Estimación del potencial antioxidante de microcápsulas de *Ardisia compressa* K. secadas por aspersión

F. J. Gabino Roman[1], E. Hernández Domínguez[1], A. G. Nila Méndez[1], P. Guillen Velazquez[3], M. L Sánchez Mundo[2*]*
[1]Unidad de Investigación en Biotecnología Vegetal, TecNM Campus Acayucan. Carretera Costera del Golfo km 216.4. Col Agricola Michapa. Acayucan, Veracruz. C.P. 96100. México.
[2]TecNM Campus las Choapas. Carretera las Choapas-Cerro de Nanchital km 6.0. Col. J. Mario Rosado. Las Choapas, Veracruz. C.P. 96980. México.
[3]Departamento de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Orizaba. Av. Oriente 9, No 852. Orizaba, Veracruz. C.P. 94320. México.
**frajagaro@itsacayucan.edu.mx*

***Área de participación**: Ingeniería Química*

Resumen

Ardisia compressa, es una fruta tropical que contiene compuestos Fenólicos Totales (FT) 1,280 ± 9.9 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de Peso Fresco (mg EAG/100 g PF). La microencapsulación es una técnica que contribuye a preservar los nutrientes de los alimentos. En este trabajo, se evaluó la goma Arábiga (GA) y la Maltodextrina (MD) como materiales encapsulantes para conservar el potencial antioxidante de este fruto. Se obtuvieron microcápsulas entre 1 y 5 µm, que posteriormente se deshidrataron en un secador de aspersión a 180°C (temperatura de entrada) y 90°C (temperatura de salida). Las cápsulas con humedad entre 4.9 y 1.3% conservaron 55-21% de FT y 39-49% de la capacidad antioxidante expresada como µg Equivalente de Trolox/100 g de Peso Fresco (µg ET/100 g PF). La concentración de MD no afectó significativamente las propiedades antioxidantes. Estos datos demuestran que se conserva el potencial antioxidante de microcápsulas de *A. compressa*.

***Palabras clave**: Microencapsulación, antioxidantes, goma Arábiga, maltodextrina*

Abstract

Ardisia compressa is a tropical fruit that contains Total Phenolic Compounds (TPC) (1,280 ± 9.9 mg gallic acid equivalents/100 g Fresh Weight (mg GAE/100 g FW). Microencapsulation is a process that contributes to preserve the nutritional properties of foods. In this work, gum Arabic (GA) and Maltodextrin (MD) were evaluated as encapsulating materials to preserve the antioxidant potential of this fruit. Microcapsules between 1 and 5 µm were obtained, which were subsequently dehydrated in a spray dryer at 180°C (inlet temperature) and 90°C (outlet temperature). The capsules with wet between 4.9 and 1.3% retained 55-21% of TPC content and 39-49% of antioxidant capacity expressed as µg Trolox Equivalent/100 g Fresh Weight (µg TE/100 g FW). MD concentration had not a significantly effect on antioxidant activity. These data demonstrate that is preserved the antioxidant potential of A. compressa microcapsules.

***Key words**: Microencapsulation, antioxidants, gum Arabic, maltodextrin*

Introducción

Los compuestos fenólicos están presentes en muchas frutas, estos son importantes por su potencial antioxidante que coadyuvan en la prevención de enfermedades degenerativas como cáncer, artritis, arterioesclerosis, cardiopatías, inflamación, disfunción cerebral y envejecimiento. La propiedad antioxidante de diversas frutas de regiones tropicales ha sido investigada, por citar algunos ejemplos; guayaba (*Psidium guajava* L.), carambola (*Averrhoa carambola* L.), kiwi (*Actinidia chinensis*), mango

(*Mangifera indica*), limón (*Citrus limon*), papaya (*Carica papaya* L.) [1, 2, 3, 4]. Sin embargo, durante el procesamiento de las frutas y verduras, los compuestos fenólicos pierden parte de su capacidad antioxidante porque se degradan por variables de proceso como; pH, luz, altas temperaturas, oxígeno, entre otros. En consecuencia, se han desarrollado diversos sistemas que tienen como objetivo encapsular o absorber los compuestos antioxidantes en matrices diversas para conservar las propiedades nutricionales de dichos alimentos. Entre estos sistemas se encuentra la encapsulación, que consiste en empacar sólidos, líquidos y gases mediante una película polimérica para obtener cápsulas de tamaño micrométrico que protegen a los compuestos polifenólicos de interés [5, 6, 7, 8]. El secado por aspersión es un proceso frecuentemente utilizado para conservar los compuestos bioactivos de frutas y vegetales, es altamente apropiado para el procesamiento de componentes sensibles al calor tales como los polifenoles, esto se debe al breve tiempo de residencia dentro del secador. Los productos deshidratados por aspersión presentan baja actividad de agua, lo cual no favorece la incidencia de reacciones degradativas. En la literatura se ha reportado el uso de matrices poliméricas, como la maltodextrina, goma arábiga, gelatina, quitosano, almidones, entre otros, para favorecer el proceso de secado de compuestos biológicos, siendo la maltodextrina la más utilizada debido a su baja viscosidad a diferentes pesos moleculares; el producto pulverizado producido por secado por aspersión, tiene buenas características organolépticas, baja actividad de agua y son adecuados para el transporte y almacenamiento [9, 10, 11, 12]. No obstante, las condiciones de secado y la concentración del agente encapsulante afectan significativamente las propiedades del producto obtenido (polifenoles y antocianinas, entre otros) [13, 14, 15]. *A compressa*, es una fruta tropical poco estudiada y se ha reportado como una fuente importante de compuestos fenólicos con actividad antioxidante [16]. Sin embargo, no existen estudios sobre la preservación de polifenoles después del procesamiento. En consecuencia, el interés de este trabajo es proponer el uso de cubiertas como la maltodextrina y goma arábiga, para encapsular el jugo de *A. compressa* y posteriormente secarlas por aspersión. Además, estimar el efecto de estas matrices poliméricas sobre los FT y la capacidad antioxidante de las cápsulas obtenidas.

Metodología

Material biológico

Los frutos maduros de *A. compressa* K., se cosecharon manualmente de diferentes árboles en la región de San Andrés Tuxtla Veracruz (18° 27'' latitud norte y 95° 13'' longitud oeste, 300 msm), posteriormente fueron transportados al laboratorio de la Unidad de Investigación y Biotecnología Vegetal del Tecnológico Nacional de México Campus Acayucan y almacenados a 4°C.

Reactivos y equipos

La capacidad antioxidante se estimó empleando DPPH$^{\bullet}$ (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo, D-9132), ABTS$^{\bullet+}$ (ácido 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, A-1888), persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) y como estándar Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico 97%), para la evaluación del contenido de FT se utilizó Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio (Na_2CO_3) y como estándar ácido gálico ($(HO)_3C_6H_2CO_2H$). Maltodextrina (DE 4-7) y goma Arábiga se usaron como materiales de cubierta, todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical. La absorbancia se determinó en un Espectrofotómetro SmartSpec Plus Biorad. Se utilizó una centrifuga Allegra™ X-22, Beckman Coulter, las muestras fueron deshidratadas en un Mini Secador por aspersión B-290 Buchi.

Extracción de fenoles totales

La extracción de los FT se fundamentó en el protocolo publicado por Elvia *et al.,* [16], al cual se le realizaron algunas modificaciones. Brevemente, 1 g de muestra se agregó a 10 mL de una solución metanol-agua 50% (v/v). La muestra reposó durante 120 min, en seguida se centrifugó a 3,000 g por 10 min, la fase liquida se empleó como extracto, estos fueron preparados por triplicado.

Determinación de fenoles totales

El análisis de los FT se realizó espectrofotométricamente a 760 nm utilizando el método de Folin-Ciocalteu, reportado por Singleton y Rossi [17] con algunas modificaciones. En el cual, 100 µL del extracto se mezclaron con 125 µL del reactivo Folín-Ciacalteu 1N, se dejó reaccionar por 6 minutos, posteriormente la reacción se neutralizó con 1,250 µL de solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%, finalmente el volumen de la mezcla se aforó a 3 mL con agua destilada y se almacenó en la oscuridad durante 90 minutos. Los resultados se determinaron mediante extrapolación empleando una curva estándar de ácido gálico como patrón y expresados como (mg EAG/100 g PF).

Capacidad antioxidante

El ensayo de $ABTS^{\bullet+}$ se basó en el reporte de Pellegrini *et al.,* [18] con modificaciones. Brevemente, se emplearon soluciones de $ABTS^{\bullet+}$ 7 mM y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) 2.45 mM, ambas con agua destilada. Posteriormente se mezclaron en una proporción 1:1, la mezcla se almacenó durante un periodo de 12 a 16 h en ausencia de luz y a temperatura ambiente. Antes de iniciar el análisis de las muestras, se realizó una lectura de absorbancia de la mezcla a 734 nm, cuando la lectura fue superior a 0.7, la muestra se diluyó con etanol a fin de obtener una absorbancia aproximadamente de 0.7 ± 0.02. Posteriormente, se tomaron 200 µL de muestra y se agregaron 2.8 mL de la mezcla de $ABTS^{\bullet+}$ y persulfato de potasio ajustada. Finalmente, se monitoreó cada minuto la absorbancia a 734 nm hasta tener un mínimo de tres lecturas constantes, este valor se utilizó para estimar el porcentaje de inhibición. El ensayo de $DPPH^{\bullet}$, se realizó de acuerdo al protocolo reportado por Floegel, *et al.,* [19]. Se preparó una solución 0.1mM de $DPPH^{\bullet}$ en metanol al 80% (v/v), posteriormente se tomó 0.1 mL de muestra y se agregaron a 2.9 mL de la solución $DPPH^{\bullet}$-metanol. La mezcla se homogenizó y reposo durante 30 min bajo condiciones ambientales en ausencia de luz, la absorbancia a 750 nm fue ajustada a 0.650 ± 0.02 usando metanol 80%(v/v). Posteriormente, 50 µL del estándar o muestra se mezclaron con 2.95 mL de la solución de $DPPH^{\bullet}$-metanol, la absorbancia fue monitoreada a 517 nm hasta obtener 3 lecturas constantes. El porcentaje de inhibición en ambos ensayos se estimó como: % de inhibición = $[(A_0-A_F)/ A_0)] \times 100]$ donde A_0 y A_F son las absorbancias iniciales y finales respectivamente. Las curvas estándar de ambos ensayos fueron obtenidas por extrapolación, empleando Trolox como agente oxidante de referencia y la actividad antioxidante se expresó como microgramos de Equivalente Trolox por gramo de fruta fresca (µg ET/100 g PF).

Secado por aspersión

Los polímeros (MD, GA) fueron agregados al jugo de *A. compressa* para preparar soluciones al 10% de maltodextrina (MD10), 20% maltodextrina (MD20) y 2% goma Arábiga (GA2). Las soluciones se homogenizaron hasta formar una mezcla coloidal completa. El secado se realizó a 190°C (temperatura de entrada) y 80°C (temperatura de salida) a una velocidad constante de alimentación de 5 mL/min.

Las diferencias estadísticas se determinaron utilizando un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y una prueba de Tukey a una $P<0.05$, usando el software estadístico Minitab® Statistic 17.

Resultados y discusión

Microencapsulados

Las fotografías representativas de las morfologías de las microcápsulas de los diferentes agentes encapsulantes (MD y GA) observadas a 400X, se presentan en la Figura 1. Las microcápsulas obtenidas son de tamaño variable que rondan entre 1-5 µm, de forma esférica con una superficie lisa y mononuclear, con un núcleo conformado por los polímeros y los compuestos con propiedades antioxidantes adheridos en la periferia (Figura 1 A y 1B), tamaños similares de partícula fueron publicados en 2009 por Seneida *et al.,* [20]. Con respecto a la maltodextrina con equivalentes de dextrosa (DE) entre 28-31, se han reportado tamaños entre 3 y 20 µm, esta diferencia se atribuye al grado de polimerización de la dextrosa, a mayor grado de polimerización corresponde un mayor tamaño molecular [11,21].

 ISSN 2007-8102

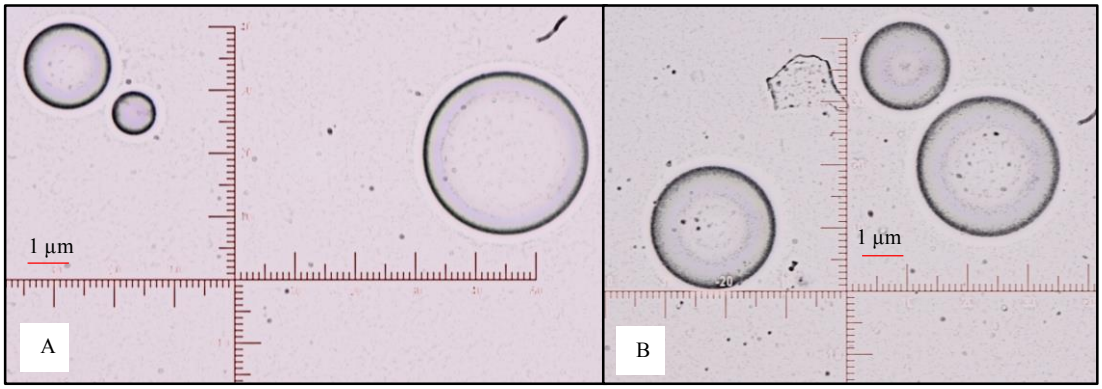


Figura 1. Micrografías de microcápsulas de *A. compressa* en 400X. A). Microcápsulas de Maltodextrina, B) Microcápsulas de Goma Arábiga.

Secado por Aspersión

Las microcápsulas obtenidas por secado por aspersión con ambos polímeros, muestran una apariencia de sólidos microscópicos de color rosa intenso (Figura 2 A y 2 B). También, se observó que el grado de compactación de las microcápsulas de GA fue mayor con respecto a las obtenidas con MD, este comportamiento es atribuible a una mayor fuerza de atracción intermolecular entre las cápsulas de GA en contraste con las microcápsulas de MD, que causan la adsorción del agua del medio ambiente.

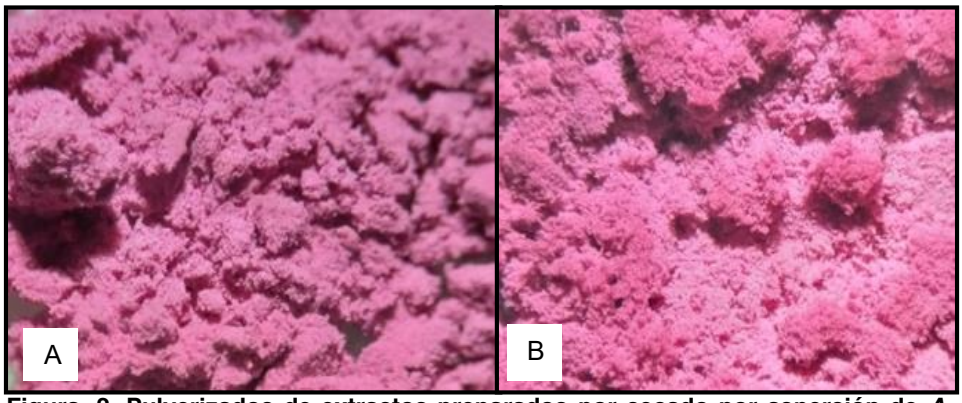


Figura. 2. Pulverizados de extractos preparados por secado por aspersión de *A. compressa*. A) Cápsulas de goma Arábiga (GA) y B) Cápsulas de maltodextrina (MD).

Conforme a la Tabla 1, se observa que el porcentaje de humedad de los microencápsulados es mayor en los encapsulados con GA2 en comparación con los encapsulados de MD10 y MD20, con valores de 4.92, 2.06 y 1.03% respectivamente, el mismo comportamiento se observa con respecto a la actividad de agua. Estos datos coinciden con los publicados por otros autores [22, 23], quienes reportan que la humedad disminuye en función de la concentración del polímero en muestras de papa morada (*Ipomoea batatas* L) y maracuyá (*Passiflora edulis*). La baja humedad obtenida y las condiciones de proceso empleadas, nos permiten inferir una baja interacción entre las partículas del pulverizado, lo cual reduce la compactación y las dimensiones de las mismas.

 Registro ISSN en trámite ante INDAUTOR 937

 ISSN 2007-8102

Tabla. 1. Contenido de humedad (%) y actividad de agua (a_w) en microcápsulas de *A. compressa*.

Tratamientos	Humedad (%)	Actividad de agua (a_w)
Jugo fresco	90.78	------
MD10	2.06	0.280
MD20	1.32	0.205
GA	4.92	0.314

Efecto de la matriz polimérica sobre el contenido de FT

Los valores de FT del jugo fresco (Figura 3), concuerdan a los reportados por Elvia, *et al.,* [16]. Además, los contenidos de FT en los encapsulados varían entre 472 ± 25.2 - 187 ± 8.75 mg EAG/100 g PF y son menores al correspondiente del jugo fresco (1280 ± 9.6 mg EAG/100 g PF). Estos bajos valores en el contenido de FT de frutas deshidratadas por aspersión coinciden con lo publicado en la literatura [11], esto es atribuible a la termosensibilidad de los compuestos fenólicos. En los pulverizados de *A. compressa* también se observa que, entre el intervalo de concentraciones evaluadas de maltodextrina, el contenido de FT no mostró una diferencia significativa para las muestras MD10 y MD20, pero si fueron estadísticamente diferentes al compararla con la muestra GA2, esta diferencia es atribuible a las diferentes concentraciones evaluadas entre ambos polímeros.

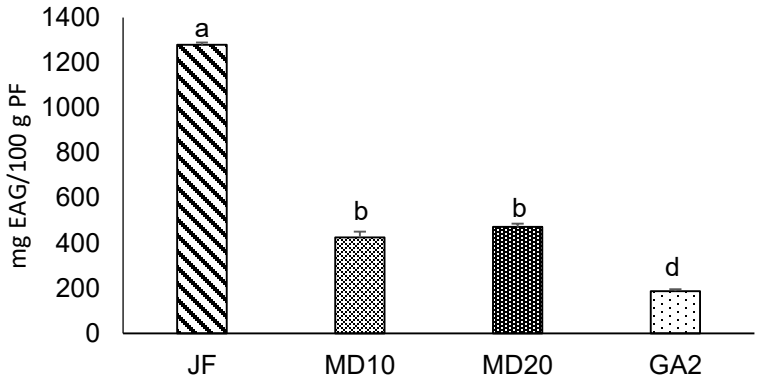


Figura 3. Contenido de FT del jugo fresco y de los microencapsulados de *A. compressa*.

Efecto de la matriz polimérica sobre el potencial antioxidante

Los resultados empleando el radical $ABTS^{\bullet+}$ como agente oxidante muestran que las concentraciones de maltodextrina evaluadas (Figura. 4), no tuvieron efecto significativo sobre la capacidad antioxidante de las cápsulas de *A. compressa*, conservando entre el 39.5% (MD10) y 49.6% (MD20) de la capacidad antioxidante del jugo fresco. Sin embargo, la goma Arábiga conservó el 14.7% de la capacidad antioxidante para este mismo agente oxidante. Los resultados presentaron el mismo comportamiento cuando se utilizó el radical $DPPH^{\bullet}$ como agente antioxidante. Guyen and Roach [10], en cápsulas de *Momordica cochinchinensis* reportaron pérdida del 42.9% de la actividad antioxidante cuando aumento la temperatura de secado de 120 a 200°C. Por otra parte, Tonon *et al*. [11], obtienen a 140°C pulverizados de *Euterpe oleracea* que conservan el 92.1% de la actividad antioxidante. Adicionalmente, los resultados también indican que el uso de maltodextrina y goma Arábiga afectan significativamente la capacidad antioxidante de las cápsulas obtenidas por aspersión a las condiciones evaluadas.

 Registro ISSN en trámite ante INDAUTOR 938

 ISSN 2007-8102

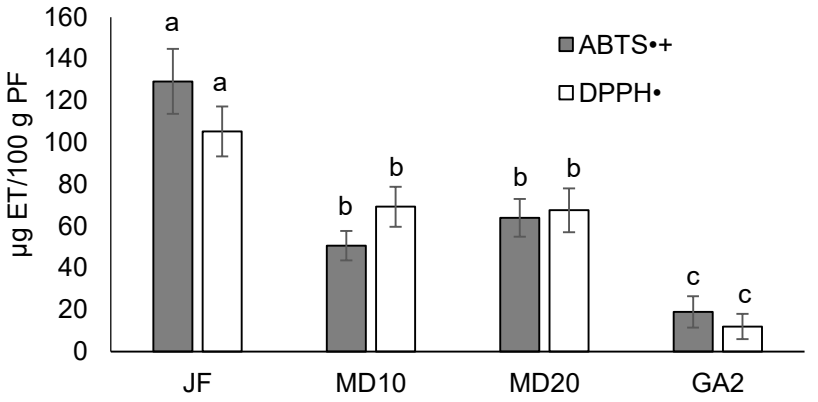


Figura 4. Capacidad antioxidante del jugo fresco y los microencapsulados de *A. compressa*.

Trabajo a futuro

El trabajo a futuro considera emplear otros materiales encapsulantes a diferentes concentraciones y optimizar las condiciones del secado por aspersión. Por otra parte, realizar microscopia electrónica de barrido para caracterizar morfológicamente las microcápsulas. Además, caracterizar las partículas deshidratadas y evaluar la estabilidad de la capacidad antioxidante de las microcápsulas en el curso del almacenamiento.

Conclusiones

Se utilizó un protocolo para encapsular el jugo de *A. compresa* empleando un secador de aspersión, maltodextrina y goma Arábiga como materiales de pared, obteniendo tamaños de cápsula entre 1- 5 µm. Los resultados demuestran que los encapsulados conservan contenidos de FT y potencial antioxidante menores al jugo fresco. Empleando maltodextrina al 10 y 20%, la concentración de polímero no fue significativa sobre el contenido de FT, el mismo comportamiento fue observado sobre la capacidad antioxidante. Los resultados demuestran la factibilidad de utilizar el secado por aspersión y matrices poliméricas como un método para conservar las propiedades antioxidantes de *A. compresa*.

Agradecimientos

Gracias al financiamiento del TecNM que hizo posible ejecutar el proyecto “Efecto de la matriz polimérica sobre la actividad antioxidante de microcápsulas de *Ardisia compressa* K. secadas por aspersión” con clave 5939.19 – P. Agradecimiento especial a la Ing. Bioquímica Aurora Franco Álvarez por su apoyo para realizar este proyecto.

Referencias

[1] A., Jiménez-Escrig, M., Rincón, R., Pulido, and F., Saura-Calixto, “Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 49, no. 11, pp. 5489-5493, 2001.

[2] L. P., Leong, and G. Shui. "An investigation of antioxidant cápacity of fruits in Singapore markets", *Food Chemistry,* vol. 76, no. 1, pp 69-75, 2002.

[3] M., Martinez-Tome, A. M., Jimenez, S., Ruggieri, N., Frega, R., Strabbioli, and M. A., Murcia, “Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives”, *Journal of Food Protection*, vol. 64*,* no. 9, pp 1412-1419, 2001.

[4] R., Carrasco, and C. R., Encina Zelada, “Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas”, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, vol. *74*, no. 2, pp 108-124, 2008.

[5] C. P., Champagne and P., Fustier, “Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods”, *Current Opinion in Biotechnology*, vol.18, no. 2, pp 184-190, 2007.

[6] M. L. F. F., Ribeiro, Y. H., Roos, A. P. B., Ribeiro, and V. R., Nicoletti, “Effects of maltodextrin content in double-layer emulsion for production and storage of spray-dried carotenoid-rich microcapsules”, *Food and Bioproducts Processing*, vol. 124, pp 208-221, 2020.

[7] S. P., Dhakal, and J., He, “Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review”, *Food Research International*, vol. 137, pp 109326, (2020).

[8] G., Ozkan, P., Franco, I., De Marco, J., Xiao, and E., Cápanoglu, “A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications”, *Food Chemistry*, vol. 272, pp 494-506, 2019.

[9] F. D. B., Abadio, A. M., Domingues, S. V., Borges, and V. M., Oliveira, “Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice—effect of malt dextrin concentration and atomization speed”. *Journal of Food Engineering*, vol. 64, no. 3, pp 285-287, 2004.

[10] C. K., Tuyen, M. H., Nguyen, and P. D., Roach, “Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder”, *Journal of Food Engineering*, vol. 98, no. 3, pp 385-392, 2010.

[11] R. V., Tonon, C., Brabet, and M. D., Hubinger, “Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents”, *Food Research International*, vol. 43, no. 3, pp 907-914, 2010.

[12] T. H., Tran, M. H., Nguyen, D., Zabaras, and L. T., Vu, “Process development of Gac powder by using different enzymes and drying techniques”, *Journal of Food Engineering*, vol. 85, no. 3, pp 359-365, 2008.

[13] C. A., Nayak, and N. K., Rastogi, “Effect of selected additives on microencápsulation of anthocyanin by spray drying”, Drying Technology, vol. 28, no. 12, pp 1396-1404. 2010.

[14] C. C., Ferrari, S. P. M., Germer, and J. M., de Aguirre, “Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder”, Drying Technology, vol. 30, no. 2, pp154-163, 2012.

[15] Z., Fang, and B., Bhandari, “Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols”, *Food Chemistry*, vol. 129, no. 3, pp 1139-1147, 2011.

[16] J. C., Elvia, D., Monserrat, G. C., Leticia, S. M., Yolanda, S.B., Celestino, G. S., Carolina “Anthocyanin and phenolic characterization, chemical composition and antioxidant activity of chagalapoli (Ardisia compressa K.) fruit: A tropical source of natural pigments”, *Food Research International*, vol.*70*, pp 151-157, 2015.

[17] V. L., Singleton, and J. A., Rossi, “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”, *American journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, no. 3, pp 144-158, 1965.

[18] R., Re, N., Pellegrini, A., Proteggente, A., Pannala, M., Yang, and C., Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9-10, pp 1231-1237, 1999.

[19] A., Floegel, D. O., Kim, S. J., Chung, S. I., Koo and O. K., Chun, “Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant cápacity in popular antioxidant-rich US foods”, *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 24*,* no. 7, pp 1043-1048, 2011.

[20] M. L., Seneida, G.O., Cielo, C.R., Carlos, G.C. y G.C. Cecilia, “Desarrollo y caracterización de micropartículas de ácido fólico formadas por secado por aspersión, utilizando goma arábiga y maltodextrina como materiales de pared”, *Vitae*, vol. 16, no. 1, pp 55-65, 2009.

[21] S., Ersus and U., Yurdagel, “Microencápsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucus carota L.) by spray drier”, *Journal Food Engineering*, vol. 80, no. 3, pp 805-812, 2007.

[22] M., Ruiz-Cabrera, L., Espinosa, C. Aviles, R. González, M. Moscosa, A. Grajales and M. Abud, “Spray-Drying of Passion Fruit Juice Using Lactose-Maltodextrin Blends as the Support Material”, *Brazilian Archives of Biology Technology*, vol. 52, no. 4, pp 1011-1018, 2009.

[23] M., Ahmed, M., Sorifa and J. Eun, “Impact of α-amylase and maltodextrin on physicochemical, functional and antioxidant cápacity of spray-dried purple sweet potato flour,” *Journal Science Food Agricultural,* vol. 90, no. 3, pp 494–502, 2010.