

Estabilidad fisicoquímica de microcápsulas de col morada secadas por aspersión en frío

M. P. Rascón Díaz¹, E. Flores Andrade¹, M. Castillo Morales¹, K.P. Alfonso López¹, E. Bonilla Zavaleta^{1*}
¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Prol. Oriente 6 No. 1009, Rafael Alvarado, C.P. 94340, Orizaba, Veracruz, México
*enbonilla@uv.mx
Área de participación: Ingeniería Alimentos

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto protector de dos materiales de pared (maltodextrina 10DE y goma arábica) sobre el contenido de antioxidantes presentes en la col morada y en las microcápsulas de col morada obtenidas por aspersión en nitrógeno líquido y liofilizadas durante el almacenamiento a una temperatura de 25°C. Los resultados mostraron que los dos materiales de pared lograron una favorable retención en la encapsulación de los antioxidantes presentes en la col morada. De acuerdo con los análisis realizados de actividad antioxidante, polifenoles totales, antocianinas y color, se demostró mayor contenido en cada uno de estos con respecto al extracto solo (sin encapsular). Se comprobó que el método de encapsulación utilizando secado por aspersión en frío y una posterior liofilización permite mejorar la estabilidad de compuestos antioxidantes.

Palabras clave: aspersión en frío, liofilización, antioxidantes, maltodextrina, goma arábica.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the protective effect of two wall materials (maltodextrin 10DE and gum arabic) on the content of antioxidants present in purple cabbage microcapsules obtained by spray chilling and freeze-dried during storage at a temperature of 25 ° C. The results showed that the two wall materials achieved a favorable retention in the encapsulation of the antioxidants present in the purple cabbage. According to the analysis of antioxidant activity, total polyphenols, anthocyanins and color, it was demonstrated greater contents in each of these parameters with respect to the extract alone. It was proved that the use of spray chilling as a method to encapsulate followed by lyophilization, is an efficient method to enhance the stability of antioxidant compounds.

Key words: spray chilling, lyophilization, antioxidants, maltodextrin, Arabic gum.

Introducción

El estilo de vida actual puede promover inadecuados hábitos alimenticios, consumiendo alimentos con baja calidad nutricional y pobre capacidad antioxidante. Esto ha causado graves problemas de salud en nuestra sociedad como la desnutrición y la obesidad, así como el aumento de diversas enfermedades crónico-degenerativas, como una consecuencia del estrés oxidativo. Las plantas, hierbas y vegetales utilizados en la medicina tradicional han ganado una amplia aceptación como fuente de fitoquímicos que previenen enfermedades. Por esta razón la información global sobre las propiedades antioxidantes de los productos naturales es relevante en el campo de la nutrición y en el desarrollo de nutraceuticos.

Los compuestos antioxidantes poseen la facultad de proteger a las células contra el daño oxidativo, el cual provoca envejecimiento y enfermedades degenerativas, tales como el cáncer enfermedades cardiovasculares y diabetes [Escobar, 2010]. Los cambios en la oxidación de los alimentos son los responsables de la pérdida del sabor debido a la formación de compuestos que reducen la calidad sensorial y nutricional de éstos [Middleton y Kandaswami 1994; Mattaus, 2002].

La creciente demanda de productos con aspecto fresco, ha promovido el empleo de métodos alternativos de conservación, que además no modifiquen los componentes intrínsecos del alimento. El consumo de alimentos

sanos ha sido un tema de interés, sobre todo aquellos que garanticen la inocuidad, las características nutrimentales y los aspectos sensoriales del mismo.

El empleo de métodos alternativos al tratamiento térmico con el uso de las denominadas tecnologías emergentes, ha logrado mayor auge actualmente. Las tecnologías en alimentos buscan satisfacer las necesidades del consumidor para obtener productos frescos y con características nutrimentales y de inocuidad adecuados. Torrest y col., [2014] indicaron que el empleo del ultrasonido en la extracción de curcumina a partir de su fuente natural constituye un novedoso y eficiente método, que puede ser empleado en el aislamiento de otros productos naturales. Azuola y Vargas [2007] determinaron que la extracción asistida por ultrasonido es más eficiente que la extracción por métodos tradicionales y que también puede asistir a métodos de extracción no convencionales.

Metodología

Materiales

La col morada fue obtenida en el mercado local de Orizaba, Veracruz. Fue mantenida en refrigeración para evitar el deterioro y la pérdida de sus propiedades. Los criterios tomados en cuenta para el manejo de la materia prima fueron que no presentaran daños físicos (ruptura, decoloración y secado del vegetal, presencia de hongos o microorganismos) que pudieran modificar o alterar los análisis a realizar. Para la extracción acuosa de antioxidantes se utilizó el procesador ultrasónico (Modelo CPX750, Cole-Parmer, USA). Los reactivos utilizados fueron agua tridestilada y etanol puro obtenido de una distribuidora local, Folin-Ciocalteau (Aldrich, México), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Sigma-Aldrich, México) HCl concentrado, carbonato de sodio (99.5 %) (Aldrich, México). Así como microclimas a 8 diferentes humedades relativas.

Extracción acuosa de antioxidantes utilizando el procesador ultrasónico

La preparación del extracto acuoso se realizó en un vaso de vidrio al cual se le adicionaron 150 mL de agua tridestilada y 50 g de col morada finamente picada y una temperatura de 25 °C [Reyes y col., 2009]. La extracción sólido/líquido fue elaborada utilizando la relación 1:4 p/v (col morada: agua). Posteriormente, la solución obtenida se sometió a homogenización utilizando un procesador ultrasónico (600 W) por un tiempo de 10 minutos (Modelo CPSX750, Cole-Parmer, USA). Se utilizó concentrado de proteína de suero de leche como agente encapsulante. La extracción se realizó de acuerdo con lo reportado por Ertugay y col., [2004].

Actividad antioxidante por ensayo de DPPH

El método que se empleó en este trabajo para la medición de antioxidante es el propuesto por Brand-Williams y col., [1995], realizando modificaciones de acuerdo con lo reportado por Mrinova y Batchvarov [2011]. Este método permite evaluar la actividad de sustancias con características antioxidantes frente al radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). La solución madre de DPPH (0.1M) se preparó pesando 0.0040 g de reactivo DPPH y posteriormente se agregó etanol absoluto hasta aforar a un volumen de 100 mL. Se dejó reposar durante 30 min y se midió el valor de la absorbancia. Este valor debe estar en el intervalo de 1 a 2. Se calibró el espectrofotómetro utilizando como blanco etanol puro absoluto.

Determinación de polifenoles totales

La concentración de polifenoles totales es medida por espectrofotometría basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado es el reactivo de Folin-Ciocalteau. Se utilizó como referencia una solución patrón de ácido gálico [Arbayza y col., 2014]. El procedimiento para la determinación del contenido de polifenoles totales se llevó a cabo en el siguiente orden: a cada frasco ámbar se le adicionaron 6 mL de agua tridestilada y 1 mL de extracto (homogenizado entre muestra y muestra). Se hicieron diluciones seriadas, pasando de un tubo a otro 1000 µL de extracto hasta completar la serie. Se le adicionó un volumen de 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteau, se homogenizó y se dejó reposar durante 5 minutos protegidos de la luz. Posteriormente, se añadieron 1.5 mL de solución acuosa de carbonato de sodio al 20% y se agrega agua tridestilada hasta alcanzar un volumen final de 10 mL de solución. Se dejó reposar 2 horas y posteriormente se midió el valor de la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro UV-Visible (Thermo Scientific Evolution 260-BIO).

Para poder calcular y expresar el contenido de polifenoles como equivalente de ácido gálico se realizó una curva de calibración con ácido gálico, manteniéndose constante el volumen del reactivo de Folin-Ciocalteu en 500 μ L y de carbonato de sodio en 1.5 μ L. Es importante destacar que la medición de la cantidad de polifenoles totales se le realizó al extracto acuoso antes de mezclarlo con el protector coloidal, a la solución de extracto acuoso antes de mezclarlo con el protector coloidal, a la solución de extracto/protector coloidal homogenizada y al polvo obtenido del secado por aspersión en frío con nitrógeno líquido que estuvieron en equilibrio en 8 diferentes a_w .

Determinación de antocianinas

La determinación de antocianinas monoméricas presentes se llevó a cabo por duplicado. Se tomó una alícuota de 1 mL por cada muestra y se le adicionaron 4 mL de solución buffer KCl (cloruro de potasio) con pH de 1.0. Se prepararon independientemente una dilución de 1 mL de extracto con la solución buffer de acetato de sodio con pH 4.5 [Lee y col., 2005].

Secado por aspersión en frío

En un prototipo de secado por aspersión en frío, se asperjó la solución extracto/material por medio de una bomba peristáltica durante 5 minutos sobre un recipiente el cual contenía aproximadamente 20 mL de nitrógeno líquido, donde se congeló la solución para dar paso a la formación de las microcápsulas. El polvo obtenido se colocó en frascos ámbar para evitar que los compuestos que son sensibles a la luz se degradaran. Posteriormente las muestras se colocaron en liofilizador (Labconco Freezone 4.5 series, E.U.A.) el cual se encontraba a -80 °C y una presión de 0.010 mbar; las muestras fueron mantenidas en estas condiciones durante 96 horas. Al final del proceso se obtuvo un polvo muy fino que fue utilizado para la realización de las isotermas de adsorción y para los análisis de antioxidantes correspondientes.

Análisis estadístico

El software estadístico Kaleida Graph 4.0 (Synergy Software, Reading, PA, E.U.A) y el programa Excel (Microsoft Co. E.U.A.) fueron utilizados en este trabajo para realizar los cálculos necesarios y las gráficas correspondientes como una herramienta más para la realización de análisis de resultados. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existían diferencias significativas entre los resultados obtenidos de los parámetros estudiados. De igual forma se realizó una prueba de Tukey HSD con $p < 0.05$. Todas las mediciones realizadas en este trabajo fueron hechas por triplicado.

Resultados y discusión

Caracterización del extracto de col morada

En la Tabla 1 se muestran los resultados de los parámetros analizados al extracto obtenido de la col morada por medio del procesador ultrasónico. Posteriormente se utilizó para la preparación de las soluciones acuosas y con la solución extracto/material de pared para el secado por aspersión en frío y liofilización. Los análisis realizados fueron: actividad antioxidante por el método de DPPH, la cantidad de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, antocianinas por el método de pH diferencial y la intensidad del color utilizando un colorímetro Konica minolta chromameter cr-400.

Tabla 1. Resultados de la caracterización del extracto de col morado

PARÁMETRO	RESULTADO
Actividad antioxidante	16.40 \pm 0.40%
Polifenoles totales	366.67 \pm 0.48 EAG/L
Antocianinas	138.60 \pm 0.42 mg/L
Color (ΔE)	22.85 \pm 1.03

De acuerdo con lo reportado por Galván y col., [2012], La cuantificación de polifenoles en muestras de extractos de *Aronia melanocarpa* es de 200 mg EAG/L; Los resultados del extracto de col morada mostraron un mayor contenido de polifenoles reportándose un valor de 366.67 EAG/L. Hernández [2015] reportó una concentración de polifenoles totales en el extracto de col morada de 354.65 EAG/L a las mismas condiciones de potencia y tiempo (80% a 10 minutos). Según lo reportado por Camelo (2013), demostró que el extracto acuoso de jamaica tipo Sudán presentó un contenido de antocianinas de 129.30 ± 14.67 mg cianidina 3-glucósido/L, por lo cual el extracto de col morada presenta un mayor contenido de esta antocianina con respecto a la jamaica.

Caracterización de las soluciones acuosas de col morada con material de pared

Se preparó aproximadamente 1L de solución de extracto/material de pared (p/v) con una concentración de 20% de sólidos totales. En las Tablas 2 y 3 se pueden observar los parámetros obtenidos de los análisis correspondientes a cada solución de extracto/material de pared.

Tabla 2. Caracterización del extracto/MD 10DE

PARÁMETRO	RESULTADO
Actividad antioxidante	$26.51 \pm 0.50\%$
Polifenoles totales	397.00 ± 0.48 EAG/L
Antocianinas	223.77 ± 0.40 mg/L
Color (ΔE)	21.64 ± 1.10

Tabla 3. Caracterización del extracto/GA

PARÁMETRO	RESULTADO
Actividad antioxidante	$20.48 \pm 0.39 \%$
Polifenoles totales	382.00 ± 0.45 EAG/L
Antocianinas	142.78 ± 0.39 mg/L
Color (ΔE)	19.96 ± 0.55

De acuerdo con los resultados obtenidos de la actividad antioxidante, polifenoles y antocianinas presentes en la solución extracto/material comparado con la del extracto acuoso, se logró observar que en las soluciones en donde se utiliza un agente encapsulante (MD 10DE y GA) tuvieron un incremento significativo en los valores analizados. Se observa que el uso de MD 10DE permite obtener mayores valores de actividad antioxidante, polifenoles totales, antocianinas, así como una mayor variación total del color (DE) con respecto al tratamiento en donde se utiliza la goma arábiga como encapsulante. Estos resultados fueron demostrados a través de un análisis de varianza y una prueba de Tukey HSD.

Determinación de parámetros de microcápsulas de col morada secados por aspersion en frío

Las Tablas 4 y 5 muestran los resultados de los análisis de las microcápsulas obtenidas del secado por aspersion en frio después de ser colocadas en equilibrio en presencia de P_2O_5 durante cinco semanas.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de microcápsulas de maltodextrina (MD 10DE)

PARÁMETRO	RESULTADO
Actividad antioxidante	25.93 ± 1.02%
Polifenoles totales	421.33 ± 0.51 EAG/g s.s.
Antocianinas	194.96 ± 0.45 mg/L
Color (ΔE)	51.67 ± 0.26

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de microcápsulas de goma arábica (GA)

PARÁMETRO	RESULTADO
Actividad antioxidante	14.48 ± 0.61%
Polifenoles totales	412.00 ± 0.44 EAG/g s.s.
Antocianinas	146.53 ± 41 mg/L
Color (ΔE)	61.31 ± 0.01

Los resultados de la caracterización del extracto/material de MD 10DE mostrados en la Tabla 2 comprueban que la actividad antioxidante y el contenido de antocianinas presentan una disminución significativa con respecto a los valores obtenidos en la caracterización de las microcápsulas (Tabla 4). Por otra parte, el contenido de polifenoles y la variación total de color presentan un aumento significativo. Al realizar una comparación de los resultados obtenidos de la caracterización del extracto/material de GA (Tabla 3), con respecto a las microcápsulas, se observa una disminución significativa en la actividad antioxidante, mientras que el contenido de polifenoles totales, antocianinas y variación de color se presenta un aumento (Tabla 5).

Contenido de polifenoles totales

En la Figura 1 se muestra el efecto de la a_w sobre la degradación de polifenoles en las microcápsulas de col morada, utilizando como agente encapsulante la MD 10DE y la GA secadas por aspersión en frío y liofilizadas, las cuales posteriormente fueron almacenadas a diferentes a_w a una temperatura de 25°C por un mes. En esta figura se observa el resultado de la evaluación de los dos agentes encapsulantes, lo cual mostró una degradación constante en todo el intervalo de a_w (0.1 a 0.8) en la GA, mientras que en la MD 10DE se observa una constante degradación hasta una a_w de 0.5. Se observó que la GA tiene mayor retención del contenido de polifenoles presentes en las microcápsulas con respecto a la MD 10DE, aunque para evitar la degradación es recomendable almacenar a a_w menores a 0.6, ya que a mayor valor se presenta una inestabilidad de las microcápsulas causadas por la adsorción de humedad y un deterioro de su estructura.

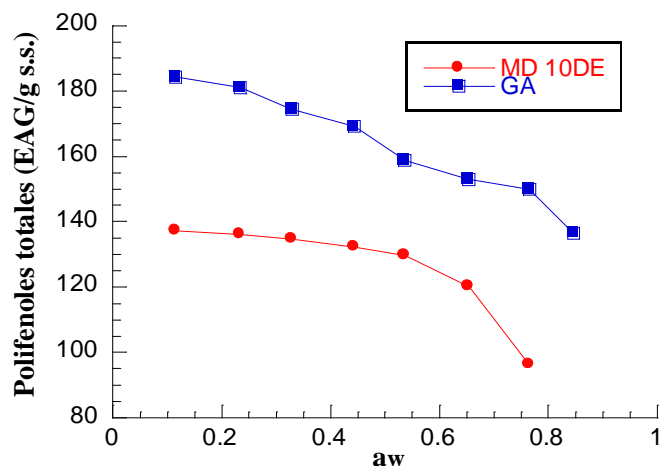


Figura 1. Variación del contenido de polifenoles totales con respecto a la a_w en microcápsulas de col morada utilizando MD 10DE y GA almacenada a 25 °C

Concentración de antocianinas

Los resultados mostrados en la Figura 2, muestran el efecto de la degradación de antocianinas de las microcápsulas de col morada secadas por aspersión en frío y liofilizadas almacenadas a una temperatura de 25°C por 30 días. En esta figura se muestra una disminución constante en la concentración de cianidina 3-glucósido hasta una a_w de 0.4 en los dos materiales de pared utilizados. Se determinó que la MD 10DE presenta una mayor retención del contenido de cianidina 3-glucósido con respecto a la GA.

Es por ello que para efectos de almacenamiento es recomendable almacenar a a_w menores de 0.4, ya que a intervalos mayores se ha demostrado un cambio drástico en la concentración de cianidina 3-glucósido provocando la liberación de estas causada por la ganancia de humedad que crea un sistema inestable causando un colapso estructural en las microcápsulas de col morada. La conservación de este pigmento es de suma importancia ya que es el compuesto responsable del color característico de la col morada.

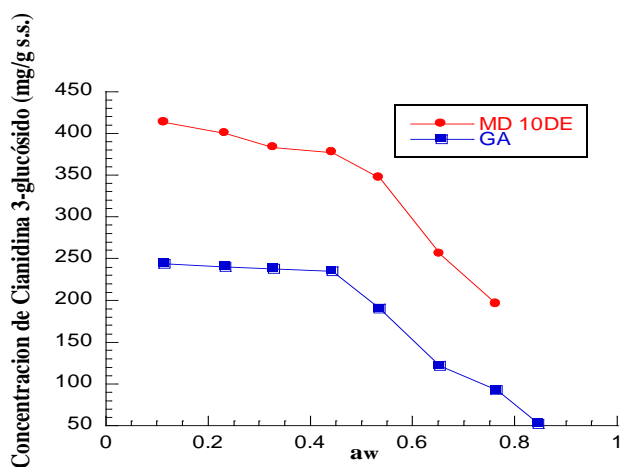


Figura 2. Variación de la concentración de antocianinas con respecto a la a_w de col morada utilizando MD 10DE y GA almacenadas a 25 °C

Evaluación de la actividad antioxidante

En la Figura 3 se muestra la variación de la actividad antioxidante de col morada utilizando MD 10DE y GA como protector coloidal almacenadas a una temperatura de 25°C por 30 días. Los resultados obtenidos muestran el efecto de la a_w sobre la actividad antioxidante de las microcápsulas de col morada secadas por aspersión en frío y liofilizadas. Se observa una disminución constante de la actividad antioxidante en todo el intervalo de a_w de 0.1 hasta 0.8. Esta tendencia de degradación se similar para los dos materiales de pared.

Se determinó que la MD 10DE y la GA tienen un efecto protector, aunque para obtener microcápsulas con mayor retención de contenido de actividad antioxidante, se recomienda el uso de MD 10DE como agente encapsulante a a_w menores de 0.5, ya que a mayor valor de a_w se ejerce un cambio provocando la pérdida de la actividad antioxidante y dando lugar a la adsorción de agua, lo que provoca un colapso a la estructura de las microcápsulas de col morada.

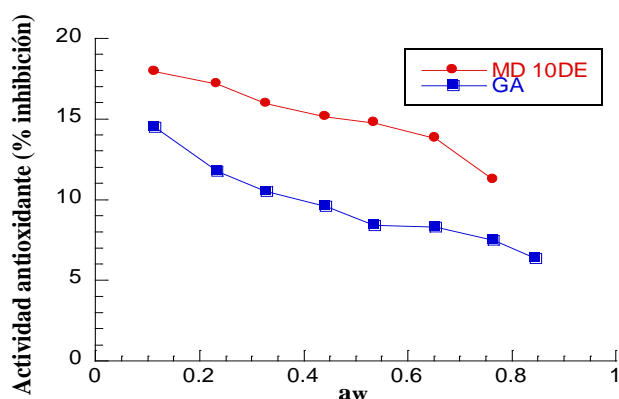


Figura 3. Variación de la actividad antioxidante (% de inhibición) con respecto a a_w en microcápsulas de col morada utilizando MD 10DE y GA almacenadas a 25 °C

Conclusiones

Los resultados obtenidos en la actividad antioxidante demostraron que los dos materiales de pared utilizados (MD 10DE y GA) tienen una misma tendencia en la degradación, aunque para obtener la mayor retención de la concentración de la actividad antioxidante en el almacenamiento es recomendable utilizar la MD 10DE como protector coloidal. Se demostró que el método de secado por aspersión en frío permite la protección de antioxidantes presentes en la col morada. Los parámetros analizados, sugieren que las condiciones adecuadas para almacenar microcápsulas con antioxidantes de la col morada, deben ser a a_w menores a 0.6. Este valor de a_w reducirá significativamente la degradación de compuestos bioactivos de la col morada.

Referencias

1. Arbayza F. J., Ruiz R. S., Venegas E., Ruidias R. D. y Cosavalente B. K. 2014. Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuoso obtenidos de *Punica granatum* y su relación con el contenido de polifenoles. *Revista Farmaciencia*. 2(2): 50-55.
2. Azuola R. y Vargas P. 2007. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Revista Tecnología en Marcha*. 20(4): 30-40.
3. Camelo M. G. A. 2013. Caracterización química y colorimétrica de cultivares de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec de Zaragoza, Morelos. 115p.
4. Ertugay M. F., Şengül M. and Şengül M. 2004. Effect of ultrasound treatment on milk homogenisation and particle size distribution of fat. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 28: 303-308
5. Escobar B. M. 2010. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, México. 114p.

6. Galván D´A. L., Dimitrov K., Vauchel P and Nikov I. 2014. Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) wastes. *Chemical Engineering Research and Design, Science Direct*. 92(10): 1818-1826.
7. Hernández De la C. L. 2015. Efecto del proceso de homogenización sobre la estabilidad oxidativa de extractos acuosos de col morada utilizando un protector coloidal. Tesis Profesional. Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 70p.
8. Lee J., Durst W. R. and Wrolstad R. E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 88(5): 1269-1278.
9. Marinova G. and Batchvarov V. 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17(1): 11-24.
10. Matthäus B. 2002. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50(12): 3444-3452.
11. Middleton Jr. E. and Kandaswami C. C. 1994. Potential Health-Promoting Properties of Citrus Flavonoids. *Journal Food Technology*. 48(11): 115-119.
12. Torres R. E., Guillén G. Z., Hermosilla E. R., Arias C. Q., Vogel C. y Almeida S. M. 2014. Empleo de ultrasonido en la extracción de curcumina a partir de su fuente natural. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 19(1): 14-20