se realizó mediante la correlación de bandas de absorción en el espectro con las bandas de frecuencia de absorción conocidas.

Inicialmente en los espectros de la Figura 3.1 y 3.2 se observan las bandas de absorción ubicadas en 3309.77 cm^{-1} que corresponden al estiramiento del grupo hidroxilo (OH-), entre 1615 y 1734 cm^{-1} originada por grupos aldehídos, entre 687.746 y 745.783 cm^{-1} se atribuye a compuestos aromáticos que constituyen los componentes principales del AEC.



Número de onda / (cm^{-1})

Figura 3. 1 Espectro de infrarrojo del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), -- línea base, -- hidrodestilación sin pretratamiento, -- hidrodestilación/ pretratamiento de ultrasonido (10 min), -- hidrodestilación/ pretratamiento de ultrasonido (60 min), -- hidrodestilación/ pretratamiento de maceración (12 h)

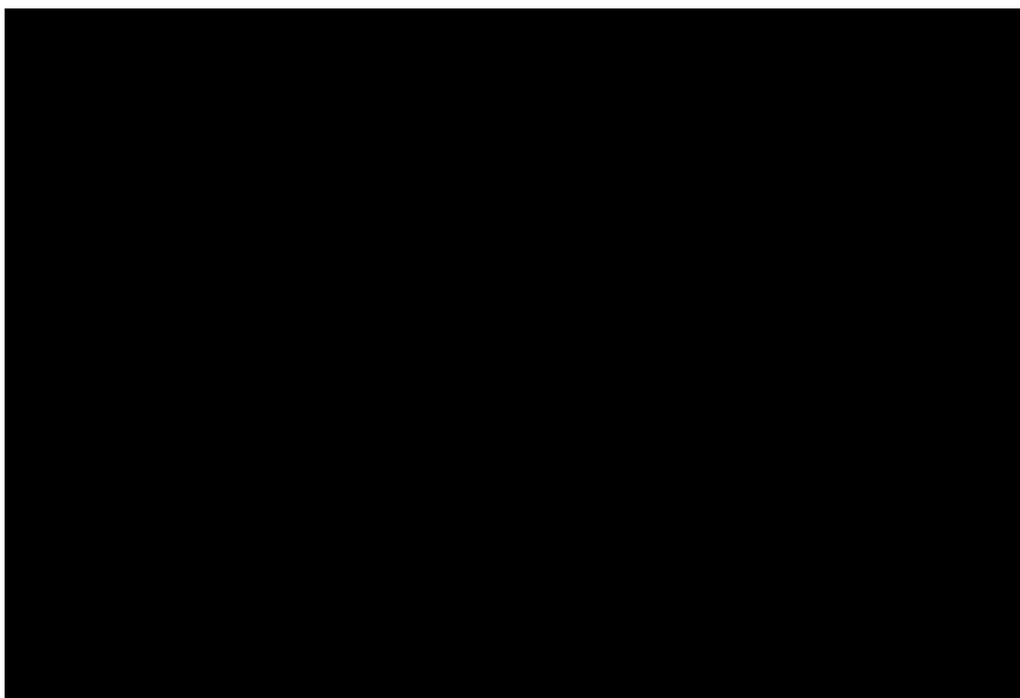


Figura 3. 2 Espectro de infrarrojo del aceite esencial de canela (*Canelón*), -- línea base, -- hidrodestilación sin pretratamiento, -- hidrodestilación/ pretratamiento de ultrasonido (10 min), -- hidrodestilación/ pretratamiento de ultrasonido (60 min), -- hidrodestilación/ pretratamiento de maceración (12 h)

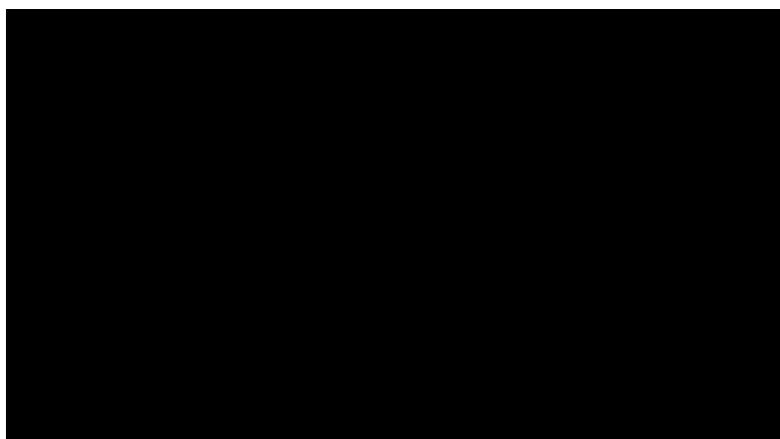
Gende *et al.* (2008), reportaron bandas características similares a las reportadas en este trabajo para los rangos 1690 cm^{-1} y 1760 cm^{-1} característicos de los grupos aldehídos donde de igual manera discuten la similitud de su espectro infrarrojo para aceite esencial de canela con el espectro para el compuesto cinamaldehído entre los rangos 500 a 1750 cm^{-1} .

3.5. Evaluación de la capacidad antioxidante del AEC

Los radicales libres están involucrados en el proceso de los lípidos por oxidación y juegan un papel importante en numerosas enfermedades crónicas como el cáncer y la enfermedad coronaria (Halliwell y Gutteridge, 2000). Por lo tanto, la capacidad de eliminar los radicales libres es una propiedad antioxidante importante con el fin de minimizar el daño celular oxidativo.

La absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones de AEC ($\lambda = 515\text{ nm}$) para la *Cinnamomum zeylanicum* y *canelón*, se muestra en la Tabla 3.3 y 3.4 respectivamente donde cada muestra se midió por triplicado presentándose el valor promedio.

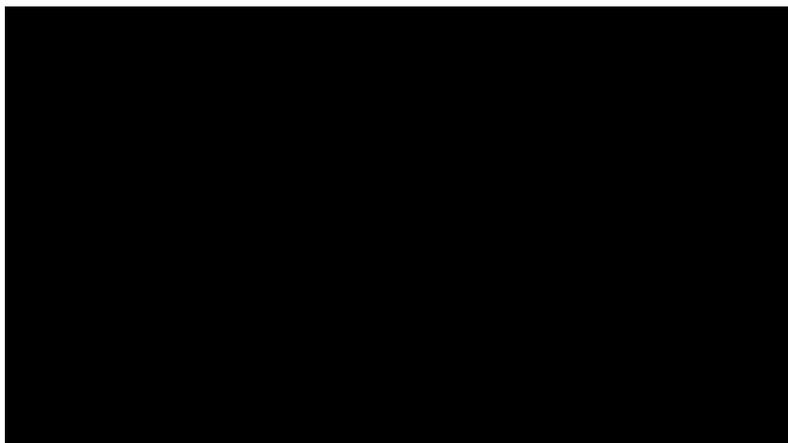
Tabla 3. 3 Absorbancia a diferentes concentraciones de AEC *Cinnamomum zeylanicum*



En la Tabla 3.3, la absorbancia presenta un comportamiento directamente proporcional a la concentración del AEC, presentándole una disminución en la concentración de 2.5 mg/mL .

En el comportamiento de la especie *Canelón* (Tabla 3.4) se notaron diversas diferencias en cuanto a las absorbancias obtenidas en cada punto respecto a la concentración, se observan aumentos, así como disminuciones entre cada punto.

Tabla 3. 4 Absorbancia a diferentes concentraciones de AEC *Canelón*



Las diferencias en las absorbancias (Tabla 3.4) y finalmente el aumento de absorbancia con la mayor concentración M/AEC se vieron afectadas por la nula presencia de polifenoles, los cuales son los encargados de donar átomos de hidrógeno a radicales oxidantes, disminuyendo el poder oxidante de la muestra de estudio (Cuellar *et al.*, 2013).

En la Figura 3.3 y 3.4 se observan los comportamientos del porcentaje de inhibición del compuesto DPPH, donde en la Figura 3.3 la actividad de eliminación de radicales DPPH de la muestra aumentó sólo en el punto de concentración a 2.5 mg/mL, de igual manera se obtuvo el mismo comportamiento para la Figura 3.4 en la concentración 5 mg/mL, estos comportamientos se ven afectados por las concentraciones, y sólo en estas concentraciones existe una donación de átomos de hidrogeno, los cuales son capaces de estabilizar y disminuir el poder de oxidación del AEC (Cuellar *et al.*, 2013).

A partir de las concentraciones 2.5 y 5 mg/mL decae el porcentaje de inhibición, donde el aumento de las concentraciones exhibió una actividad antioxidante nula.

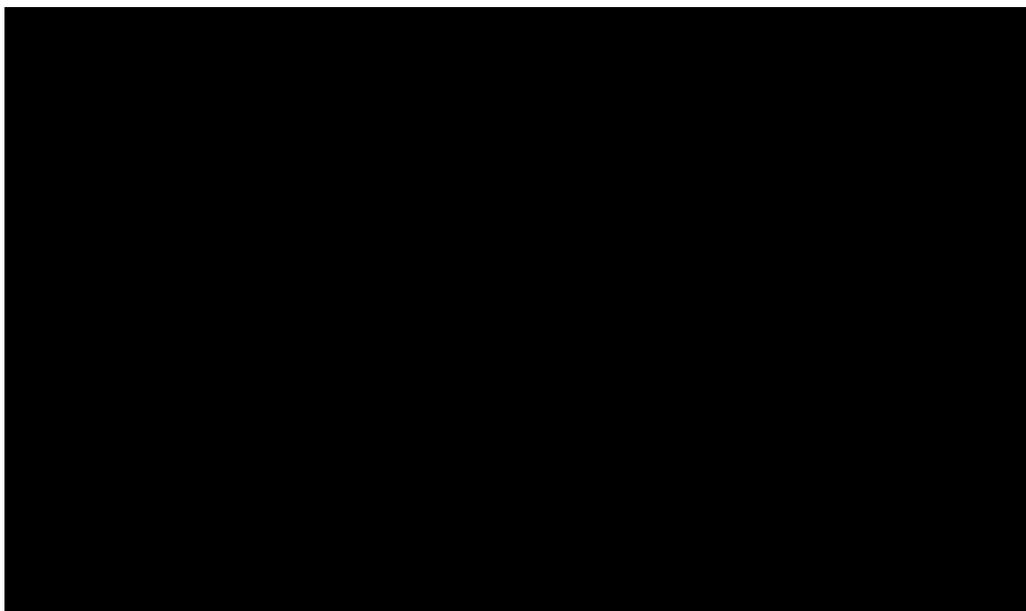


Figura 3. 3 Porcentaje de inhibición de radicales libres para diferentes concentraciones de AEC para *Cinnamomum zeylanicum*

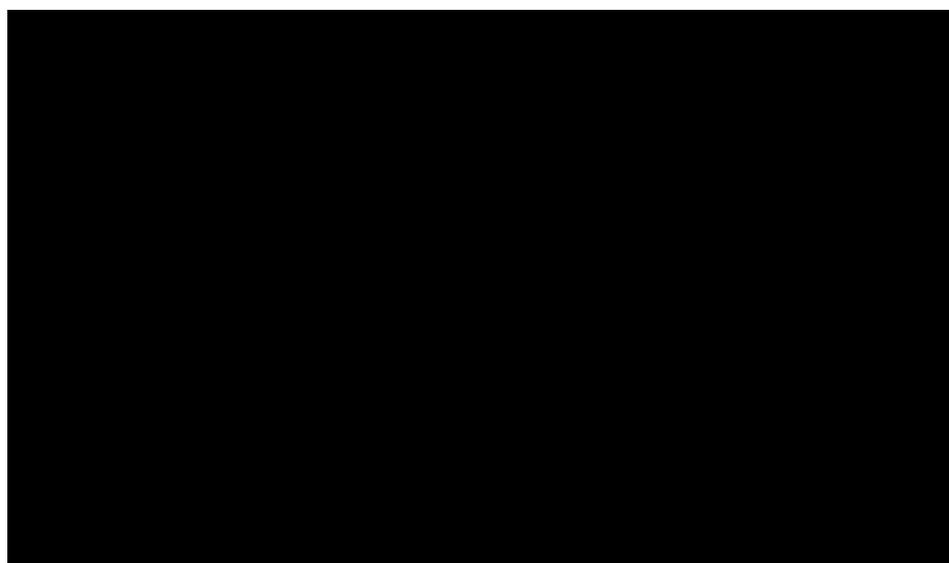


Figura 3. 4 Porcentaje de inhibición de radicales libres para diferentes concentraciones de AEC para *Canelón*

Cheng-Hong *et al.* (2012) reportaron para la canela tipo *Cinnamomum Cassia* notables actividades antioxidantes, donde la actividad de eliminación de radicales DPPH de las muestras aumentó proporcionalmente con el aumento de su concentración, obteniendo mayor actividad antioxidante con los extractos obtenidos de las hojas de la especie *Cinnamomum Cassia* extraídos por fluidos supercríticos.

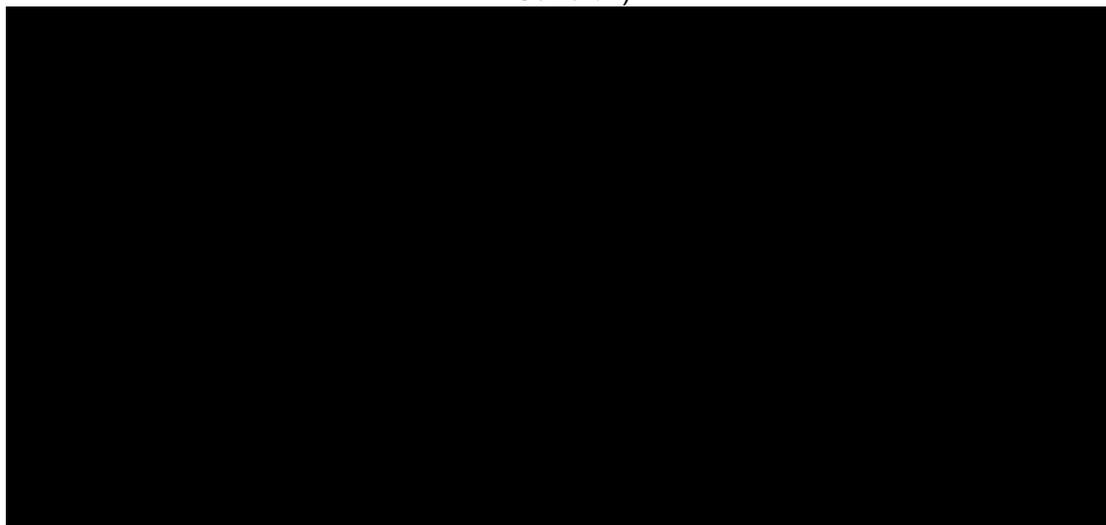
Mientras tanto los datos obtenidos en esta investigación desarrollada muestran comportamientos en los gráficos de manera descendente lo cual resulta de una capacidad antioxidante baja.

3.6. Cromatografía de gases/ Espectrometría de masas (GC-MS) del AEC

Los resultados del análisis de cromatografía de gases/espectroscopía (GC-MS) de masas para los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* y *Canelón* se resumen en la Tabla 3.5

El componente más abundante encontrado en los dos aceites extraídos de la corteza de la especie *Cinnamomum zeylanicum* y *Canelón* fue el Cinamaldehído (37.6 y 47.4%) respectivamente.

Tabla 3. 5 Compuestos mayoritarios presentes en el AEC (*Cinnamomum zeylanicum* y *Canelón*)



Wijesekera *et al.* (1974) reportaron para el aceite de corteza de la especie *Cinnamomum zeylanicum* un contenido del 74% del componente Cinamaldehído, presentándose un 26.6% de diferencia con respecto al obtenido por la muestra de AEC Canelón reportado en este trabajo.

Por otra parte, Jayaprakasha *et al.*, (2000) reportaron un contenido de 0.38 % del compuesto Cinamaldehído, para el aceite obtenido de las flores de la especie *Cinnamomum zeylanicum*, dato que se encuentra con un 47.02% por debajo de la muestra de AEC Canelón.

Las diferencias significativas en los resultados del contenido de Cinamaldehído reportados por Jayaprakasha *et al.*, (2000) y por Wijesekera *et al.*, (1974) se debe a dos puntos principales, el primer punto se atribuye el grado de sensibilidad analítica con el que se trabaje, Acevedo *et al.*, (2013) mencionan que siempre se podrá encontrar alguna diferencia entre dos partículas de un mismo AE, ya sea por el método de extracción, condiciones de almacenamiento, así como las condiciones geobotánicas y el segundo punto se debe a la parte de la planta de la cual se lleve a cabo la extracción del aceite esencial ya que los AEs que se extraen de la corteza, de las hojas y de la raíz tienen composiciones diferentes (Muthuswamy *et al.*, 2008).

3.7. Proceso de microencapsulación del AEC

La variable de respuesta a analizar del proceso de microencapsulación del AEC fue la eficiencia de la microencapsulación para lo cual como principal punto se requirió calcular el contenido total del AEC de cada una de las formulaciones de las microcápsulas de AEC.

3.7.1. Diseño experimental Box Behnken para el proceso de microencapsulación

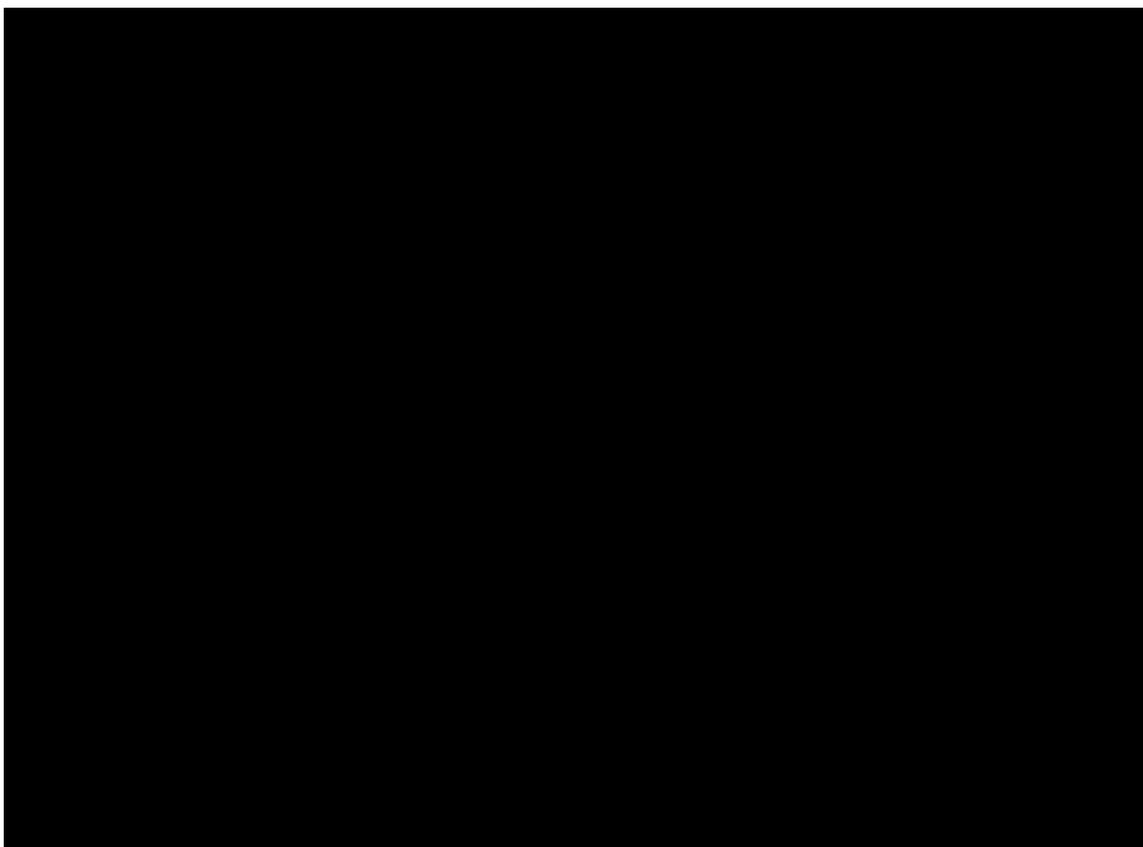
La metodología de superficies de respuesta permite evaluar los efectos de parámetros múltiples sobre las variables de respuesta en la optimización de diversos procesos (Rodríguez-Nogales *et al.* 2007). Con el propósito de mejorar las condiciones de microencapsulación de AEC, se adoptó un diseño Box Behnken.

El experimento 1 que corresponde a la microencapsulación de AEC utilizando una relación de AE de 10%, proporción de materiales encapsulantes 50:50 y

concentración de materiales encapsulantes de 10%, presentó la eficiencia de microencapsulación más alta 34.555% (Tabla 3.6).

En la Tabla 3.6 se muestran los resultados del análisis de varianza (ANOVA) efectuado para el estudio de la influencia de las variaciones en las distintas formulaciones de las emulsiones para las microcápsulas. Se analizan los resultados de la eficiencia de la microencapsulación. Donde A corresponde a los sólidos totales, B a la relación de AEC y C a la proporción de materiales encapsulantes.

Tabla 3. 6 Análisis de varianza de las distintas formulaciones de materiales de encapsulación



Mediante el análisis de varianza ($p < 0.05$), se observa que A y C influyen de manera positiva en la eficiencia de la microencapsulación del AEC, de igual forma que la interacción AB afecta positivamente el rendimiento de la microencapsulación. Esto demuestra que las condiciones de microencapsulación (temperatura de entrada,

caudal y velocidad del aire) controladas en el secador por aspersión no son los únicos factores que influyen sobre las eficiencias de la microencapsulación (Figuroa *et al.*, 2016) sino que también se ve afectada la eficiencia de microencapsulación por las concentraciones y propiedades de los materiales utilizados para la formulación de las emulsiones (Krishnan *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos se ajustaron a un modelo de regresión de segundo orden (Ec. 3.1), el cual genera mayor precisión en la búsqueda de las condiciones óptimas en la eficiencia de la microencapsulación del AEC, dicho polinomio presente una R^2 de 0.93, indicando un ajuste correcto de los datos.

$$R = 6.97623 - 6.59426A - 2.84896B - 5.23448C + 6.29582AB + 2.40020AC + 1.72500BC + 6.53242A^2 + 2.51552B^2 - 2.00050C^2 \quad (3.1)$$

Como se observa en la Figura 3.5 se muestra una trayectoria de ascenso pronunciado dirigido a la eficiencia de microencapsulación, de igual forma en el Grafico de contornos se denota a partir de la eficiencia 9.6 % a la eficiencia 27.35 % la dirección en ascenso en la superficie de respuesta. Las líneas de contorno de la superficie infieren que aún se está lejos de la región del óptimo pues no es apreciable ningún tipo de cambio de curvatura en la tendencia creciente que el comportamiento posee.

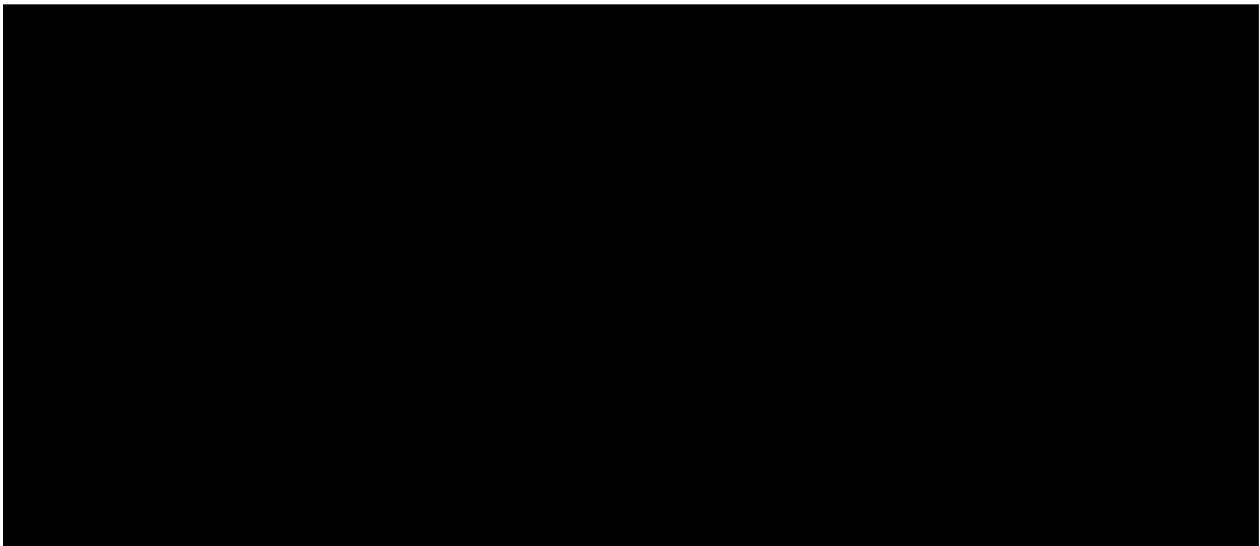


Figura 3. 5 a) Superficie de respuesta y b) contornos para la eficiencia de microencapsulación del AEC

3.8. Caracterización fisicoquímica de las microcápsulas de AEC

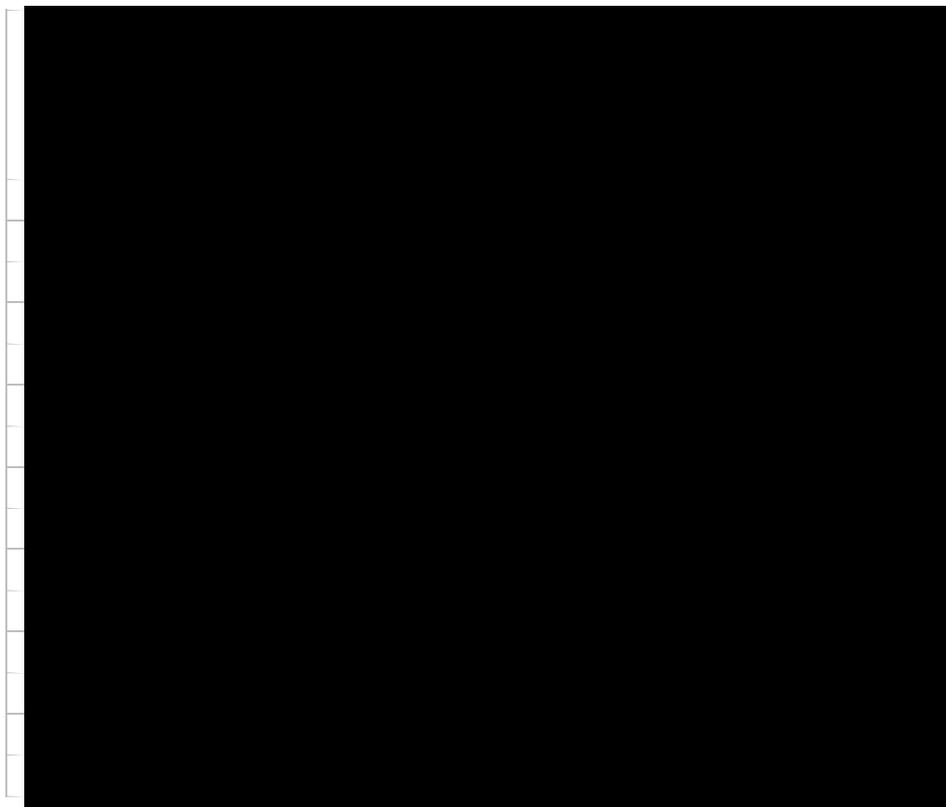
La caracterización fisicoquímica de las microcápsulas de AEC se realizó únicamente para la muestra obtenida del experimento 1, la cual registró una mayor eficiencia de microencapsulación.

3.8.1. Estabilidad de la emulsión

La composición de la emulsión afecta directamente al tamaño del glóbulo graso y por ende a la estabilidad de la emulsión (Cuaspud-Enríquez y Vera-Calle, 2015).

En la Tabla 3.7 se presentan los porcentajes obtenidos de separación para cada uno de los experimentos realizados, siendo el experimento 1 el que presenta menor porcentaje de separación, este resultado indica que la proporción de materiales encapsulantes (50:50 almidón/goma arábica) y 10% de AEC proporciona a la emulsión homogeneidad deseable, así como una buena estabilidad (Carneiro *et al.*, 2013).

Tabla 3. 7 Estabilidad de las emulsiones



Las variaciones en los porcentajes de separación de cada uno de los experimentos se deben a las proporciones utilizadas de goma arábica y almidón, así como las diferentes proporciones de AEC. Los resultados presentados en este trabajo son superiores a los reportados por (Carneiro *et al.*, 2013) quienes reportaron valores del 0% de separación de fases para la combinación de maltodextrina / goma arábica y un valor de 16.8 % para la combinación de maltodextrina / concentrado de proteína de suero de leche.

La emulsión con mayor porcentaje de separación fue la obtenida del experimento 7, debido a su composición, compuesta por una mayor proporción de almidón de maíz (75:25, almidón de maíz/goma arábica y 20% de AEC), así como contenido de agua destilada que se utilizó para elaborar la emulsión.

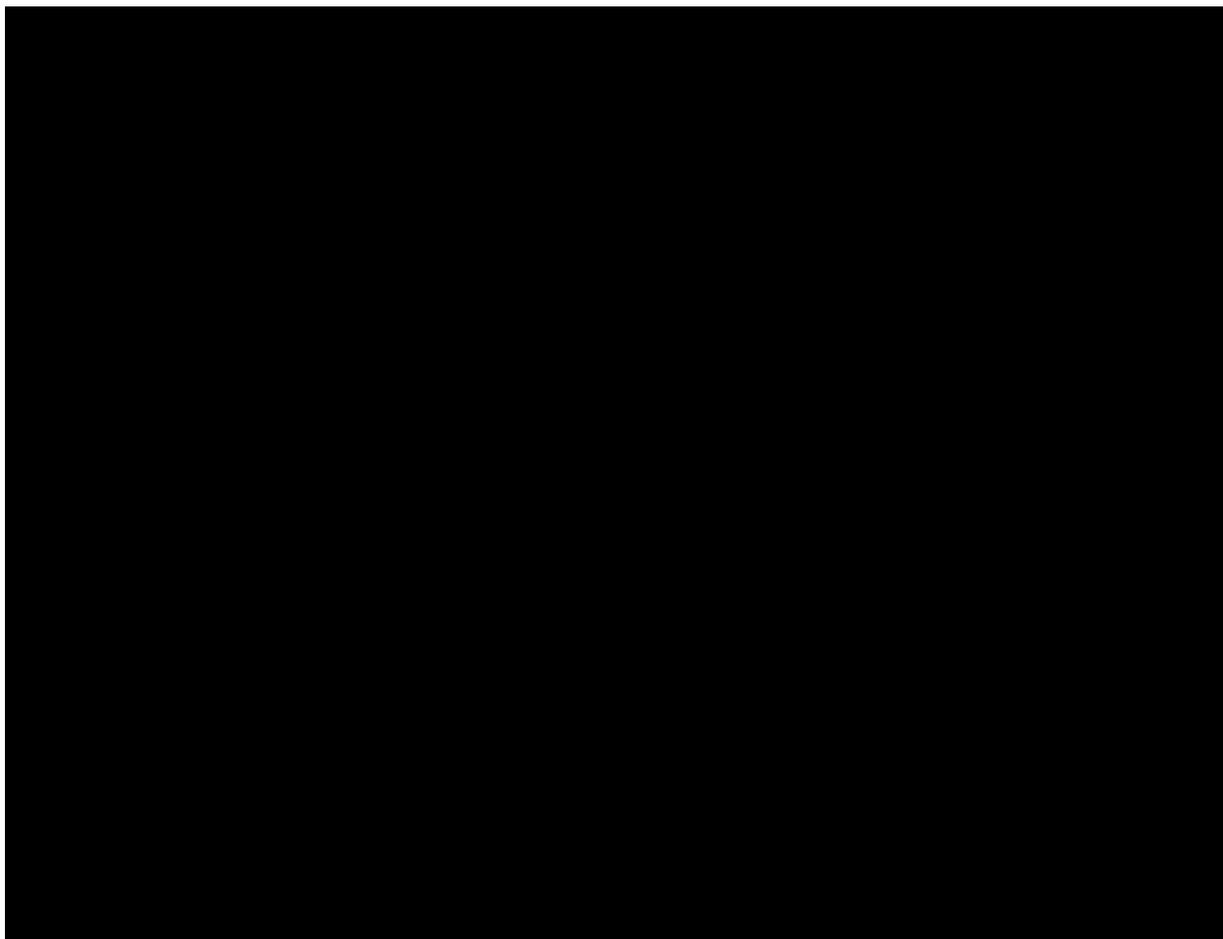
El uso de la goma arábica es de gran importancia en la formulación de las emulsiones, como se denota en los resultados expresados en la Tabla 3.7. Esto se debe a su composición química, su alto peso molecular y su estructura esférica ramificada, ya que tiende a formar una red densa que atrae a los glóbulos grasos, lo cual impide que exista una separación lipídica y permite la fácil difusión del aceite en el agua (Rodea-González *et al.*, 2012).

3.8.2. Rendimiento

Las emulsiones formadas por goma arábica y almidón de maíz, tuvieron una variación en cuanto al porcentaje de AEC incorporado a la mezcla, la concentración de materiales encapsulantes (almidón + goma arábica) y la relación de estos materiales.

En la Tabla 3.8 se presentan los porcentajes del rendimiento de la microencapsulación del AEC obtenidos para cada una de las formulaciones realizadas de acuerdo a la Tabla 2.3.

Tabla 3. 8 Rendimientos obtenidos de la microencapsulación del AEC con almidón de maíz y goma arábica



El experimento 7, es el que presenta el rendimiento más alto (57.5%) con unas condiciones de: 20 % de AEC, 10 % de materiales encapsulantes (goma arábica + almidón de maíz) con una relación de estos materiales de 75:25. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que los rendimientos más altos se obtuvieron a condiciones de concentraciones similares. Por otra parte, el rendimiento más bajo es aquel experimento con condiciones de concentraciones del 20% de AEC, 20 % de materiales encapsulantes, relación de materiales 75:25.

Se observa, de acuerdo a los resultados reportados que la disminución en cuanto a los rendimientos de la microencapsulación del AEC se debe al contenido utilizado de almidón de maíz, ya que las muestras que contenían mayor porcentaje de almidón de maíz presentaron una mayor viscosidad, que al momento de asperjar la

muestra se observaron hilos en la muestra líquida, ocasionando partículas de mayor tamaño y de esta manera habiendo pérdidas en el proceso de recolección de la microencapsulación.

Roccia *et al.* (2014), encontraron que existen varios factores que afectan al rendimiento del proceso de microencapsulación por secado por aspersión, entre ellos la capacidad de aspiración del ciclón, la velocidad de alimentación y la temperatura de secado. Ellos encontraron que una alta capacidad de aspiración permite una mejor velocidad de separación de las partículas y una mayor fuerza de arrastre lo que permite desprender mayor cantidad de partículas de la cámara de secado y mejorar el rendimiento.

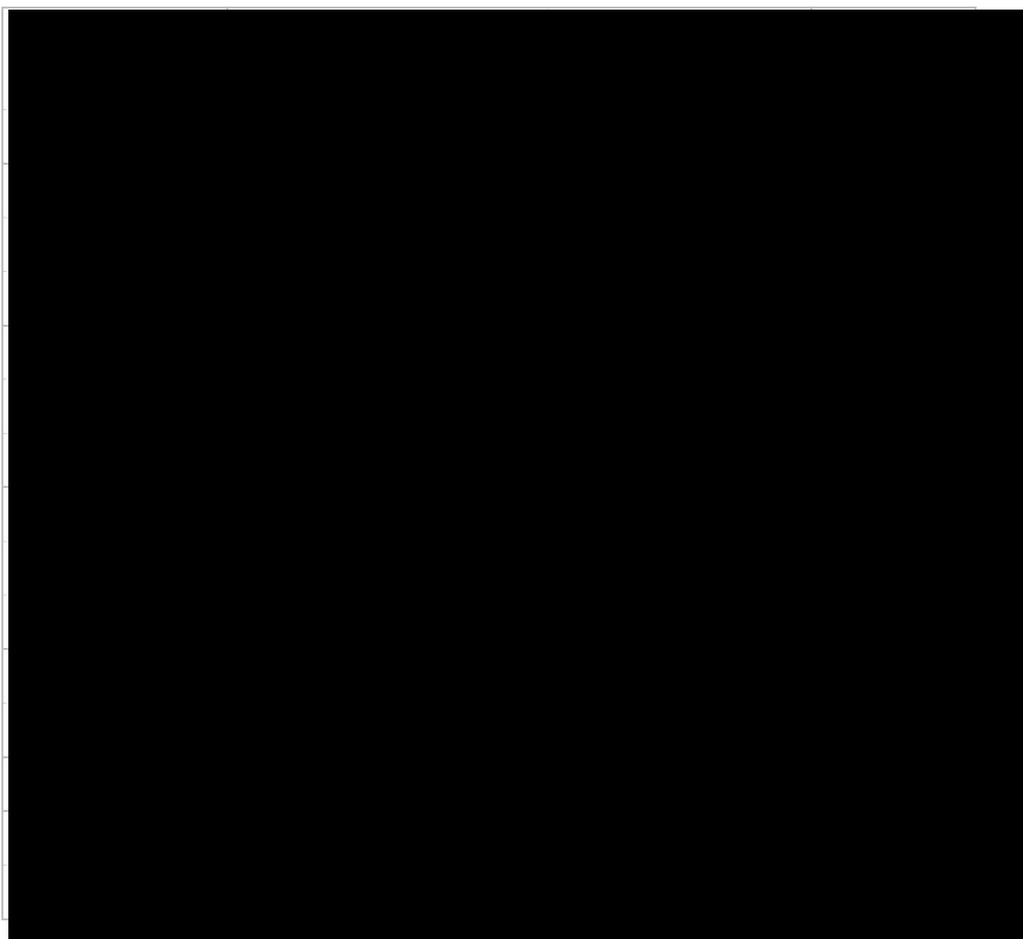
3.8.3. Eficiencia de la microencapsulación

En la Tabla 3.9 se presentan los datos de la eficiencia del proceso de microencapsulación de cada una de las formulaciones obtenidas de microcápsulas. Se obtuvieron eficiencias en el rango de 1.055 a 34.555 %. Siendo el experimento 1 el que presentó mayor eficiencia de microencapsulación.

Las diferencias en los valores de la eficiencia de encapsulación no sólo se deben a los parámetros del proceso de secado (Jafari *et al.*, 2008). De acuerdo a Barbosa-Cánovas *et al.* (2005), cuanto más estable sea la emulsión, mayor será la eficiencia de microencapsulación, es decir, menor será la cantidad de material no encapsulado sobre la superficie de partículas (Carneiro *et al.*, 2013).

Figuroa *et al.* (2016), reportaron porcentajes de eficiencia del 73.8 y 79.2% utilizando las condiciones de proceso de secado de temperatura de entrada (150 °C), flujo de alimentación (15 mL/min) y velocidad del aire (11 y 8 m/s) y como material encapsulante goma arábica. Por otra parte (Noria-Balderas y Pérez-Pérez, 2015) reportaron eficiencias en un rango de 12.60 a 20.42%, en donde utilizaron condiciones de temperatura de entrada (150°C), flujo de alimentación (10 mL/min).

Tabla 3. 9 Eficiencia de microencapsulación de las microcápsulas de AEC



Comparando estos datos con los obtenidos en este trabajo, el mayor porcentaje de eficiencia (experimento 1) sobrepasa lo reportado por Noria-Balderas y Pérez-Pérez (2015), pero sin embargo se encuentran por debajo de los reportado por Figueroa *et al.* (2016).

La diferencia que se observa en las eficiencias reportadas es porque se ve afectada por la temperatura de entrada, así como de la temperatura de salida manipuladas en el secador por aspersión (Figueroa *et al.*, 2016), de igual manera se ven afectadas por las propiedades de los materiales encapsulantes como lo son la capacidad de emulsificación y la retención de los compuestos volátiles (Krishnan *et al.*, 2005).

3.8.4. Humedad

La humedad de las microcápsulas de AEC se evaluó por triplicado, después del proceso de secado, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.10, registrándose un valor promedio de 7.24 % el cual se mantiene bajo el límite permisible (<10%) que se establece para productos en polvo (Tapia *et al.*, 2007). El contenido de humedad representa un factor importante para la conservación de productos secos, ya que, a menor contenido de humedad, mayor es el tiempo de vida útil de un producto (Huntington, 2004).

Tabla 3. 10 Humedad de las microcápsulas de AEC

3.8.5. Humectabilidad

En la Tabla 3.11 se muestran los resultados obtenidos de humectabilidad, el análisis se realizó por triplicado y el promedio que requieren las muestras de microcápsulas de AEC resulta en un lapso de tiempo de humectabilidad de 29.99 min.

Tabla 3. 11 Humectabilidad de las microcápsulas de AEC

Fernandes *et al.* (2013), en su estudio con diferentes materiales de pared (goma arábica, almidón modificado, maltodextrina e inulina), reportaron valores de humectabilidad que oscilaban entre 1.4 y 5.1 min.

Cuaspud-Enríquez y Vera-Calle (2015), presentaron tiempos de humectabilidad mayores a los 1,440 minutos en su trabajo de investigación para microcápsulas con aceite esencial de aguacate utilizando como material de pared goma arábica/maltodextrina. Obtuvieron mayores tiempos de humectabilidad ya que al tener los polvos de las microcápsulas mayor cantidad de aceite se dificulta la absorción de humedad.

Los resultados de humectabilidad reportados en este trabajo se encuentran por encima de los valores obtenidos por Fernandes *et al.* (2013), pero sin embargo son menores que los valores presentados por Cuaspud-Enríquez y Vera-Calle (2015), este valor de humectabilidad indica que los materiales encapsulantes elegidos le proporcionan a las microcápsulas una liberación controlada.

Las microcápsulas poseen una cierta capacidad de absorción de agua, que aumenta o disminuye de acuerdo a la cantidad de agua inicial que contienen una vez que son obtenidas en el proceso de secado por aspersión.

Los factores que determinan la capacidad de absorción son el flujo de aire, temperatura de entrada de aire y presión de inyección de la muestra. Así como también van a influir las características que poseen los materiales encapsulantes (Cuq *et al.*, 2011).

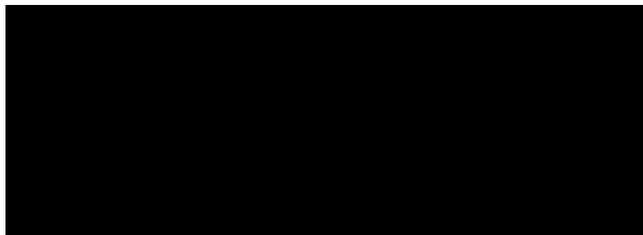
3.8.6. Densidad aparente y compacta

La densidad aparente de los alimentos es de gran importancia para conocer las propiedades de los materiales así, como las condiciones de almacenamiento, envasado y distribución (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2005).

En la Tabla 3.12 se muestran los resultados obtenidos para la densidad aparente de las microcápsulas de AEC teniendo un resultado final de 0.5507 g/mL y con un valor para densidad compacta de 0.5013 g/mL. De acuerdo a Huntington (2004) los

intervalos de densidad aparente tienden a estar entre 0.3-0.55 g/mL, rangos dentro de los cuales se encuentra lo reportado en este trabajo.

Tabla 3. 12 Densidad aparente de las microcápsulas de AEC



El resultado obtenido con respecto a la densidad aparente en este trabajo, es mayor a lo encontrado por (Carneiro *et al.*, 2013), quienes reportaron un valor de 0.40 g/mL para microcápsulas de aceite de linaza con materiales de pared maltodextrina/goma arábica.

Por otra parte, para la densidad compacta, Kim y Morr (1996), reportaron para la microencapsulación con material de pared de goma arábica un valor de 0.46 g/mL, valor que se encuentra por debajo de lo obtenido en este trabajo.

La ventaja de obtener polvos con mayor densidad es que pueden almacenarse en grandes cantidades en recipientes más pequeños (Carneiro *et al.*, 2013), ya que los productos con densidades bajas generan polvos difíciles de manejar debido a su capacidad de dispersarse en el aire (Díaz-Moreno y Rodríguez-González, 2016).

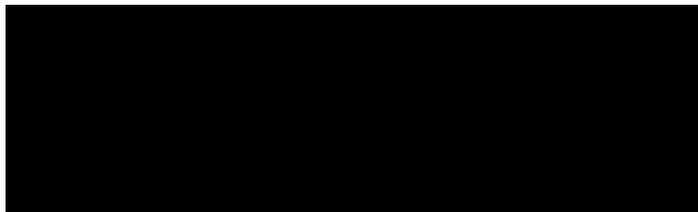
3.8.7. Actividad acuosa (a_w)

Un factor importante en la estabilidad de los productos microencapsulados es su valor de la actividad de agua, ya que este factor describe el grado “límite” del agua contenida en un alimento y es una medida de disponibilidad para actuar como disolvente y para participar en reacciones químicas o bioquímicas (Labuza, 1977).

En la Tabla 3.13 se muestran los resultados obtenidos para la actividad de agua de los polvos de las microcápsulas de AEC, teniendo como promedio de este análisis

un valor de 0.22, un valor que entra dentro del rango (0.2 a 0.3) de aceptabilidad para los polvos (Labuza, 1975).

Tabla 3. 13 Actividad de agua de las microcápsulas de AEC



Anker y Reineccius (1988) reportaron valores de a_w de 0 a 0.536 en microcápsulas de aceite esencial de naranja utilizando como material de pared goma arábica, observando como ventaja principal en estos valores una mayor durabilidad en cuanto a la vida de anaquel y que a valores mayores de a_w de 0.75 se presenta una disminución de la vida de anaquel del producto.

3.8.8. Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis térmico es una técnica de caracterización muy empleada en la ciencia de los materiales y permite estudiar las transformaciones de los materiales por efecto térmico. En las últimas décadas esta técnica analítica ha sido usada en el análisis de alimentos, en donde, las aplicaciones más típicas incluyen la determinación cuantitativa de componentes que se volatilizan a temperaturas características, como la humedad y ciertas moléculas de aromas. También se ha utilizado como un método idóneo para evaluar la estabilidad térmica de materiales alimentarios.

En la Figura 3.6 se muestran las curvas de DSC de los materiales encapsulantes: a) goma arábica y b) almidón de maíz antes del proceso de microencapsulación.

Por otra parte, en la Figura 3.7 se muestran las curvas de DSC de las microcápsulas con aceite esencial de canela: a) obtenidas del experimento 1 (mejor eficiencia de encapsulación) y b) experimento 11 (peor eficiencia de encapsulación) de la Tabla 2.2.

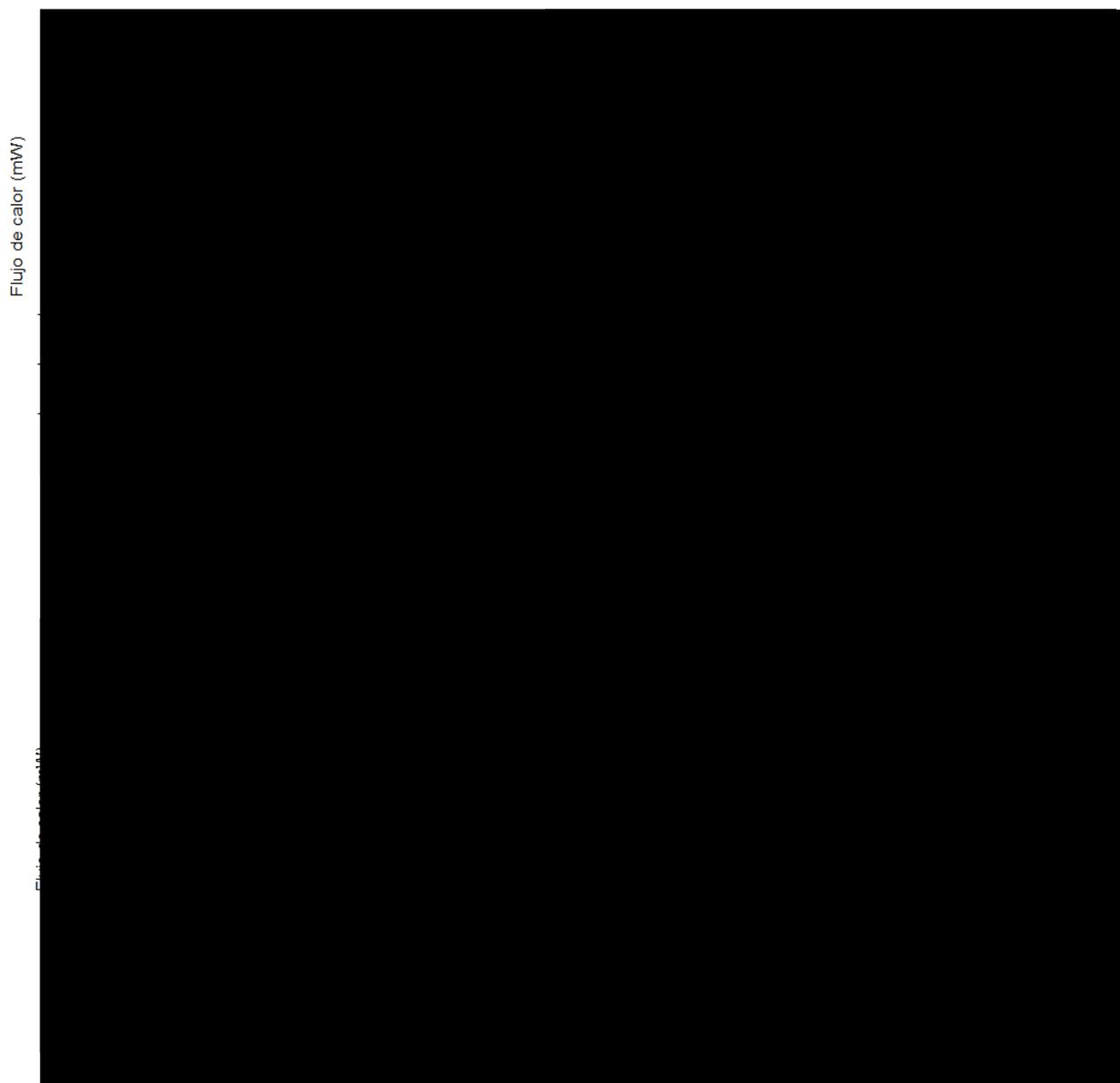


Figura 3. 7 Curvas de DSC de microencapsulados de AEC: a) experimento 1 y b) experimento 11

En las curvas de DSC de la Figura 3.6, que corresponden a los materiales de encapsulación: a) goma arábica y b) almidón de maíz, se denotan picos endotérmicos en el rango de temperatura de 40-170°C que corresponde al punto de fusión (García-Cárdenas *et al.*, 2015), este mismo pico se puede observar en el trabajo reportado por (Osorio *et al.*, 2010).

Las microcápsulas (Figura 3.7) mostraron termogramas similares, confirmando que no hay fenómeno térmico hasta los 25°C. En el rango de temperatura de 35-155°C, se observó un pico endotérmico, esto se puede explicar por la energía requerida para evaporar el agua interna en los polvos (Osorio *et al.*, 2010).

3.8.9. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se llevó a cabo un estudio por microscopia electrónica de barrido del experimento 1 (mejor eficiencia de encapsulación) teniendo como proporción de materiales encapsulantes almidón/goma arábica 50:50 (Figura 3.8) y del experimento 2 correspondiente al experimento número 11 (peor eficiencia de encapsulación) con proporción almidón/goma arábica 75:25 de la Tabla 2.2, con el propósito de observar y conocer la morfología de las microcápsulas obtenidas.

En las micrografías observadas en las Figuras 3.8 y 3.9 se pueden observar la diversidad de tamaños presentes en las partículas de aceite esencial microencapsulado. La variación en el tamaño es una característica típica de las partículas en el secado por aspersion (Carneiro *et al.*, 2013).

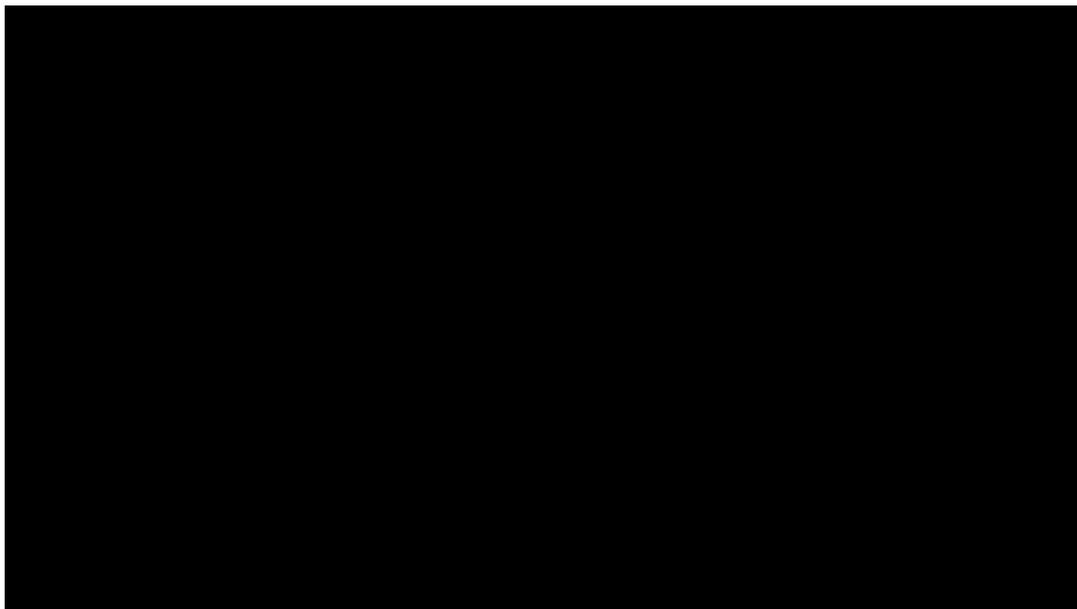


Figura 3. 8 Micrografías obtenidas por microscopia electronica de barrido (SEM), muestra 1 (experimento 1)

En cuanto al aspecto de las microcápsulas, en la SEM de la Figura 3.8 se observan concavidades, así como también algunas formas irregulares. Figueroa *et al.* (2016) presentan características estructurales similares a las presentadas en este trabajo de igual manera utilizando como material de pared a la goma arábica.

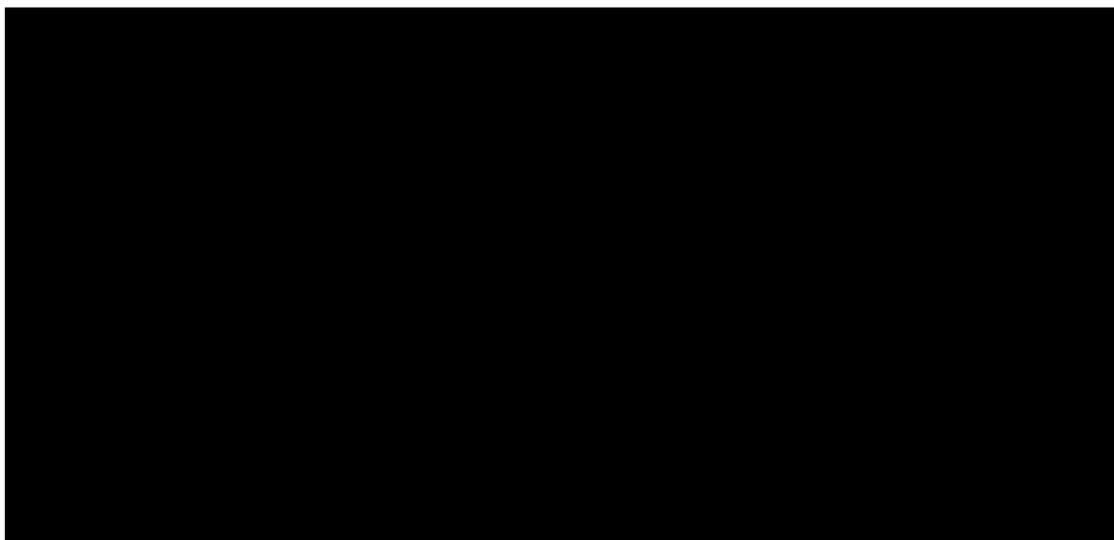


Figura 3. 9 Micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), muestra 2 (experimento 11)

Por otra parte, en la Figura 3.9 con respecto a la proporción de materiales 75:25, lo cual en su mayoría corresponde al almidón de maíz se observa una aglomeración así como también apelmazamiento de las partículas, esto puede deberse a que el almidón de maíz es un material de alta humectabilidad y por lo tanto la temperatura no eliminó por completo el agua contenida en la emulsión, en estas microcápsulas no se observan agrietamientos, pero se notan en las superficies abolladuras en cada una de las partículas esto se puede deber a la rápida contracción de las gotas líquidas durante el proceso de secado por aspersion (Rosenberg y Young, 1993).

Palma *et al.* (2013), muestran micrografías en donde las microcápsulas de ácido ascórbico usando como material de pared almidón modificado de maíz presentan comportamientos similares a los de aglomeración entre cada una de las partículas, en cuanto a la estructura estas de igual manera tiene abolladuras.

3.8.10. Actividad antimicrobiana

En la Tabla 3.10 se muestran las imágenes de los cultivos realizados para las muestras con AEC para la especie *Canelón*, donde se estudió el comportamiento de la bacteria *Scherichia coli* frente a distintas concentraciones del AEC (1 y 100 %) observando los comportamientos de acuerdo al tiempo (12, 16, 20 y 24 h).

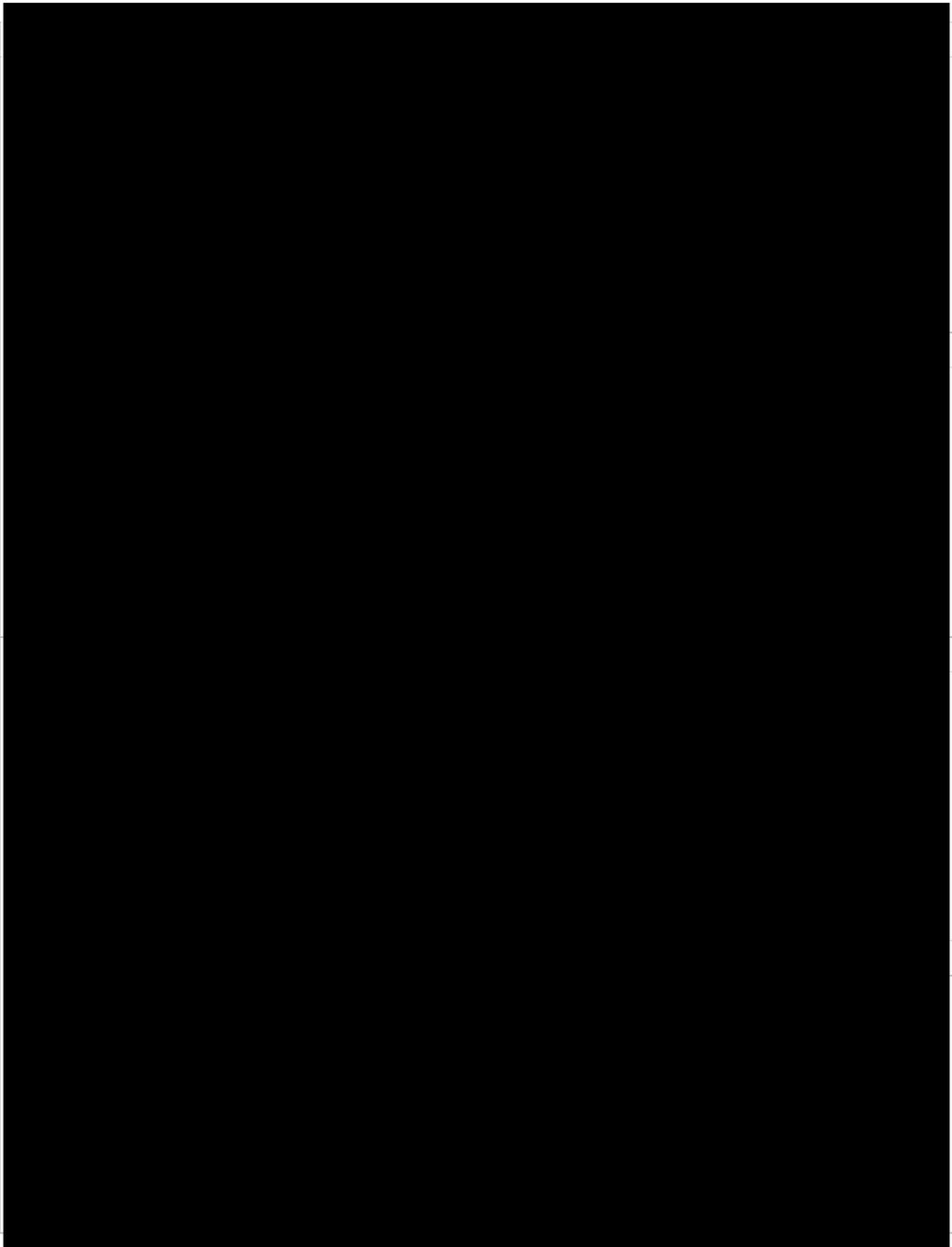


Figura 3. 10 Actividad antimicrobiana del AEC especie "*Canelón*" contra *E. coli*, a) 1% y b) 100% concentración de AEC

Por otra parte, en la Figura 3.11 se muestran los resultados para la misma especie de AEC, pero contra la bacteria *Salmonella*.

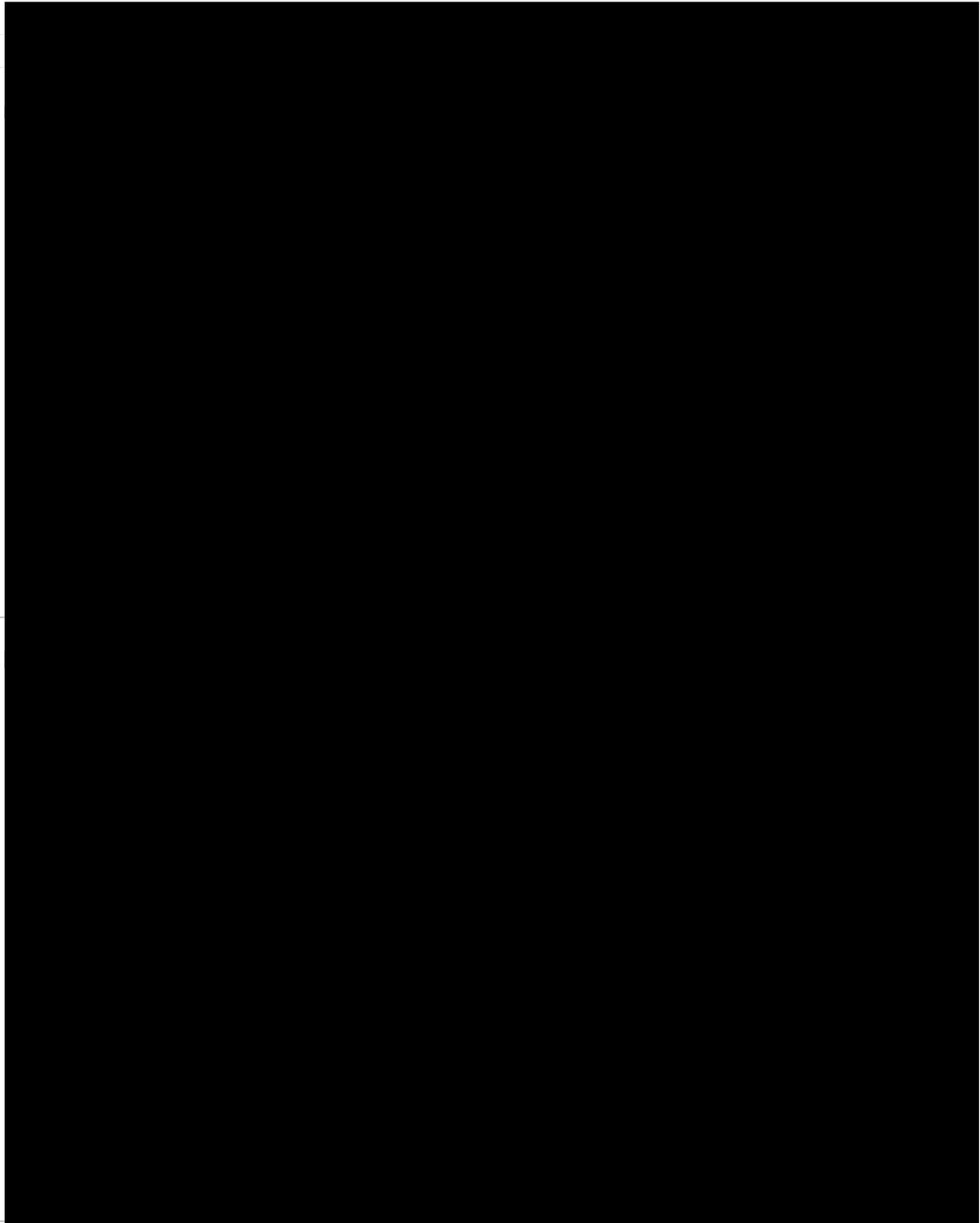


Figura 3. 11 Actividad antimicrobiana del AEC especie “Canelón” contra *Salmonella*, a) 1% y b) 100% concentración de AEC

En la Figura 3.12 se presentan los resultados para el AEC de la especie *Canelón* frente a la bacteria *Staphylococcus*.



Figura 3. 12 Actividad antimicrobiana del AEC especie “*Canelón*” contra *Staphylococcus*, a) 1% y b) 100% concentración del AEC

En la Figura 3.13 se muestran las imágenes de los cultivos realizados para las muestras con AEC en este caso para la especie *Cinnamomum zeylanicum*, donde se estudió el comportamiento de la bacteria *Scherichia coli* frente a distintas concentraciones del AEC (1 y 100 %) observando los comportamientos de acuerdo al tiempo (12, 16, 20 y 24 h).

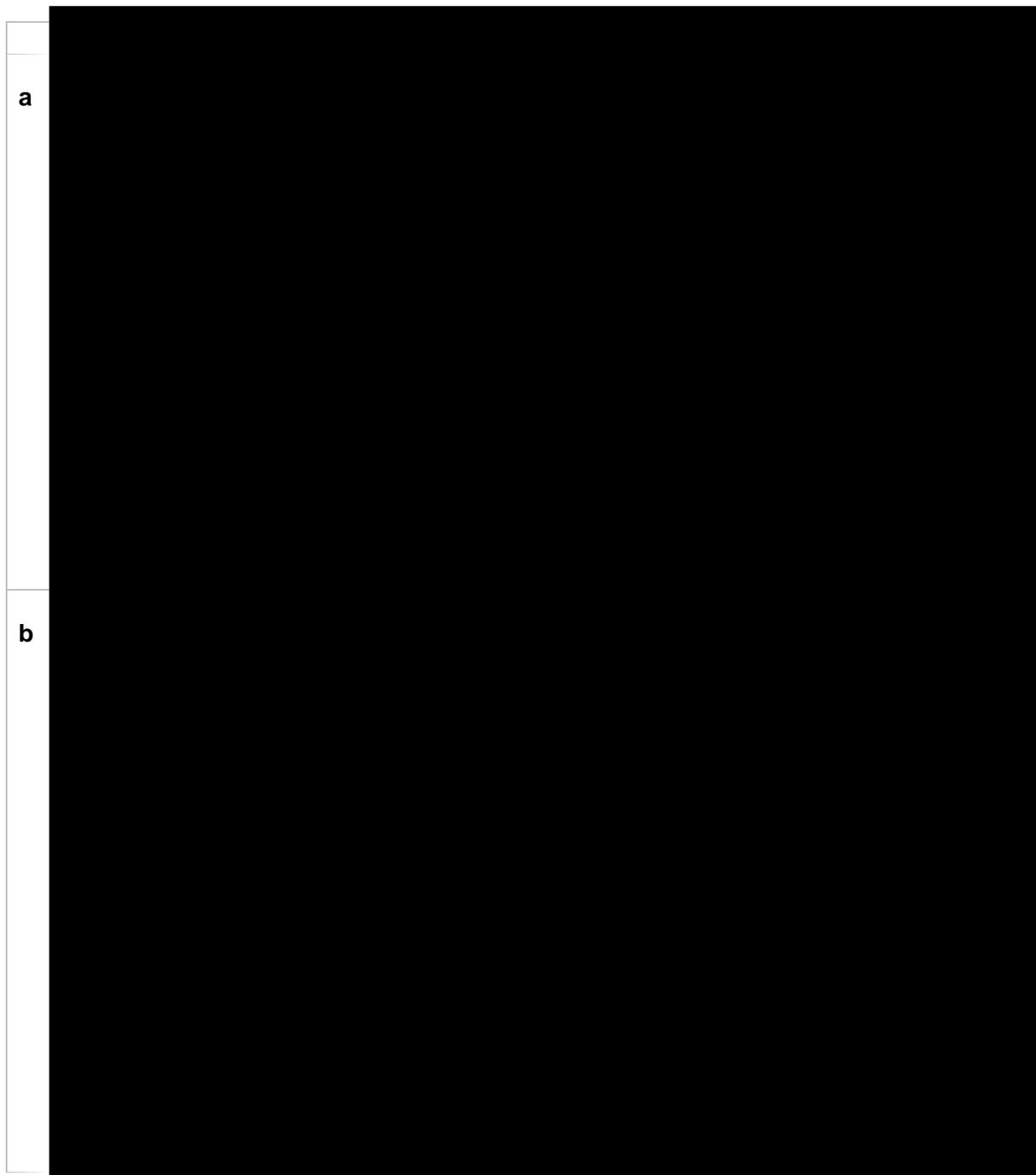


Figura 3. 13 Actividad antimicrobiana del AEC especie "*Cinnamomum zeylanicum*" contra *E. coli*, a) 1% y b) 100% concentración de AEC

Por otra parte, en la Figura 3.14 se muestran los resultados para la misma especie de AEC, pero contra la bacteria *Salmonella*.



Figura 3. 14 Actividad antimicrobiana del AEC especie "*Cinnamomum zeylanicum*" contra *Salmonella*, a) 1% y b) 100% concentración de AEC

En la Figura 3.15 se presentan los resultados para el AEC de la especie *Cinnamomum zeylanicum* frente a la bacteria *Staphylococcus*.



Figura 3.15. Resultados de AEC de "Cinnamomum zeylanicum" contra *Staphylococcus*, a) 1% y b) 100 % concentración de AEC

En el Anexo A se describe la evolución con las diferentes concentraciones de AEC 20,40,60,80%, observándose los crecimientos de bacterias a los 12, 16, 20 y 24 h para el aceite de canela tipo “Canelón” y “*Cinnamomum zeylanicum*”.

A partir de la concentración de 60 % de AEC (Ver Anexo A), se observó actividad antibacteriana por parte de los dos tipos de muestras de AEC de las dos especies: *Cinnamomum zeylanicum* y Canelón para las cepas bacterianas gram positivas (*E. coli* y *Salmonella*), ya que no se presentaron crecimientos de colonias bacterianas.

Por otra parte, para la cepa bacteriana gram negativa (*Staphylococcus*) no hubo inhibición a partir de las 16 h del AEC en su crecimiento, en ninguna de las concentraciones del AEC para las dos especies: *Cinnamomum zeylanicum* y Canelón.

Se confirmó este comportamiento al observar los crecimientos de las cepas bacterianas en las placas de Agar Mueller-Hinton.

Estos resultados se compararon con los reportados por Martínez *et al.* (2003), donde demuestran que a concentraciones menores de AE (1%) no existe actividad antibacteriana contra las cepas bacterianas.

Actividad antimicrobiana de las microcápsulas de AEC

Para determinar la actividad antimicrobiana de los microencapsulados de AEC de la especie Canelón se realizó la técnica de difusión en disco, para los microencapsulados obtenidos del experimento 1 (mejor eficiencia de encapsulación) y los obtenidos del experimento 11 (peor eficiencia de encapsulación) de la Tabla 2.2. Los resultados obtenidos se presentan en las Figuras 3.16 - 321.

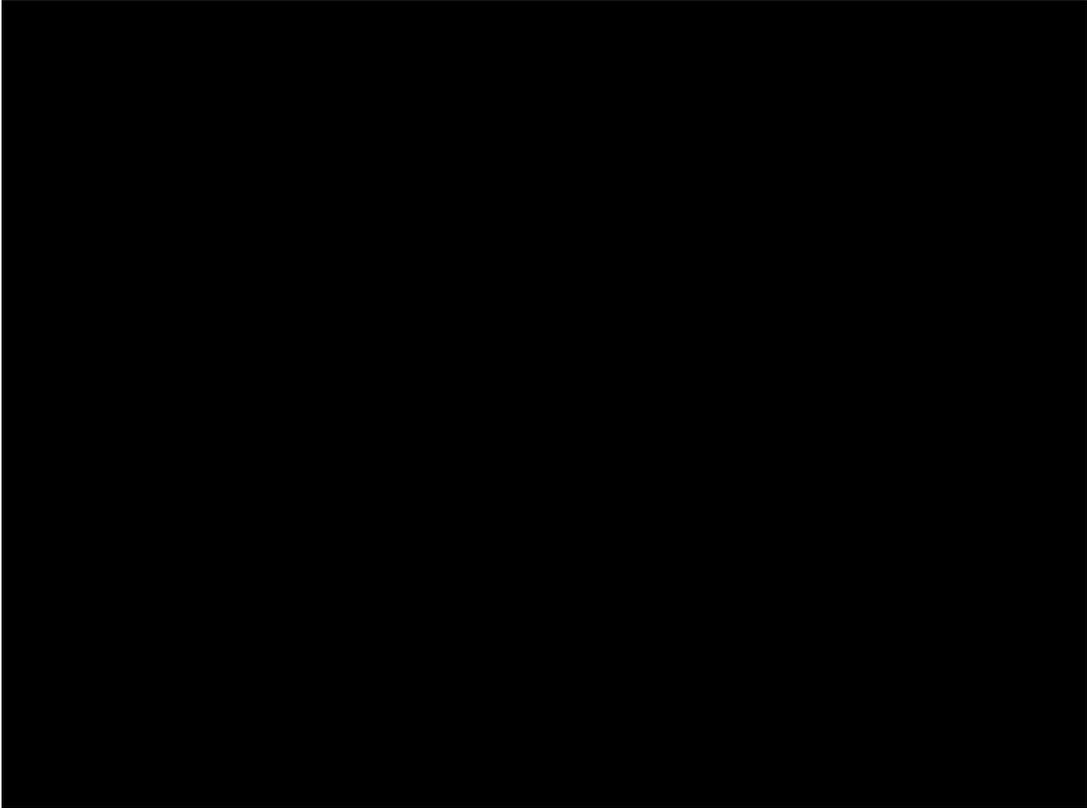


Figura 3. 16 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *E. coli*

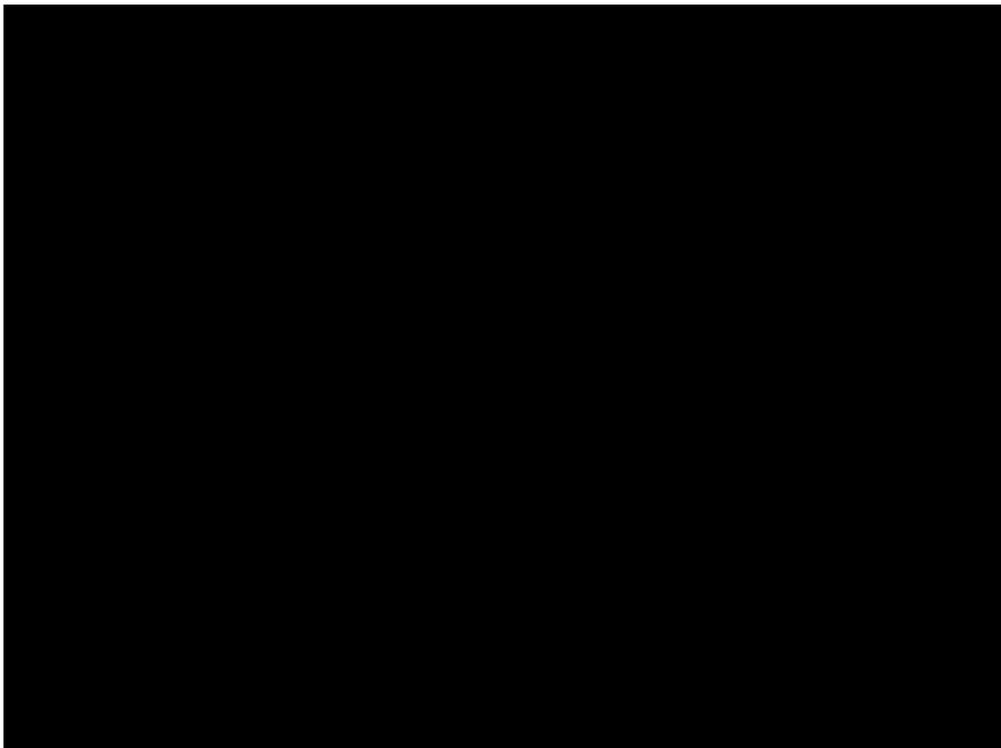


Figura 3. 17 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *Salmonella*

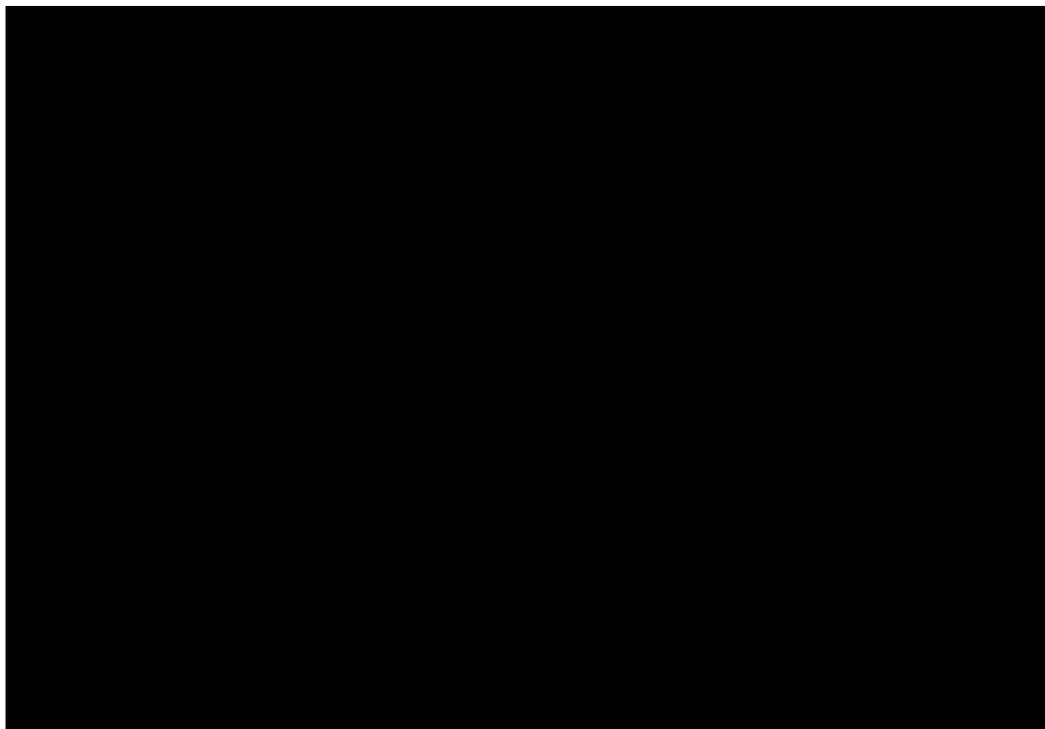


Figura 3. 18 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *Staphylococcus*

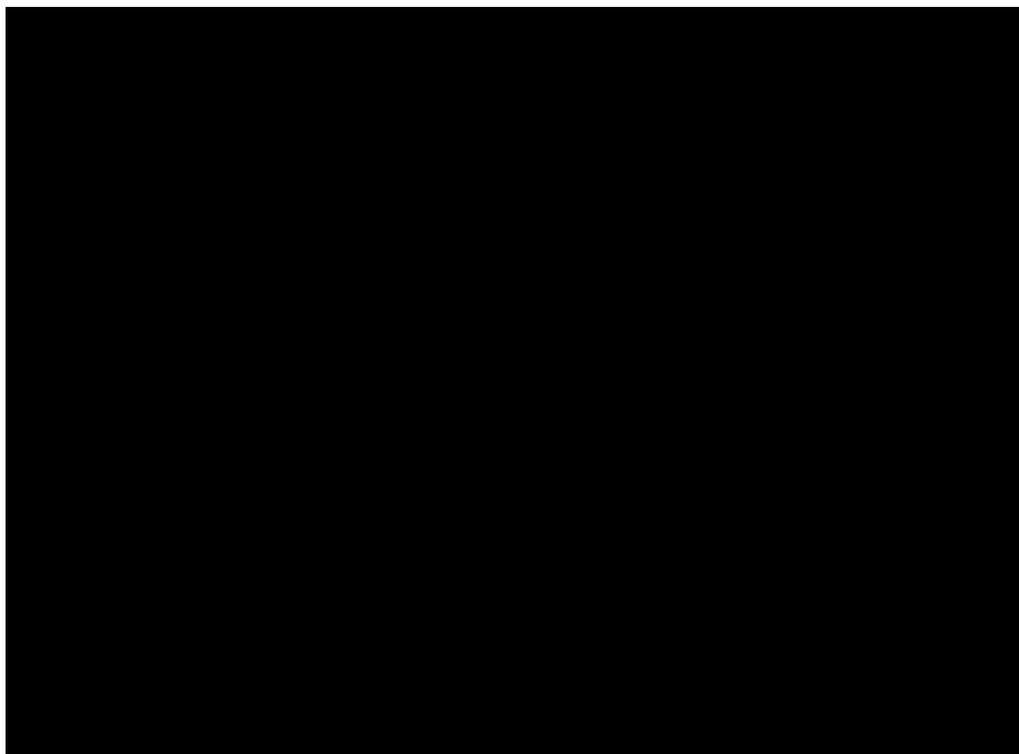


Figura 3. 19 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *E. coli*

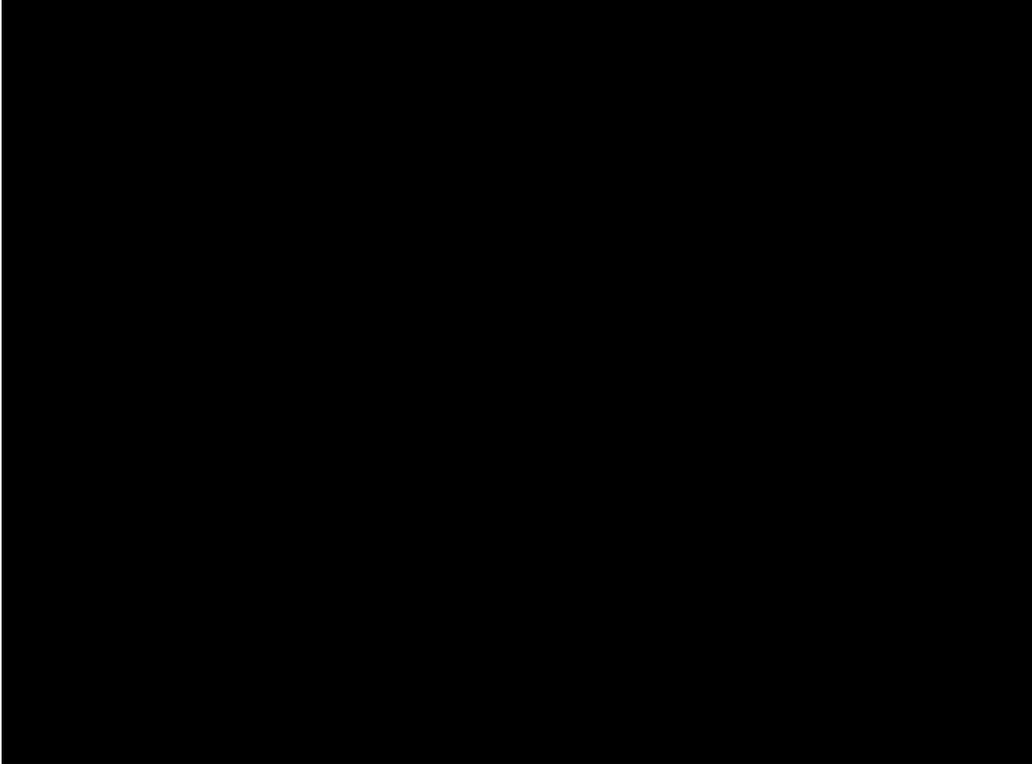


Figura 3. 20 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *Salmonella*

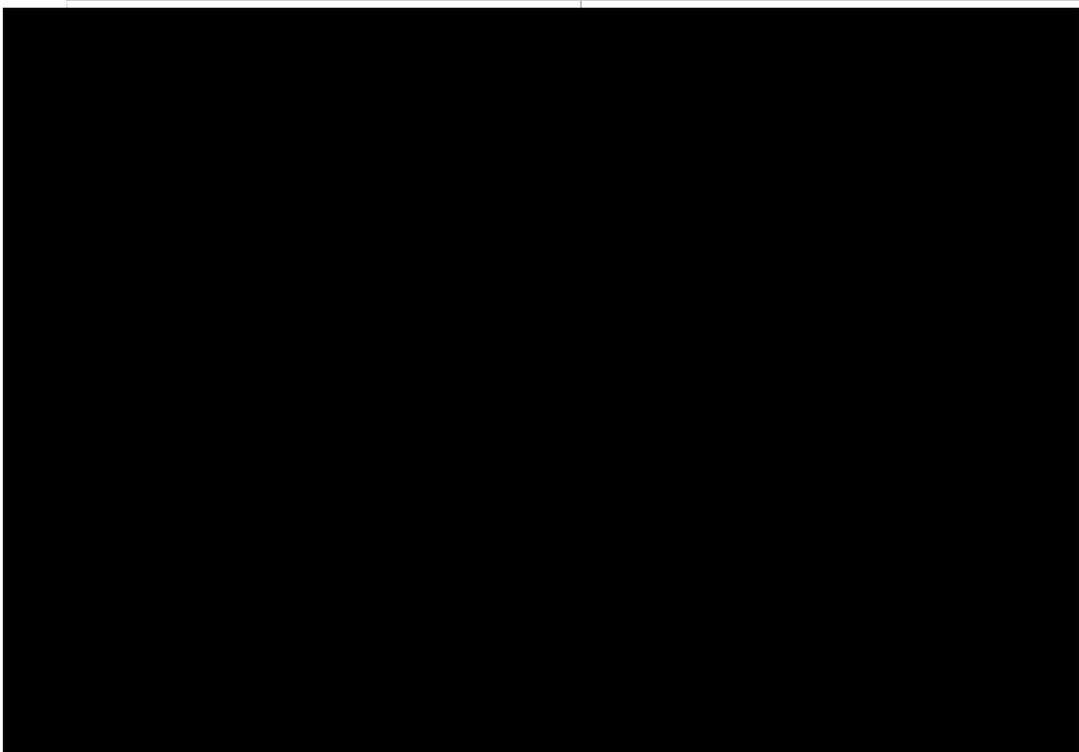


Figura 3. 21 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *Staphylococcus*

En las Figuras 3.16 - 3.21 se observó actividad antimicrobiana en las placas para microcápsulas del experimento 1 y 11, el cual se evidencio mediante la inhibición de las bacterias *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus*.

Se pudo observar que en la tabla 3.21 correspondiente a las microcápsulas del experimento 11 (peor eficiencia de encapsulación), se presentó crecimiento microbiano de la bacteria *Staphylococcus*, y solo se observó un halo de inhibición con un tamaño de 3 cm, esto se debe a la rápida ganancia de humedad del almidón de maíz, lo que impide la liberación del aceite esencial (Palma *et al.*, 2013).

**CONCLUSIONES
Y
RECOMENDACIONES**

CONCLUSIONES

El uso del pretratamiento por ultrasonido en la extracción de aceites esenciales a partir de dos tipos de canela (*Cinnamomum zeylanicum* y *Canelón*), permitió determinar que la mayor eficiencia obtenida fue del 6.64% con la especie *Canelón*. Estableciendo que las mejores condiciones de extracción son: temperatura de 30°C, tiempo de 60 min y 110 W de potencia.

El pretratamiento por ultrasonido no influyó en la composición química de los aceites esenciales, mismos que tienden a oxidarse con facilidad lo cual fue corroborado por el método de DPPH.

Los aceites extraídos de la corteza de canela presentan una característica antimicrobiana, determinándose la presencia del *Cinamaldehído*, validando su presencia mediante cromatografía de gases/ espectrometría de masas y por FT-IR. El AEC para la especie *Canelón* procedente de la región de Veracruz, México presentó un 47.4% de *Cinamaldehído* superior al obtenido para la especie *Cinnamomum zeylanicum* de Sri Lanka.

Los microencapsulados de aceite esencial de canela obtenidos mediante el secado por aspersión, presentaron características de sabor y olor propios de la canela.

El diseño de experimentos Box-Behnken planteado, permitió determinar que las mejores condiciones para la microencapsulación: concentración de materiales de encapsulación goma arábica/ almidón de maíz (10%), concentración de aceite esencial de canela (10%) y proporción de materiales encapsulantes (50:50), obteniéndose una eficiencia de microencapsulación del 34.55%. El análisis de varianza demostró que las variables que afectan directamente a la eficiencia de la microencapsulación es la concentración de materiales de encapsulación y la relación de aceite esencial de canela.

A partir del análisis de los resultados de rendimiento de la microencapsulación se determinó que aquellas formulaciones que tenían mayor concentración de almidón de maíz tenían rendimientos muy bajos (4.88%), afectando también la morfología de las microcápsulas de aceite esencial de canela observando apelmazamientos en las muestras.

Durante la evaluación de la actividad microbiana, se observó que para el AEC a concentraciones mínimas del 1% no se presenta capacidad antimicrobiana ya que se encontraron crecimientos de las bacterias (*E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*). Se determinó una capacidad antimicrobiana del AEC solo para las bacterias gram positivas (*E. coli*, *salmonella*) a partir de la concentración del 60% donde no se presentó actividad microbiana. La bacteria gram negativa (*Staphylococcus*), no presentó actividad antimicrobiana, observándose crecimiento de colonias de esta bacteria en todas las concentraciones de AEC estudiadas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda para la extracción del aceite esencial de canela, adecuar el equipo de vidrio para la hidrodestilación, con la finalidad de evitar fugas en el proceso y de esta manera tener un mayor rendimiento y menor tiempo de extracción.

En el proceso de secado por aspersion considerara la influencia de las propiedades de los materiales encapsulantes, a fin maximizar la eficiencia de la microencapsulación.

Sustituir el almidón de maíz en la microencapsulación, por un material que de igual manera sea compatible con la goma arábica pero que no presente alta humectabilidad.

Mejorar la eficiencia de microencapsulación explorando el área de investigación que se obtuvo en este trabajo por medio del análisis de superficie de respuesta Box-Behnken.

Llevar a cabo pruebas de almacenamiento, para determinar el tiempo de vida de anaquel de las microcápsulas de aceite esencial de canela.

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahi, M., Rezaei, M., y Farzi, G. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, **47**(4):847-853.
- Acevedo, D., Navarro, M., y Montero, P. 2013. Composición química del aceite esencial de las hojas de Toronjil (*Melissa officinalis* L). *Información Tecnológica*, **24**(4): 49-54.
- Adler, C. R., y Marshall, W. R. 1951. Performance of spinning disk atomizers. *Chemical Engineering Progress*, **47**(10):515-519.
- Aghbashio, M. H., Madadlou, A. y Rafiee, S. 2013. Fish oil microencapsulation as influenced by spray dryer operational variables. *International Journal of Food Science and Technology*, **48**(8):1707-1713.
- Ahmed, M., Akter, M., Lee, J.-C., y Eun, J. 2010. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *Food Science and Technology*, **43**(9):1307-1312.
- Al-Muhtaseb, A. H., McMINN, W. A. M. y Magee, T. R. A. 2002. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. *Foods and bioproducts processing*, **80**(2):118-128.
- Ali, H. S., Kamal, M., y Mohamed, S. B. 2009. In vitro clove oil activity against periodontopathic bacteria. *Journal of Science and Technology*, **10**(1):1-7.
- Almeida, A., Rodriguez-Rojo, S., Serra, A. T., Vila, R. H., Simplicio, A. L., Delgadillo, I., y Duarte, C. M. 2013. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. *Innovate Food and Emerging Technologies*, **20**(1):140-145.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., y Cabras, P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J. Agric Food Chem.*, **54**(12):4364-4370.

- Anker, M. H. y Reineccius, G. A. 1988. Encapsulated orange oil, influence of spray dryer air temperature on retention and shelf life. Flavor encapsulation, American Chemical Society Washington, DC.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC/Publications/Official_Methods_of_Analysis/AOAC_Member/Pubs/OMA/AOAC_Official_Methods_of_Analysis.aspx?hkey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48 (Consultada Marzo, 2017).
- Asbahani, A., Miladic, W., Badric, M., Ait Addib, H., y Casabiancad, A. 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal Of Pharmaceutics*, **483**(1):220-243.
- Baldwin, E. A., Nisperos, M. O., Hagenmaier, R. D. y Baker, R. E. 1997. Use of lipids in edible coatings for food products. *Food Technology*, 51(6):56-64.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Fernández-Molina, J. J., Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A., y Welti, J. c. 2003. Manual Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas. FAO Agricultural Services Bulletin.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P. y Yan, Hong. 2005. Food Powders: Physical Properties, Processing and Functionality. Klumer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45**(4):493-496.
- Bayramoglu, B., Shanin, S., y Sumnu, G. 2008. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal of Food Engineering*, **88**(2008):535-540.
- Bemiller, J. N., y Whistler, R. L. 1996. Carbohydrates, Fenemma's, Food Chemistry. New York: Marcel Dekker
- Bhuyan, M. 2007. Measurement and control in food processing. CRC Press. Boca Raton.

- Biliaderis, C. G., Maurice, T. J., y Vose, J. R. 1980. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Food Science*, **45**(6):1669-1680.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., y Chemat, F. 2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hidrodifusion and gravity. *Food Chemistry*, **114**(1):355-362.
- Brennan, J. G., Butters, J. R., Cowell, N. D., y E., V. L. 1980. Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. Zaragoza, España: Acribia.
- Buléon, A., Colonna, P., y Leloup, V. 1990. Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Ind. Aliments Agric*, **107**(6):515-531.
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potencial applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**(3):223-253.
- Cabello, C. M., Bair, W. B., Lamore, S. D., Ley, S., Bausse, A. S., Azimian, S., y Wondrak, G. T. 2009. The cinnamon-derived Michael acceptor cinnamic aldehyde impairs melanoma cell proliferation, invasiveness, and tumor growth. *Free Radical Biology and Medicine*, **46**(2):220-231.
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., y Flores, S. K. 2011. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technol*, **4**(6):849-875.
- Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R., y Hubinger, M. D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Food Engineering*, **115**(1):443-451.
- Chambi, H., y Grosso, C. 2011. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-polysaccharide-based films. *European Food Research and Technology*, **232**(1): 63-39.
- Cheng-Hong, Y., Rong-Xian, L., Li-Yeh, C. 2012. Antioxidant activity of various parts of cinnamomun cassia extracted with different extraction methods. *Molecules*, **17**(6):7294-7304.

- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. American Society for microbiology. **12**(4):564-582.
- Cuaspuud-Enríquez, M. A. y Vera-Calle, E. 2015. Obtención de aceite de aguacate microencapsulado mediante secado por atomización. Tesis de licenciatura. Facultad de ingeniería química y agroindustria.
- Cuellar, F. A., Ariza, E., Anzola, C., Restrepo, P. 2013. Capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) during the ripening. Rev. Colombiana química, **42**(2):21-28.
- Cuq, B., Rondet, E., y Abecassis, J. 2011. Food powders engineering, knowhow and science: Constraints, stakes and opportunities. Powder Technology, **208**(2):244-251.
- Damjanovic, B., Lepojevic, Z., Zivkovic, V., y Tolic, A. 2005. Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation. Food Chemistry, **92**(1):143-149.
- Del Valle, J. M., y Aguilera, J. M. 1999. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. Food Science and Technology, **5**(1): 1-24.
- Desai, K. G., y Park, H. J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technology, **23**(7):1361-1394.
- Díaz-Moreno, A. C. y Rodríguez-González I. 2016. Evaluación de las condiciones de microencapsulación mediante secado por aspersion de antioxidantes de polen apícola. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia.
- Djioua, T., Charles, F., Freire, M., Filgueiras, H., Ducamp-Collin, M., y Sallanon, H. 2010. Combined effects of postharvest heat treatment and chitosan coating on quality of fresh cut mangoes (*Mangifera indica* L.). International Journal of Food Science and Technology, **45**(4): 849-855.
- Dombrowski, N., y Munday, G. 1968. Biochemical and biological Engineering Science. Academic Press. Nueva York.
- Dziezak, J. 1988. Microencapsulation and encapsulation ingredients. Food Technol., **42**(4):136-151.

- Esquivel, G. B., Ochoa, M. L., y Rutiaga, Q. O. 2015. Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Iber. Tecnología Postcosecha*, **16**(2):180-192.
- Eum, H., Hwang, D., Linke, M., Lee, S., y Zude, M. 2009. Influence of edible coating on quality of plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. "Sapphire"). *European Food Research and Technology*, **229**(3):427-434.
- Fama, L., Flores, S. K., Gerschenson, L., y Goyanes, S. 2006. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. *Carbohydrate Polymers*, **66**(1):8-15.
- Fang, Z., y Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols. *Trends in food Science y Technology*, **21**(10):510-523.
- Fernandes, R. V., Borges, S. V., y Botrel, D. A. 2013. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers* , **101**:524-532.
- Ferrari, C., Marconi, S., y Aguirre, J. 2012. Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. *Drying technology*, **30**(2):154-163.
- Figueroa P. M., Ceballos M. A. y Hurtado A. M. 2016. Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus Glaucus*) extraído con CO₂ supercrítico. *Rev. Colomb. Quim.* **45**(2):39-47.
- Filgueras, A., Capelo, J., Lavilla, I., y Bendicho, C. 2000. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, **53**(2):433-441.
- Flores, S. K., Costa, D., Yamashita, F., Gerschenson, L. N., y Grossmann, M. V. 2010. Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusión. *Materials Science and Engineering* , **30**(1):196-202.
- Fonnegra, G. R., y Jiménez, R. S. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquía.

- French, D. 1984. Organization of starch granules, Starch: chemistry and technology. New York, USA: Academic Press Inc
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., y Dumoulin, E. 2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, **75**(1):27-35.
- García-Cárdenas, J. A., Ciro-Velásquez, H. J. y Largo-Ávila, E. 2015. Encapsulation of mandarin citrus flavor using spray drying technology and different wall materials. *Rev. U.D.C.A.*, 18(1):251-260.
- Gende, B. L., Floris, I., Fritz, R., Eguaras, M. J. 2008. Antimicrobial activity of cinnamon (*cinnamomun zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from Argentine. *Bulletin of Insectology*, **61**(1):1-4.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., y Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, **40**(9):1107-1121.
- Gibbs, B., Kermasha, S., Alli, I., y Mulligan, C. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food, Sciences and Nutrition*, **50**(3):213-224.
- Golmakani, M. T., y Rezaei, K. 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oil from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, **109**(4):925-930.
- Gómez Sánchez, A. I., y López Malo, A. 2009. Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomom zeylanicum*). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. San Andrés Cholula, Puebla: Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas Puebla, **3**(1):33-45.
- González-Aguilar, G., Gardea, A., y Cuamea-Navarro, F. 2005. Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. Hermosillo, México: CIAD, A.C.
- Gracia, O. 2014. La goma arábica: una maravilla que nos beneficia a todos. *Industria Alimentaria*. México, D.F.

- Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S., y Quan, C. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, **101**(4):1558-1564.
- Gupta, G., Garg, A. P., Uniyal, R. C., y Kumari, A. 2008. Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *African Journal of Microbiology Research*, **2**(9):247-251.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. 2000. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford.
- He, Y., Fu, P., Shen, X., y Gao, H., 2008. Cyclodextrin based aggregates and characterization by microscopy. *Micron*, **39**(5):495-516.
- Hirasa, K., y Takemasa, M. 2002. Ciencia y Tecnología de las Especies. Zaragoza, España: Acribia, S. A.
- Huntington, D. 2004. The influence of the Spray Drying Process on Product Properties. *Drying Technology*, **22**(6):1261-1287.
- Ibarz, A. y Barbosa-Canovas, G. V. 2014. Introduction to Food Process Engineering. Food preservation technology series. CRC Press. Boca Ratón.
- Ikhlas, A. K., y Ehab, A. A. 2010. Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients, Used in Food, Drugs and Cosmetics. New Jersey: Wiley.
- Jacob, F., y Monod, J. 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, **3**(3):318-356.
- Jackson, L., y Lee, K. 1991. Microencapsulation in the food industry. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology*, **24**(4):289-297.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. y Bhandari, B. 2008. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, **26**(7):816-835.
- Jayaprakasha, G. K., Mohan-Rao, L. J., Sakariah, K. K. 2000. Chemical composition of the Flower Oil of *Cinnamomun Zeylanicum Blume*. *J. Agric. Food Chem*, **48**(9):4294-4295.
- Kalemba, D. y Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, **10**(10):813-829.

- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F., y Bahramifar, N. 2004. Comparison of essential oil composition of Carun coticum obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. Food Chemistry, **86**(4):587-591.
- Kim, Y. D., y Morr, C. V. 1996. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray dried orange oil emulsion particles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **44**(5):1314-1320.
- Kimbaris, A. C., Siatas, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., y Polissiou, M. G. 2006. Comparison of distillation and ultrasound assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). Ultrasonics Sonochemistry, **13**(1): 54-60.
- Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. 1997. Edible coatings and films to improve food quality. CRC PRESS. New York.
- Krishnan, S., Kshirsagar, A. C. y Singhal, R. S. 2005. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. Carbohydrate Polymers, **62**(4):309-315.
- Labuza, T. P. 1975. Oxidative changes in foods at low and intermediate moisture levels. In: Water Relations of Foods. R. B. Duckworth, New York: Academic Press.
- Labuza, T. P. 1977. The properties of water in relationship to water binding in foods: A review. Journal of Food Processing and Preservation, **1**(2):167-190.
- Labuza, T. P., Kaanane, A. y Chen, A. Y. 1985. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. Journal of food science, **50**(2):385-391.
- Lee, J. Y., Park, H. J., Lee, C. Y., y Choi, W. Y. 2003. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. Food Science Technology, **36**(3):323-329.
- Lin, D., y Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, **6**(3):60-75.
- Lozano-Berna, M. 2009. Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *Opuntia stricta* mediante secado por atomización. Tesis de Licenciatura

Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial.

- Martínez, A. 2003. Aceites esenciales. Obtenido de Universidad de Antioquía, Medellín: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf> (consultada Noviembre, 2016)
- Martínez, J., Sulbarán de Ferrer, B., Ojeda de Rodríguez, G., Ferrer, A. y Nava, R. 2003. Actividad antibacterial del aceite esencial de mandarina. Rev. Fac. Agron., 20(1):502-512.
- Master, M. 1979. Atomization, Handbook of Industrial Drying. London.
- Masotti, V., Juteau, F., Bessiere, J. M., y Viano, J. 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. J. Agric Food Chem, **51**(24):7115-7121.
- Medina, T. L., García, C. F., Calderas, F., González, L. R., Sánchez, O. G., Gallegos, I. J., Rodríguez, R. J. 2013. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). Food Science and Technology, **50**(2):642-650.
- Moreno-Hernández, A., Flores-Alonso, J., Cuéllar-Martínez, M., Fernández-Sánchez, J., Hernández-Aguirre, N. y Guzmán-Barradas, P. 2010. Xuwa, la canela; La introducción de canela en esquemas de diversificación productiva. México: Universidad Veracruzana. http://www.uv.mx/~diprocafe/libros_electronicos/canela/xuwa_canela.pdf (consultada Noviembre, 2016)
- Muthuswamy, S., Rupasinghe, H. P., y Stratton, G. W. 2008. Antimicrobial effect of cinnamon bark extract on *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and fresh-cut apple slices. Journal of Food Safety, **28**(4):534-549.
- Mujumdar, A. S. 1995. Handbook of Industrial Drying. New York: Marcel Dekker.
- Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., García, C. 2009. Extracción y caracterización del aceite esencial de mandarina obtenido de residuos agroindustriales. Rev. Dyna, **162**(1):85-92.

- Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., y Coppola, R. 2012. Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, **23**(2):182-186.
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., y Dorrieu, V. 2013. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops. and Products*, **42**(1):469-479.
- NTE (Norma Técnica Ecuatoriana) 2469. 2009. Determinación de la humectabilidad en leche en polvo instantánea. Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://archive.org/stream/ec.nte.2469.2009#page/n1/mode/2up> (Consultada Noviembre, 2017).
- Noria-Balderas, I. G. y Pérez-Pérez, M. C. 2015. Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en una matriz polimérica mediante el proceso de secado por aspersion. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Celaya.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M., Alandres-González, L., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando-Hernando, M., y Martín-Belloso, O. 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut pear. *Postharvest Biol. Technol.*, **57**(1):87-94.
- Ortuño, M. F. 2006. Manual Práctico de Aceites Esenciales, Aromas y Perfumes. España: Aiyana. <http://es.slideshare.net/suministroempresarialmaysun/manual-practico-de-aceites-esenciales-aromas-y-perfumes> (consultada Noviembre, 2016)
- Osorio, C., Baudillo, A., Hillebrand, S. y Carriazo, J. 2010. Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit. *J. Agric. Food Chem.*, **58**(11):6977-6985.
- Palma Rodriguez, H. M., Agama Acevedo, E., Gonzalez Soto, R., Vemon Carter, E. J., Alvarez Ramirez, J., y Bello Perez, L. A. 2013. Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. México: *Starch journal*, **65**(7):584-592.
- Pascall, M., y Lin, S. 2013. The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. *Food, Processing and Technology*, **4**(2):1-2.

- Proestos, C., y Komaitis, M. 2006. Ultrasonically assisted extraction of phenolic compounds from aromatic plants: comparison with conventional extraction techniques. *Quality Journal of Food*, **29**(5): 567-582.
- Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P., y Sinanoglou, V. J. 2013. Antioxidant capacity of select plant extracts and their essential oils. *J.Antioxidants* , **2**(1):11-15.
- Quintero C., J. P., Pascual, F. V., y Muñoz H., A. J. 2010. Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, **1**(5):93-118.
- Rahman, M. S. 2009. Food properties: An overview. *Food properties handbook*.CRC Press. Boca Raton.
- Ranasinghe,P., Pigera,S., Premakumara,S., Galappaththy,P., Constantine, R., Katulanda,P. 2013. Medicinal properties of true cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC. Complementary y Alternative Medicine*, **13**(1):275-285.
- Roccia, P., Martínez, M. L., Llabot, J. M. y Ribotta, P. D. 2014. Influence of spray drying operating conditions on sunflower oil powder qualities. *Powder technology*, **254**(14):307-313.
- Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E. J. y Pérez-Alonso, C. 2012. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, **111**(1):102-109.
- Rodríguez-Nogales, J. M., Ortega, N., Perez-Mateos, M. y Busto, M. D. 2007. Experimental design and response surface modeling applied for the optimisation of pectin hydrolysis by enzymes from *A. niger* CECT 2088. *Food chemistry*, **101**(2):634-642.
- Rojas-Graü, M. A., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. 2009. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: a reiew. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**(5):875-889.

- Rosenberg, M.; Young, S. L. 1993. Whey proteins as microencapsulating agent. Microencapsulation of anhydrous milkfat structure evaluation. *Food Structure*, 12(1):31-41.
- Rosengarten, F. 1969. The book of spices. Livingston Pub. Co.
- Santos, A. L., Chierice, G. O., Alexander, K. S., Riga, A. y Matthews, E. 2009. Characterization of the raw essential oil eugenol extracted from *Syzygium aromaticum* L. J. *Therm Anal. Calorim*, **96**(3):821-825.
- Scarfato, P., Avallone, E., y Lannelli, P. 2007. Synthesis and characterization of polyuria microcapsules containing essential oils with antigerminative activity. *Journal of applied Polymer Science*, **4**(1):3568-3577.
- Shahidi, F., y Han, X. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Food Science and Nutrit*, **33**(6):501-547.
- Soares, R. M., Lima, A. M., Oliveira, R. V., Pires, A. T., y Soldi, V. 2005. Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources. *Polymer Degradation and Stability*, **90**(3):449-454.
- Surburg, H. y Panten J. 2006. Common Fragrance and Flavor Materials. Germany: WILEY-VCH.
- Tapia, M. S., Alzamora, S. M. y Chirife, J. 2007. Effects or water activity (a_w) on microbial stability: As a hurdle in food preservation. Water activity in foods, IFT Press. Iowa, U.S.A.
- Thongson, C., Davison, P. M., Mahakarnchanakul, W., y Weiss, J. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. *Letters in Applied Microbiology*, **39**(5):401-406.
- Torrenegra, M., Granados, C., Osorio, M., y León, G. 2015. Comparación de la Hidro-destilación asistida por radiación de microondas (MWHD) con hidro-destilación convencional (HD) en la extracción de aceite esencial de *Minthostachys mollis*. *Información Tecnológica*, **26**(1):117-122.
- Trease, G. E., y Evans, W. C. 1986. Tratado de Farmacognosia. México: Interamericana.

- Varonaa, S., Karethb, S., Martín, A., y Coceroa, M. J. 2010. Formulation of lavandin essential oil with biopolymers by PGSS for application as biocide in ecological agriculture. *J. of Supercritical Fluids*, **54**(3):369-377.
- Vásquez, O., Alva, A., y Marreros, J. 2001. Extracción y caracterización del aceite de jengibre (*Zingiber officinale*). *Rev. Amazónica de investigación alimentaria*, **1**(1):38-42.
- Vázquez-Briones, M. C., y Guerrero-Beltrán, J. A. 2013. Recubrimientos de frutas con biopelículas. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, **7**(2):5-14.
- Veiga-Santos, P., Oliveirab, L. M., Ceredac, M. P., Alvesd, A. J., y Scamparini, A. R. 2005. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, **19**(2): 341-349.
- Velázquez-Moreira, A., y Guerrero-Beltrán, J. 2014. Algunas investigaciones recientes en recubrimientos comestibles aplicados en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, **8**(2):5-12
- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A. J., Egido, J., y Marín, S. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, **89**(2):145-154.
- Verdalet Guzman, I., Martínez Ortiz, L., y Martínez Bustos, F. 2013. Characterization of new sources of derivate starches as wall materials of essential oil by spray drying. *Food Science and Technology*, **33**(4):757-764.
- Wang, C. X., y Chen, S. L. 2010. Fragrance-release Property of B-Cyclodextrin Inclusion Compounds and their Application in Aromatherapy . *Journal of industrial Textiles* , **34**(3):13-32.
- Wankat, P. C. 1988. Equilibrium Staged Separations. Separations in Chemical yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, **99**(1): 19-23.
- Wen-Chuan, H., Chih-Pong, C., y Ying-Lin, G. 2006. Controlled release properties of chitosan encapsulated volatile citronella oil microcapsules by thermal treatments. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, **53**(2):209-214.

- Wijesekera, R.O.B., Jayewardene, A. L., y Rajapakse, L. S. 1974. Volatile Constituents of Leaf, Steam and Root Oils of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). J. Sci. Fd Agric, **25**(10):1211-1220.
- Xing, Y. G., Hong, L. X., Qing, L. X., y Chong, X. S. 2011. Antimicrobial activity, cherry tomato, cinnamon oil, microencapsulation. Advanced Materials Research, **236**(19):2307-2310.
- Yamini, Y., Khajeh, M., Ghasemi, E., Mirza, M., y Javidnia, K. 2008. Comparison of essential oil composition of *Salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. Food Chemistry, **108**(1):341-346.
- Yáñez, F. J., Salazar, M. J., Chaires, M. L., Jiménez, H. J., Márquez, R. M., y Ramos, R. E. 2005. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Industria Alimentaria.
https://www.researchgate.net/publication/271836989_Aplicaciones_biotecnologicas_de_la_microencapsulacion (Consultada Noviembre 2016).
- Young, D., y Morr, C. 1996. Microencapsulation properties of gum Arabic and several food proteins: spray-dried orange oils emulsion particles. Food Chem, **44**(5):1314-1320.

ANEXOS

ANEXO A. RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

En las Figuras A1-A6 se muestran los resultados de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela.

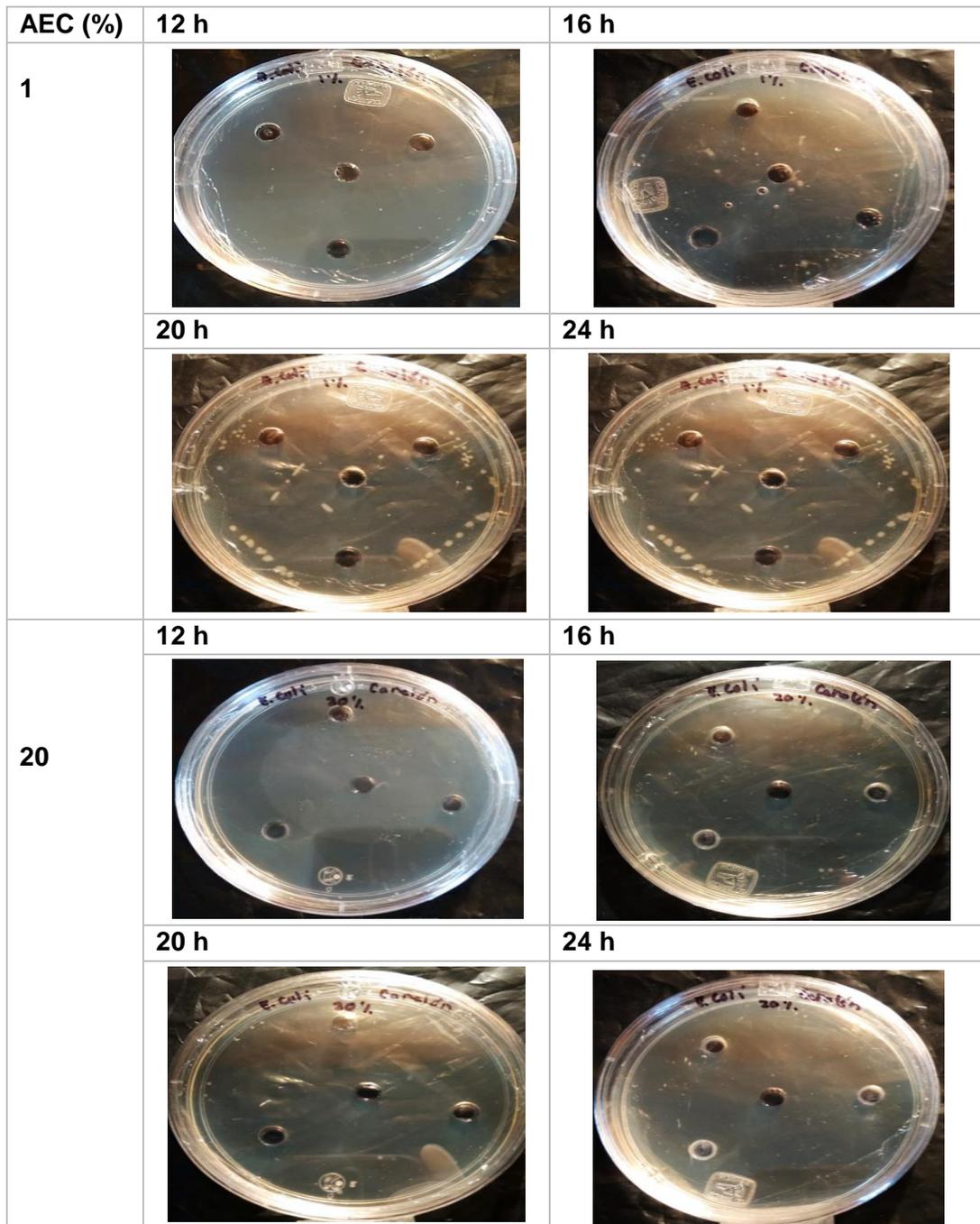


Figura A. 1 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *E. Coli*

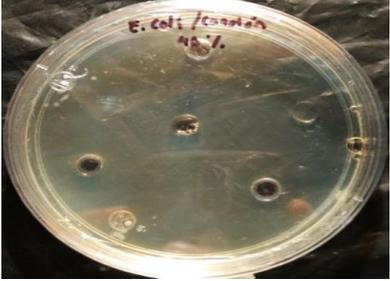
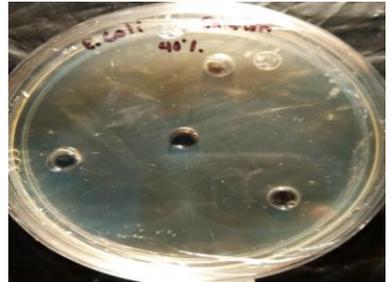
% AEC	12 h	16 h
40		
	20 h	24 h
		
	60	12 h
20 h		24 h
		
		

Figura A1. Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *E. Coli* (Continuación)

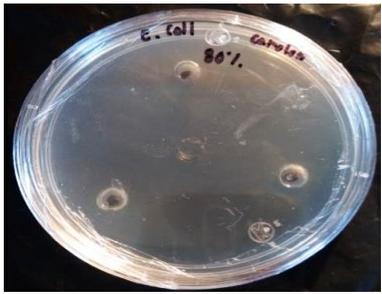
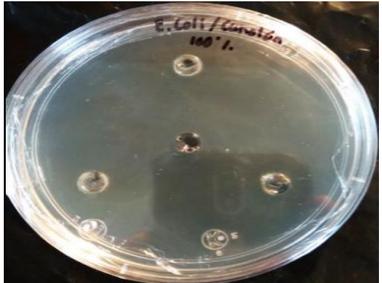
% AEC	12 h	16 h
		
	20 h	24 h
		
	100	12 h
		
20 h		24 h
		

Figura A1. Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *E. Coli* (Continuación)

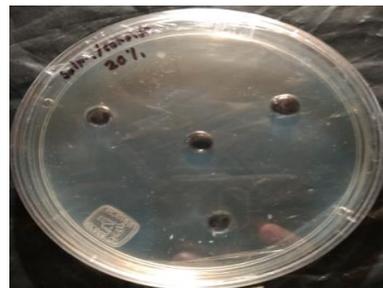
% AEC	12 h	16 h
1		
	<p data-bbox="402 562 472 596">20 h</p> 	<p data-bbox="862 562 932 596">24 h</p> 
20	<p data-bbox="402 919 472 953">12 h</p> 	<p data-bbox="862 919 932 953">16 h</p> 
	<p data-bbox="402 1318 472 1352">20 h</p> 	<p data-bbox="862 1318 932 1352">24 h</p> 

Figura A. 2 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra Salmonella

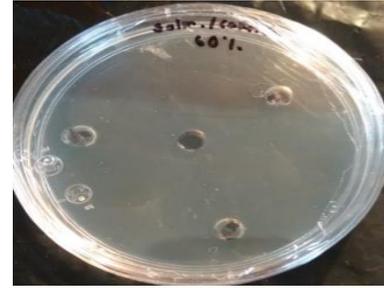
% AEC	12 h	16 h
40		
		
		
		

Figura A. 2 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *Salmonella* (Continuación)

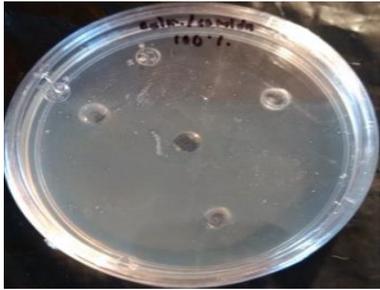
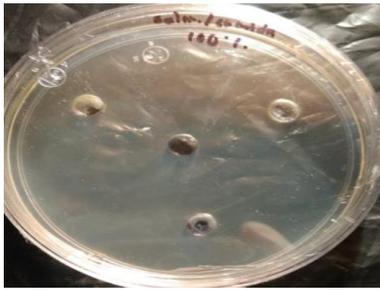
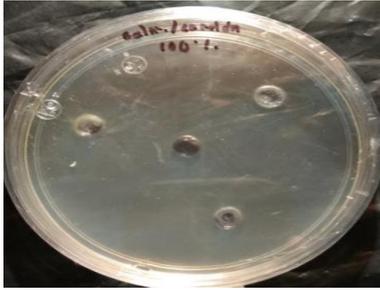
% AEC	12 h	16 h
80		
	20 h	24 h
100	12 h	16 h
		
	20 h	24 h
		

Figura A. 2 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *Salmonella* (Continuación)

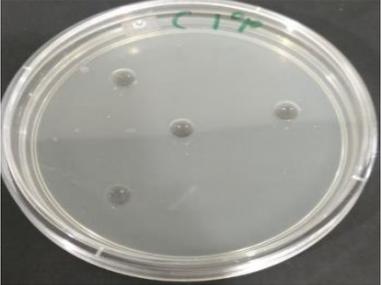
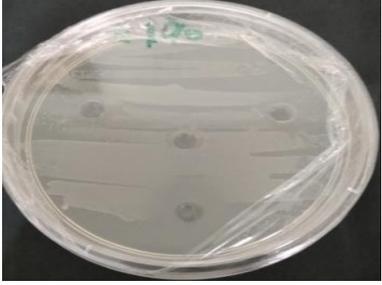
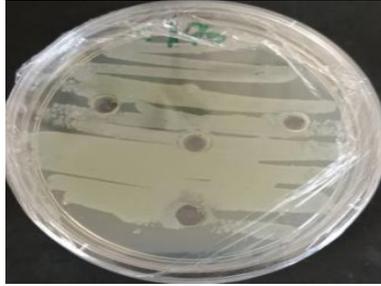
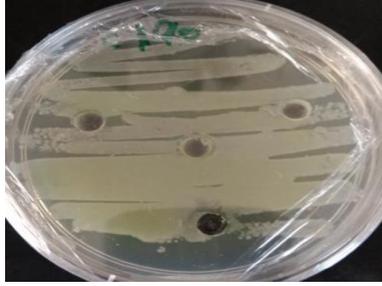
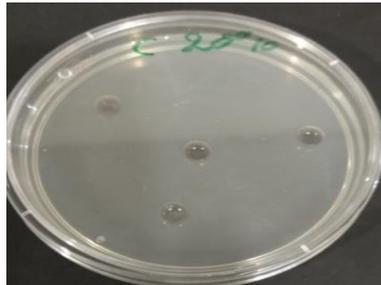
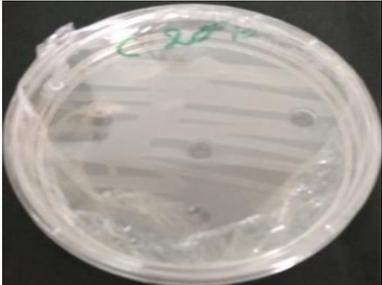
% AEC	12 h	16 h
1		
	<p data-bbox="475 562 553 598">20 h</p> 	<p data-bbox="938 562 1016 598">24 h</p> 
	<p data-bbox="475 913 529 949">12</p> 	<p data-bbox="938 913 992 949">16</p> 
	<p data-bbox="475 1276 529 1312">20</p> 	<p data-bbox="938 1276 992 1312">24</p> 

Figura A. 3 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *Staphylococcus*

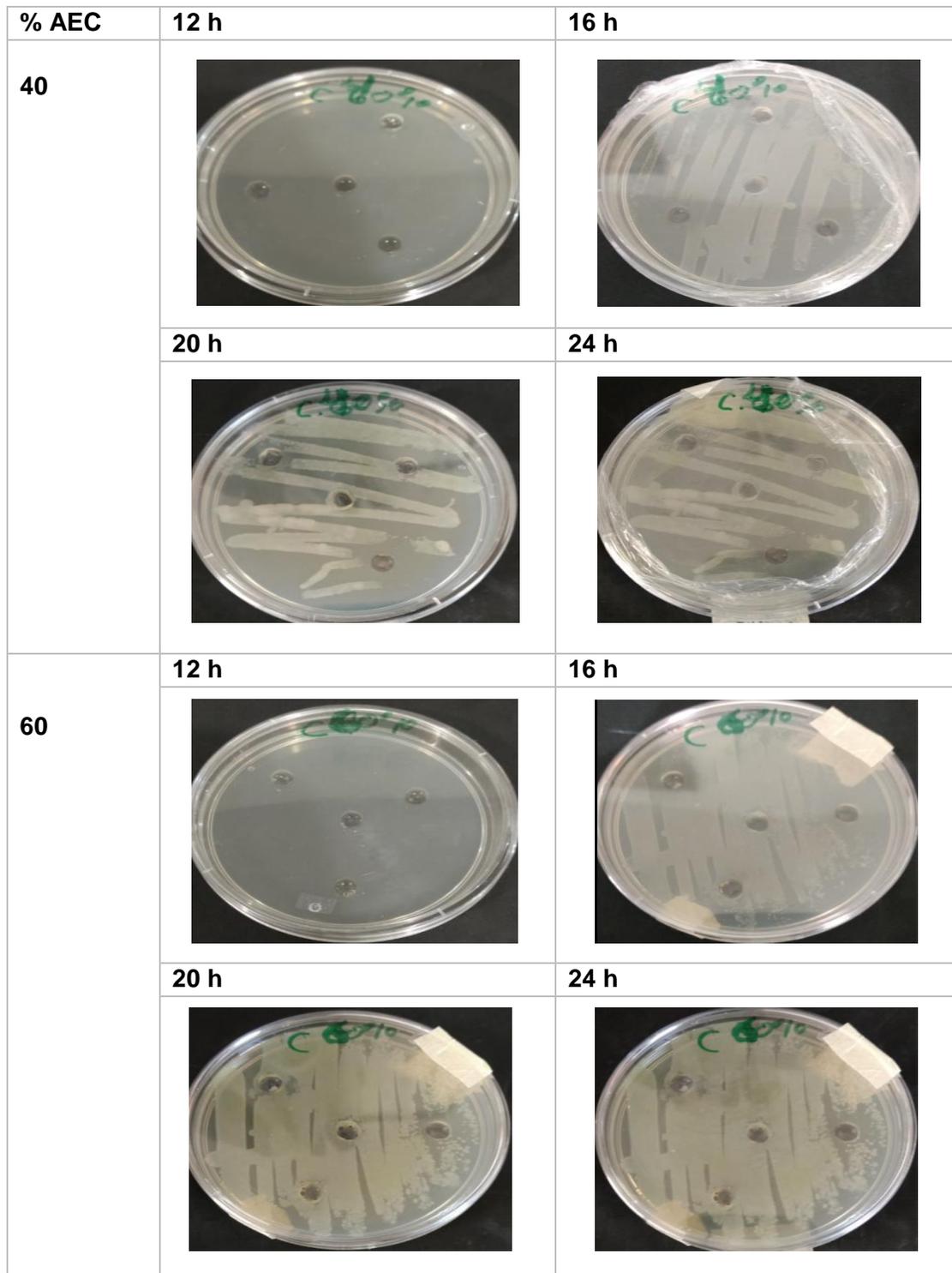


Figura A. 3 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *Staphylococcus* (Continuación)

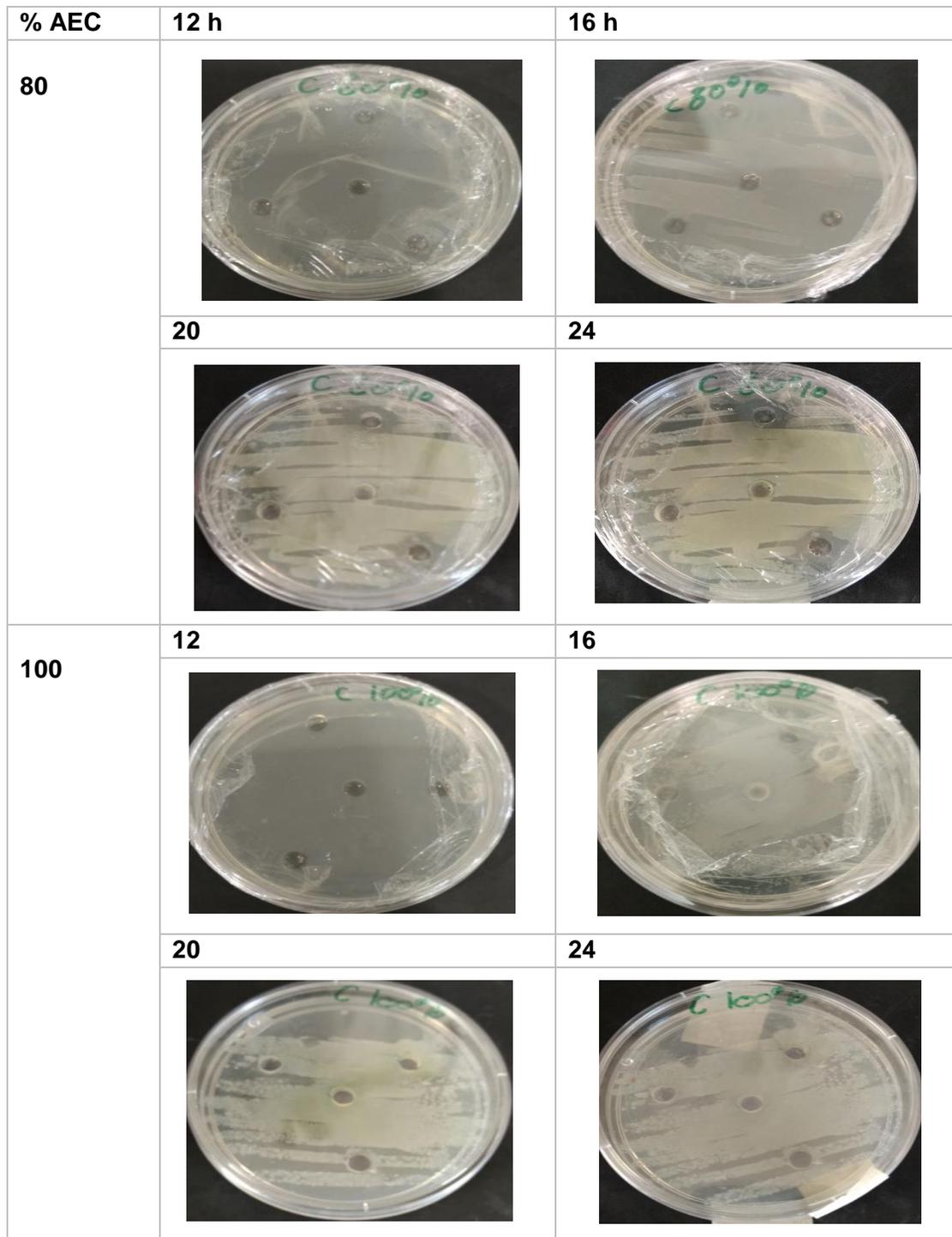


Figura A. 3 Actividad antimicrobiana del AEC especie Canelón contra *Staphylococcus* (Continuación)

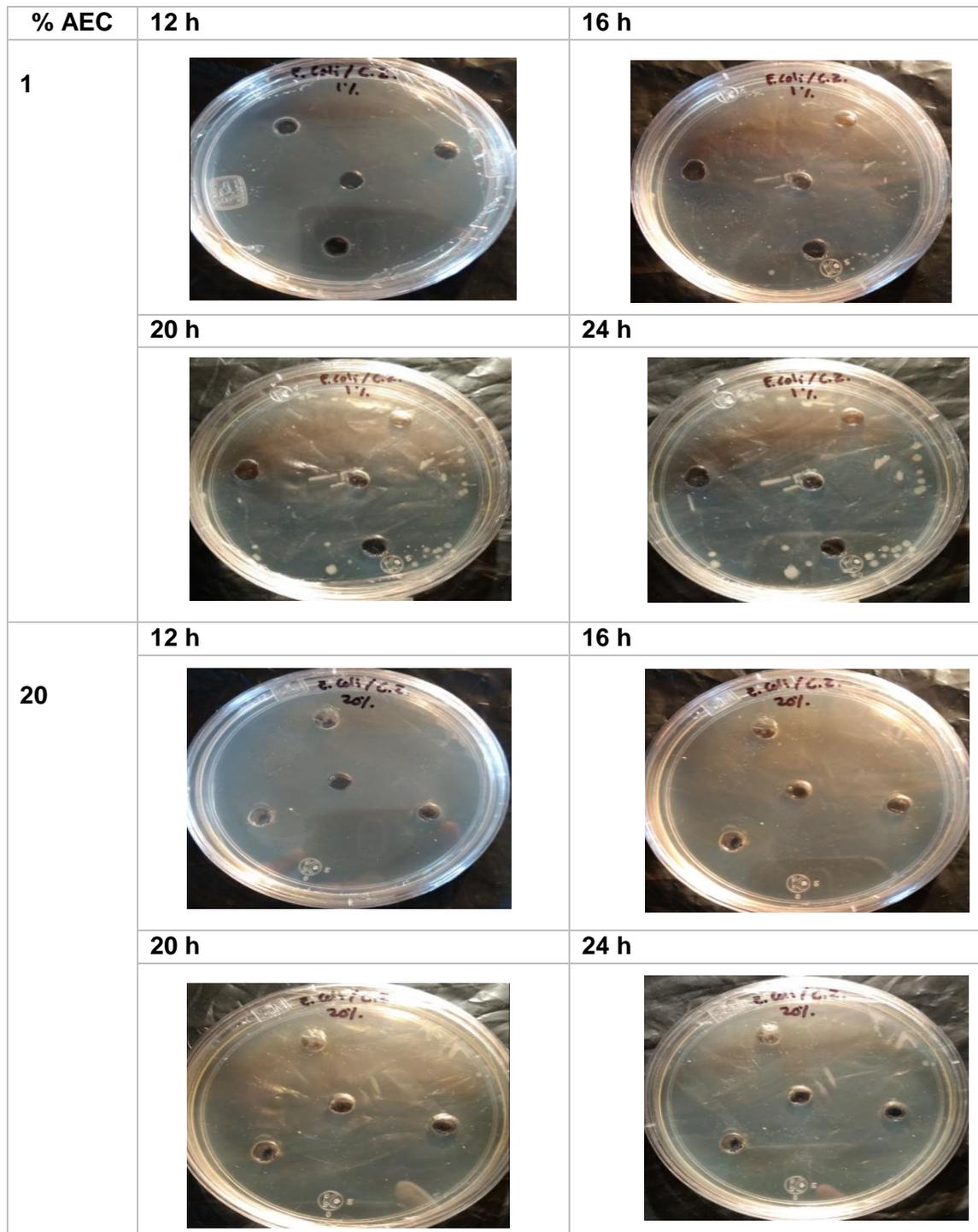


Figura A. 4 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *E. Coli*

% AEC	12	16
40		
	20	24
60		
	20	24

Figura A. 4 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *E. Coli* (Continuación)

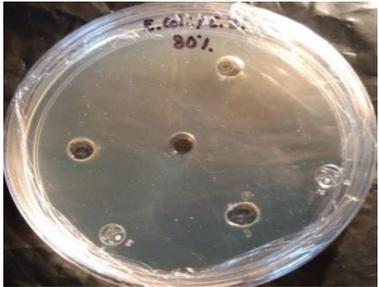
% AEC	12 h	16 h
80		
		
100		
		

Figura A. 4 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *E. Coli* (Continuación)

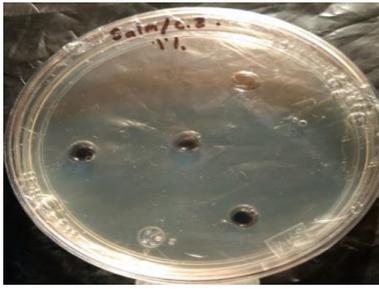
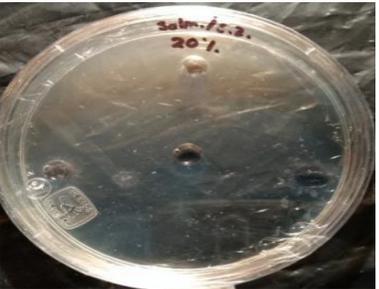
% AEC	12 h	16 h	
1			
	<p data-bbox="418 583 487 611">20 h</p> 	<p data-bbox="891 583 959 611">24 h</p> 	
	20	<p data-bbox="418 961 487 989">12 h</p> 	<p data-bbox="891 961 959 989">16 h</p> 
		<p data-bbox="418 1318 487 1346">20 h</p> 	<p data-bbox="891 1318 959 1346">24 h</p> 

Figura A. 5 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Salmonella*

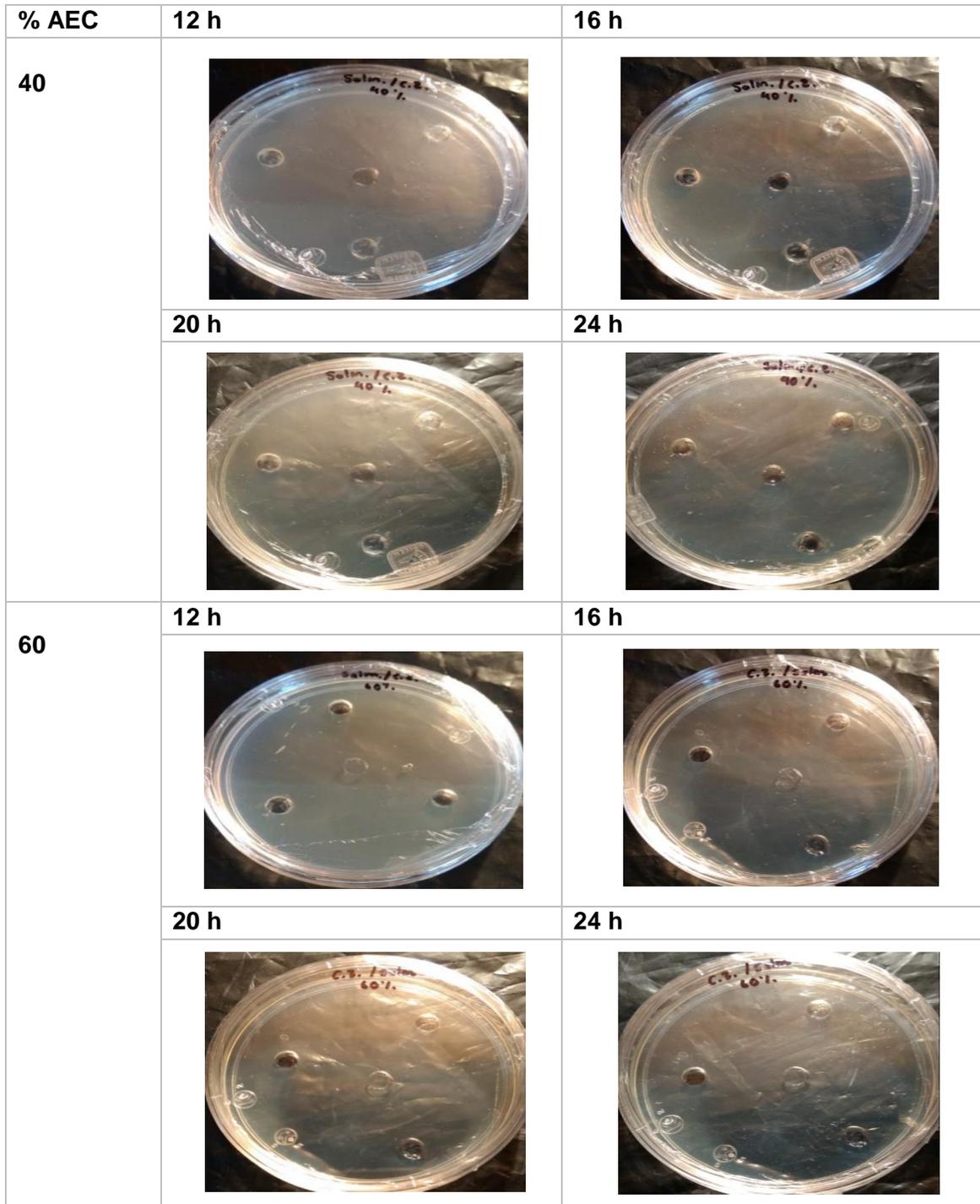


Figura A. 5 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Salmonella* (Continuación)

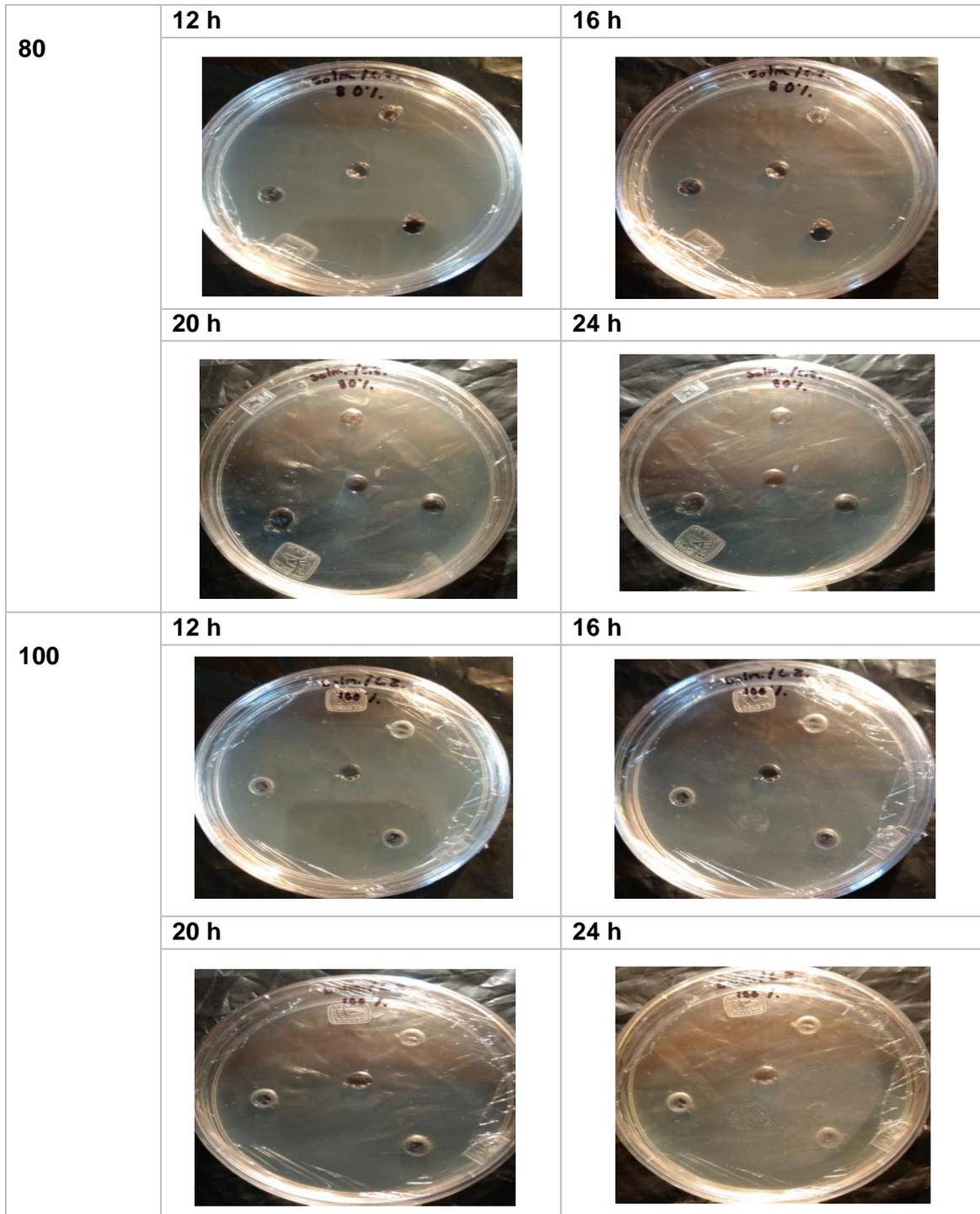


Figura A. 5 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Salmonella* (Continuación)

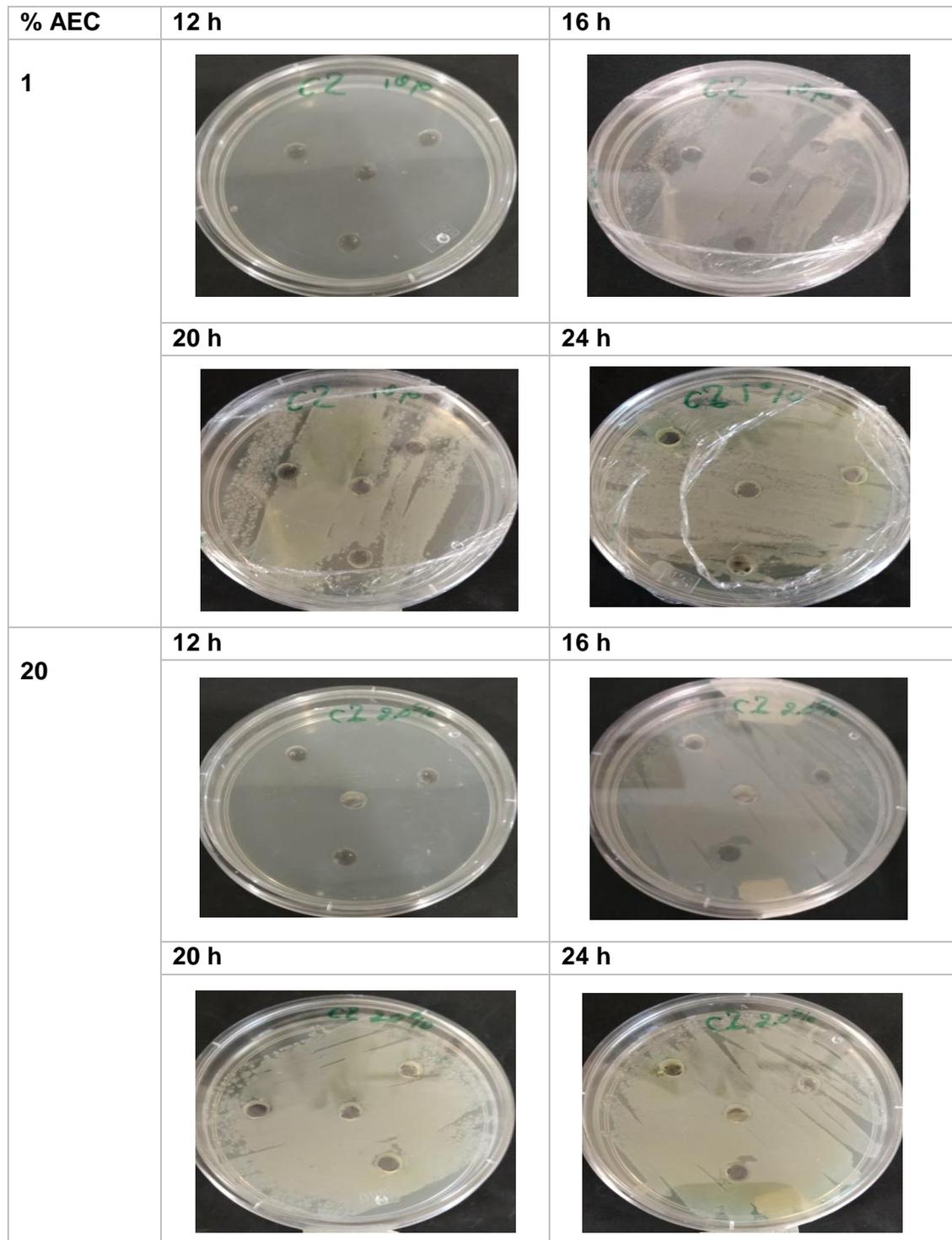


Figura A. 6 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Staphylococcus*

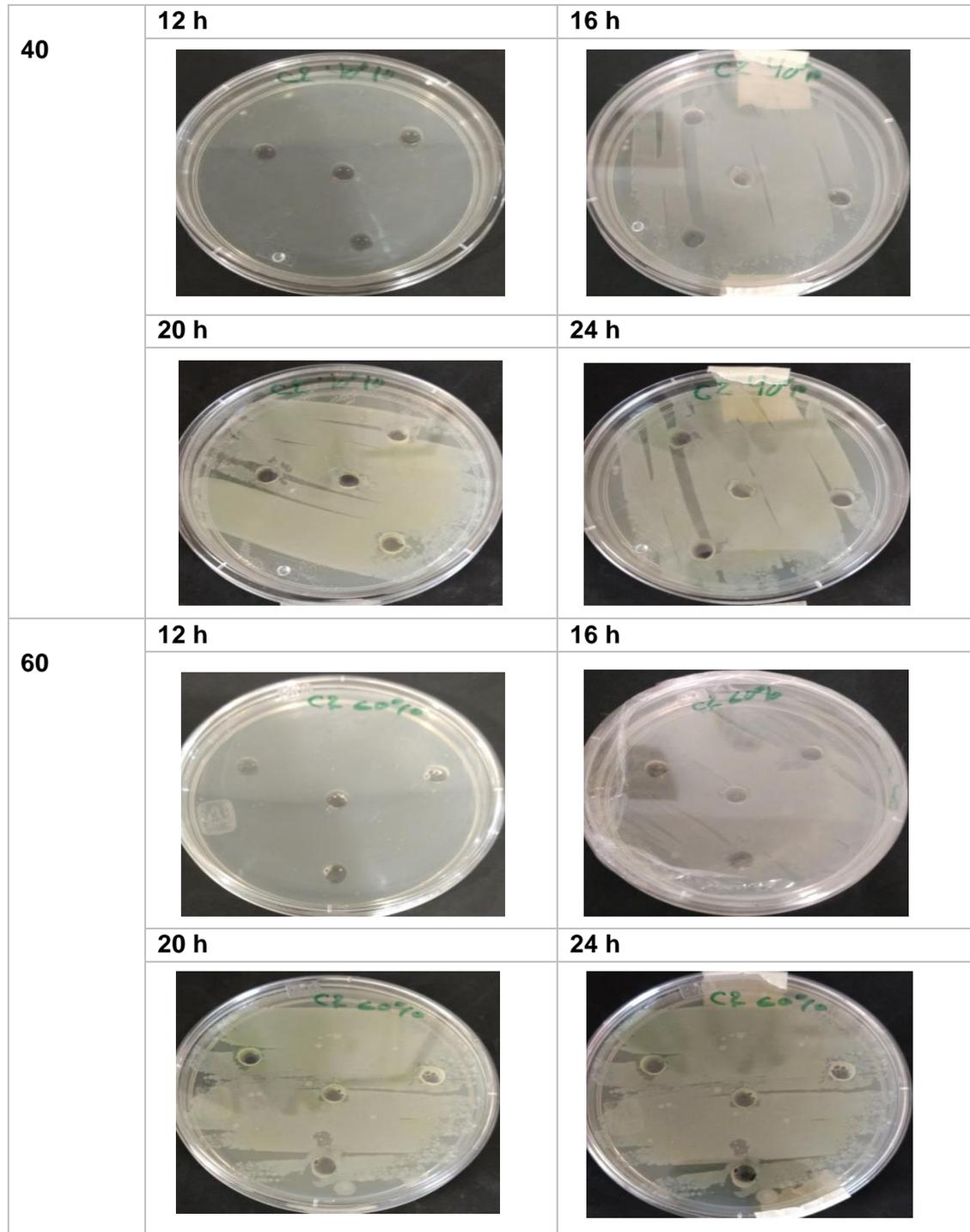


Figura A. 6 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Staphylococcus* (Continuación)

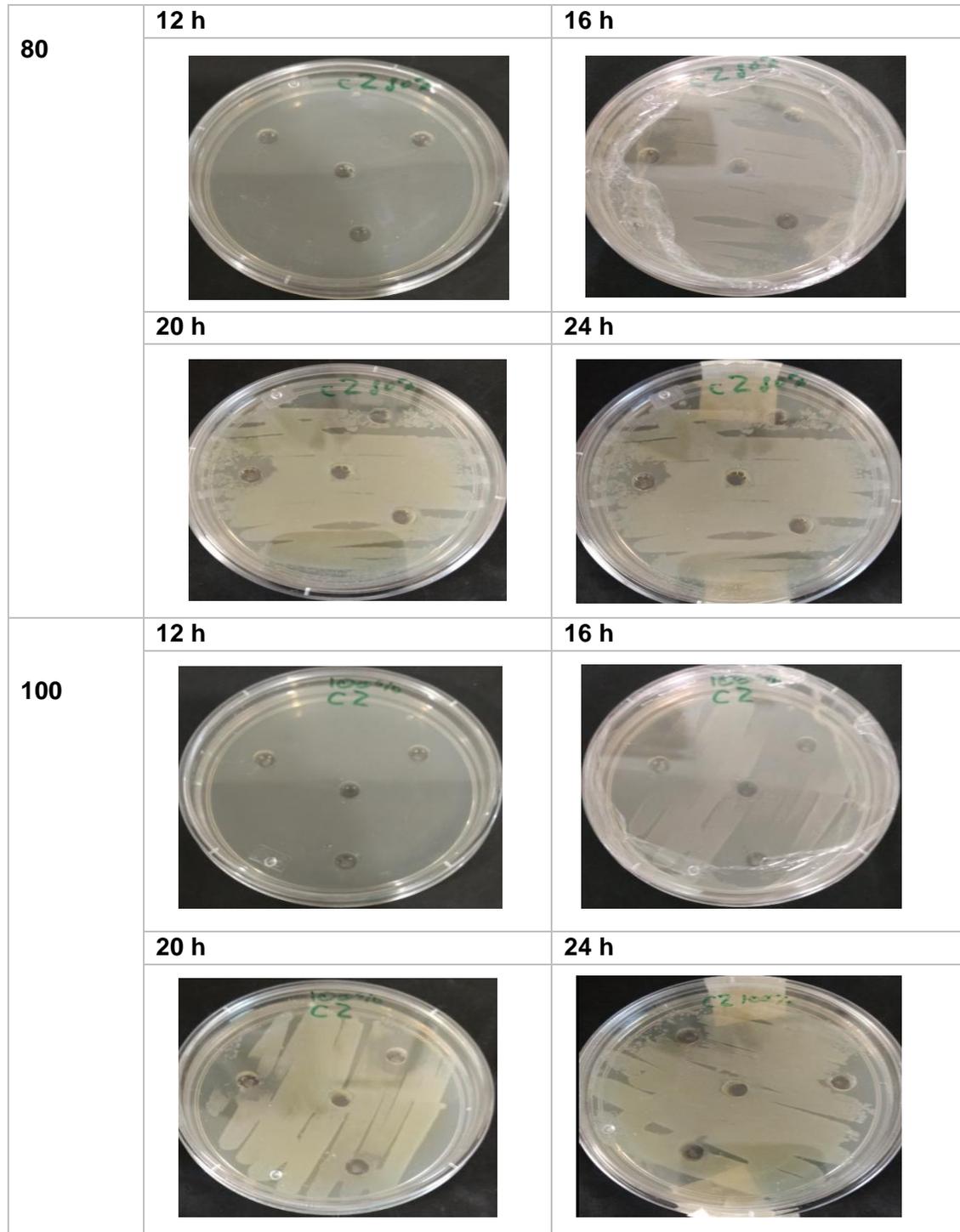


Figura A. 6 Actividad antimicrobiana del AEC especie *Cinnamomum zeylanicum* contra *Staphylococcus* (Continuación)

Actividad antimicrobiana de las microcápsulas de AEC

En las Figuras A7-A12 se muestran los resultados de la actividad antimicrobiana de los microencapsulados de aceite esencial de canela.

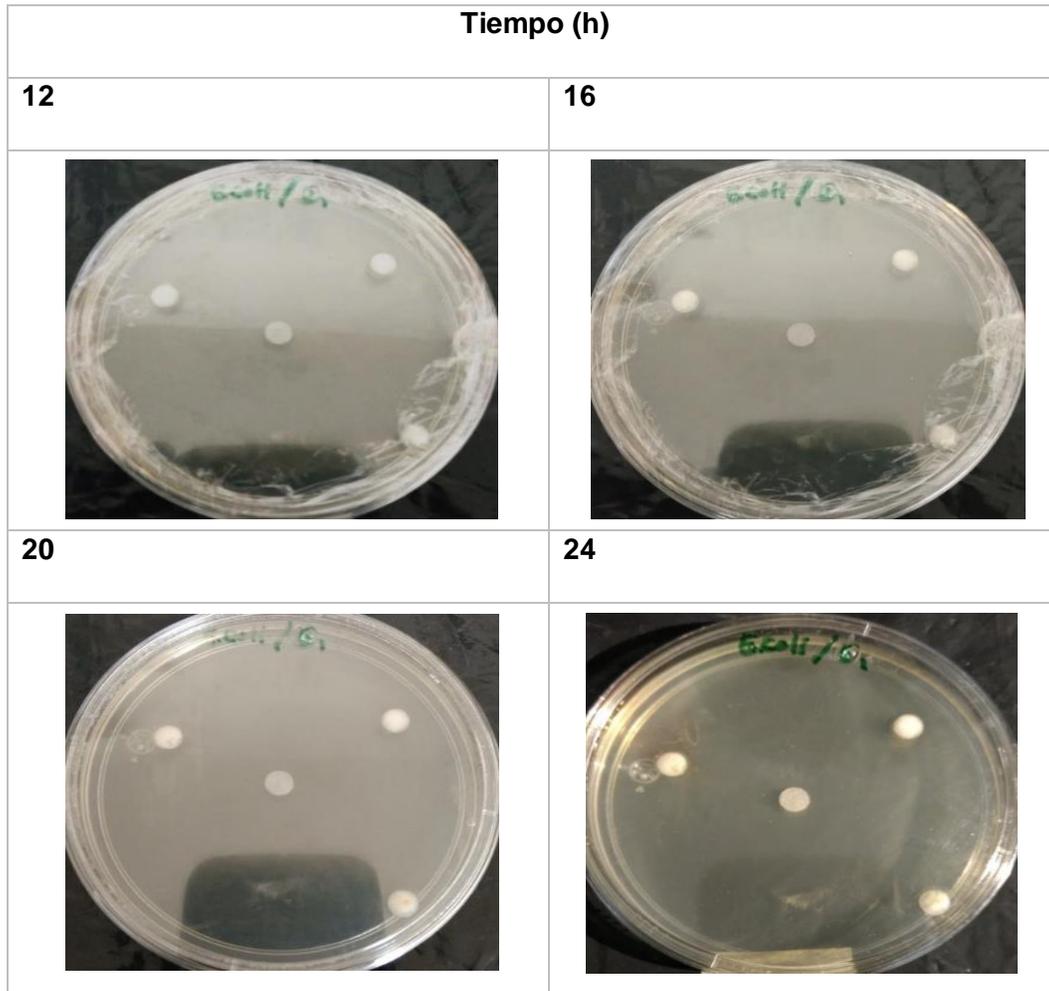


Figura A. 7 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *E. coli*

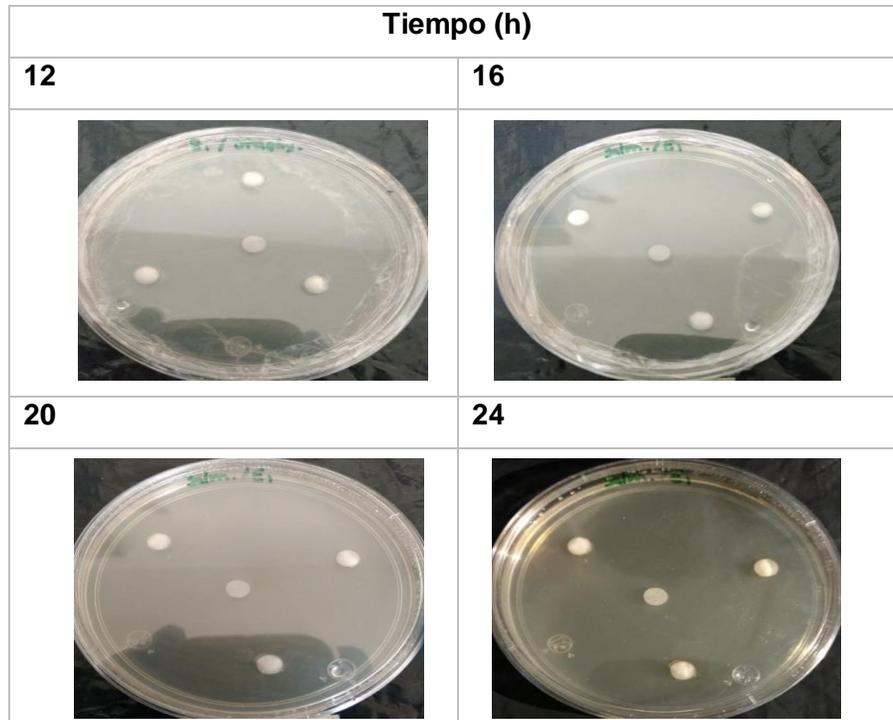


Figura A. 8 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *Salmonella*

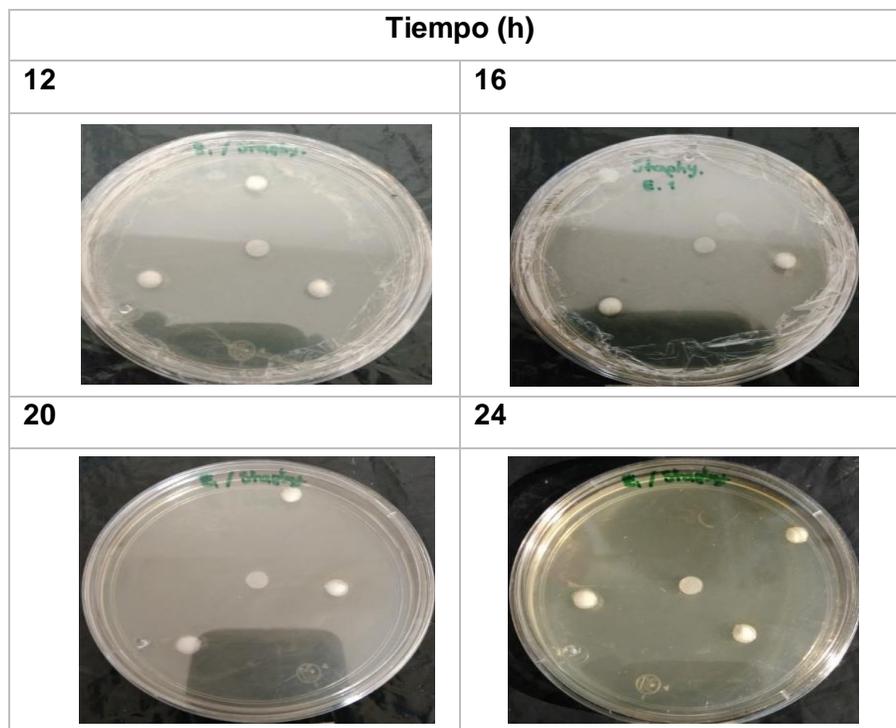


Figura A. 9 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 1 contra *Staphylococcus*

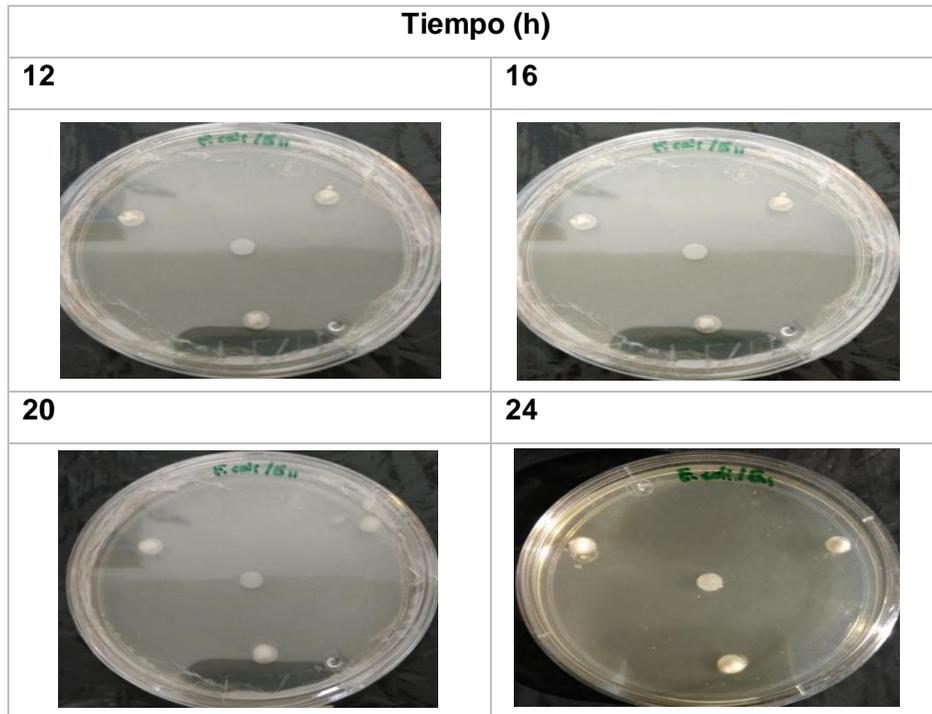


Figura A. 10 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *E. coli*

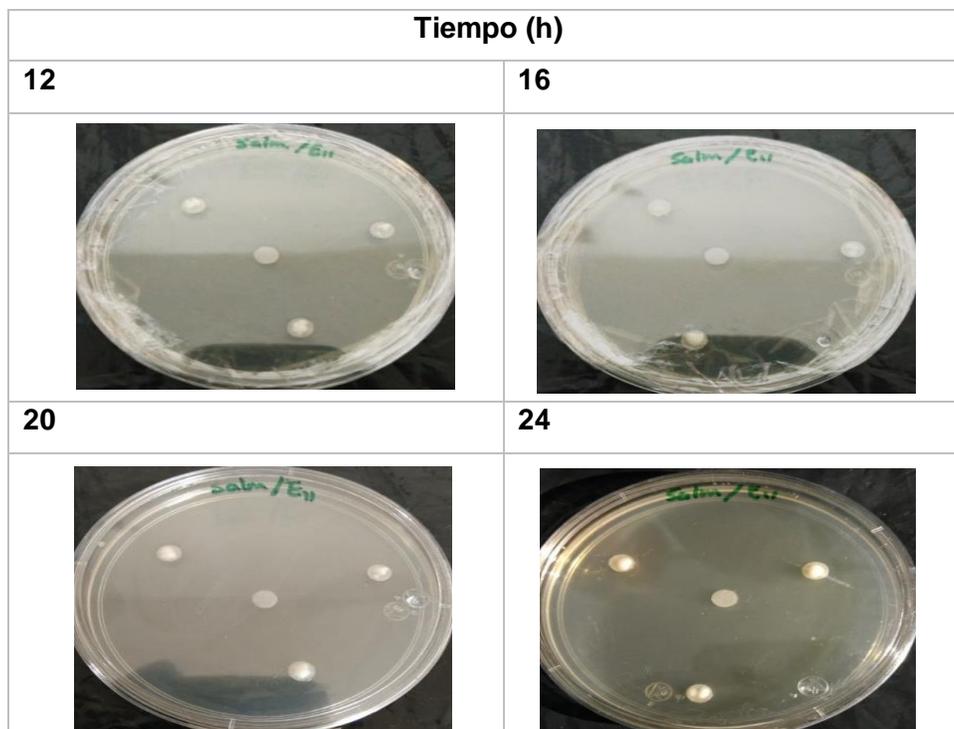


Figura A. 11 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *Salmonella*

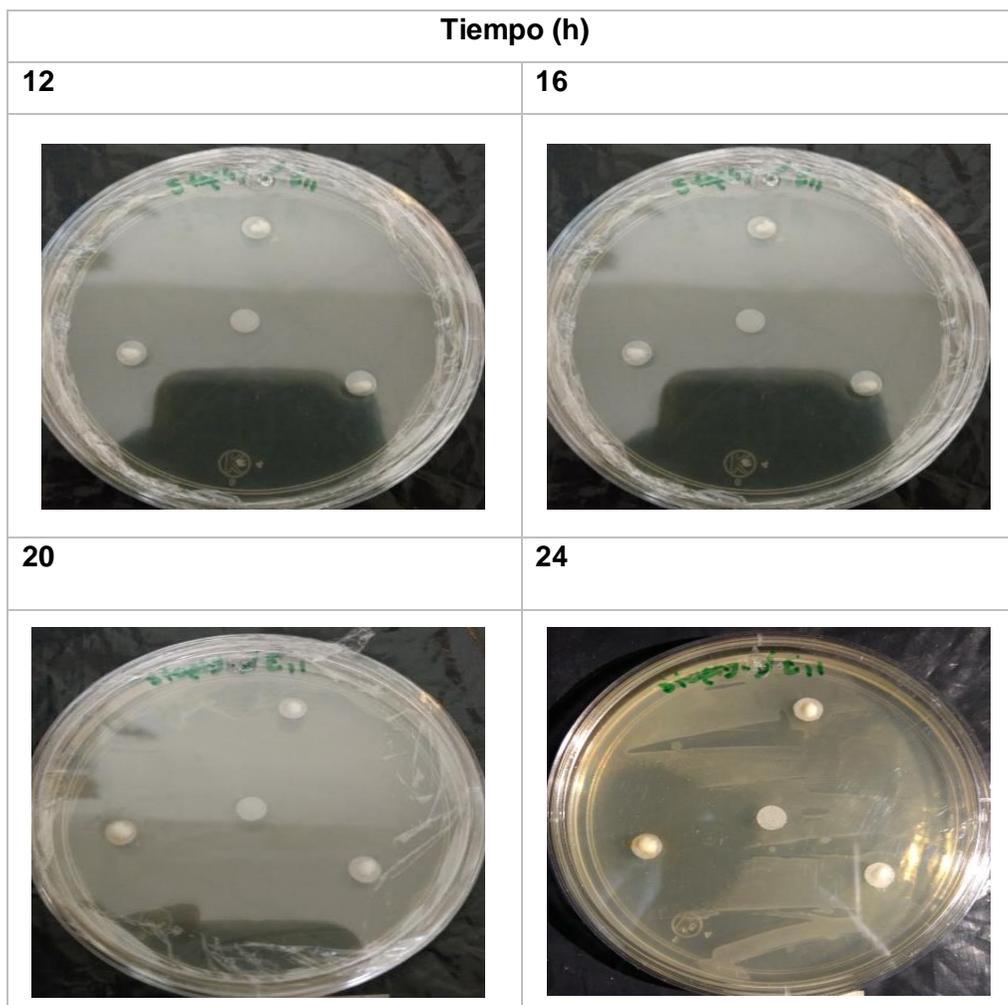


Figura A. 12 Actividad antimicrobiana de las microcápsulas del experimento 11 contra *Staphylococcus*