

Propiedades termodinámicas de la oleorresina de chile habanero (*Capsicum Chinense*) microencapsulada en β -ciclodextrina
Thermodynamic properties of habanero chili oleoresin (*Capsicum Chinense*) microencapsulated in β -cyclodextrin

Irma Liliana Domínguez Cañedo¹, Cynthia Cano Sarmiento² y Rubí Viveros Contreras³

Palabras clave: oleorresina de chile habanero; β -ciclodextrina; propiedades termodinámicas; actividad de agua

Keywords: habanero chili oleoresin; β -cyclodextrine; thermodynamic properties; water activity

Recepción: 16-01-2018 / Aceptación: 27-04-2018

Resumen

Introducción: Las oleorresinas son extractos de naturaleza oleosa proveniente de los chiles, utilizadas como ingredientes para aportar sabor y aroma a muchos productos alimentarios. Sin embargo, son termolábiles y muy susceptibles a pérdidas de calidad durante el procesamiento o almacenamiento, siendo conveniente encapsular sus componentes bioactivos antes de ser utilizados como ingredientes alimentarios con la finalidad de que no se vea afectada su vida útil. Una metodología que nos permite recomendar las condiciones óptimas de almacenamiento de productos deshidratados es la propuesta por Beristain y Azuara (1990). Donde existe una zona de mínima entropía integral de las moléculas de agua. En la mínima entropía integral, el agua está menos disponible para reacciones de deterioro y el alimento conserva su calidad funcional.

Método: Oleorresina del chile habanero (OCH) fue encapsulada utilizando la técnica de inclusión molecular con β -ciclodextrina (β CD) para protegerla durante su almacenamiento. El complejo de inclusión molecular (OCH- β CD) se preparó en las proporciones 20:80 y 30:70 de oleorresina: β -ciclodextrina respectivamente, y fueron almacenadas por 5 semanas en un rango de actividad de agua (a_w) de 0.103-0.765, a una temperatura de 25, 35 y 45 °C. Se realizó el estudio de las propiedades termodinámicas para explicar el efecto de la temperatura y la a_w sobre la estabilidad en términos de la higroscopicidad de los encapsulados.

Resultados: Los resultados mostraron que el complejo de inclusión en la proporción 30:70 es más estable que el elaborado en la proporción 20:80, al ser menos higroscópico, presentar una

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz

²CONACYT-Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz

³CONACYT- Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. E-mail: rvivros@conacyt.mx

amplia zona de mínima entropía integral de alrededor de una a_w de 0.3-0.6 y menores valores del parámetro (ΔE) durante el almacenamiento a 25 °C.

Conclusión: De acuerdo con los análisis termodinámicos y las pruebas de la variación de ΔE , fue posible obtener la proporción adecuada de encapsulación (OCH- β CD), así como recomendar las mejores condiciones de temperatura y humedad durante el almacenamiento, para evitar cambios drásticos en el color, producto de la degradación térmica de los carotenoides presentes en las muestras.

Abstract

Introduction: Oleoresins are extracts of oily nature from chilies, used as ingredients to provide flavor and aroma to many food products. However, they are thermolabile and very susceptible to quality losses during processing or storage, it being convenient to encapsulate their bioactive components before being used as food ingredients in order that their useful life is not affected. A methodology that allows to recommend the optimal storage conditions for dehydrated products is the proposed by Beristain and Azuara (1990). Where there is a zone of minimum integral entropy of the water molecules. In the minimum integral entropy, water is less available for deterioration reactions and the food retains its functional quality.

Method: Habanero chili oleoresin (OCH) was encapsulated using the molecular inclusion technique with β -cyclodextrin (β CD) to protect it during storage. The molecular inclusion complex was prepared in the proportions 20:80 and 30:70 oleoresin: β -cyclodextrin, respectively, and stored for 5 weeks in a range of $a_w = 0.103-0.765$ at 25, 35 and 45 °C. The thermodynamic properties were analyzed to explain the effect of temperature and a_w on the encapsulates stability.

Results: The results showed that the inclusion complex in the 30-70 ratio is more stable than elaborated in the 20-80 ratio, being less hygroscopic, presenting a large zone of minimum integral entropy of around 0.3-0.6 a_w and smaller ΔE values during storage at 25 °C.

Conclusion: According to the thermodynamic analyzes and the tests of the variation of ΔE , it was possible to obtain the adequate proportion of encapsulation (OCH- β CD), as well as to recommend the best conditions of temperature and humidity during storage, in order to avoid drastic changes in the color, product of the thermal degradation of carotenoids present in the samples.

Introducción

Los pimientos o chiles como se denominan en México, son una buena fuente de nutrimentos o compuestos bioactivos como carbohidratos, azúcares, calcio, magnesio, β -carotenos, ácidos fenólicos, ácido ascórbico, tocoferoles y capsaicinoides.

Los capsaicionoides son responsables de la pungencia o picor, y son de gran importancia debido a que poseen una variedad de aplicaciones farmacéuticas, antimicrobiales e insecticidas, y en la industria de alimentos (Kurian & Starks, 2002, 956; Barbero *et al.* 2006, 3231; Singh *et al.* 2009, 3452), demostrando excelentes propiedades antioxidantes.

Las oleorresinas son extractos de naturaleza oleosa proveniente de los chiles, utilizadas como ingredientes para aportar sabor y aroma a muchos productos alimentarios (Restrepo, 2006, 43).

Sin embargo, muchos de los compuestos que son utilizados como ingredientes alimentarios para dar sabor y aroma característico, son termolábiles y muy susceptibles a pérdidas de calidad durante el procesamiento o almacenamiento, siendo conveniente encapsular sus componentes bioactivos antes de ser utilizados a diferentes escalas micro ($\geq 1\mu\text{m}$) o nano ($\leq 1\mu\text{m}$) dependiendo de la aplicación (Cho & Park, 2009, 297; Cano-Sarmiento *et al.* 2015, 145), como en el caso de las oleorresinas del chile habanero, que debido a la sensibilidad que presentan a la luz, la temperatura y al oxígeno, se ve afectada su vida útil (Krishnan *et al.* 2005, 95; Shaikh *et al.* 2006, 105).

Con la microencapsulación muchos compuestos pueden ser transformados en polvos, sistemas más estables, de fácil transporte, que pueden mezclarse más homogéneamente con el alimento, y además se puede tener un mayor control sobre el comportamiento y efecto biofarmacológico en el tracto gastrointestinal y liberar el compuesto bioactivo en un sitio específico de acción, lo que mejoraría su eficacia (Kanakdande *et al.* 2007, 536; Zaibunnisa *et al.* 2009, 165).

Por lo regular la microencapsulación se puede realizar mediante técnicas como secado por aspersión, aspersión por enfriamiento o congelamiento, liofilización, recubrimiento en lecho fluidizado, extrusión, coacervación, co-cristalización e inclusión molecular (Reineccius *et al.* 2002, 3272; Karathanos *et al.* 2007, 652; Astray *et al.* 2009, 1631; Cho & Park, 2009, 185).

De las técnicas de microencapsulación antes mencionadas, una de las más versátiles y en que se enfoca este trabajo, es el proceso de inclusión molecular, en el que moléculas individuales

quedan atrapadas o embebidas dentro de las cavidades del material de pared formando un complejo conocido como huésped-anfitrión. Los materiales de pared más conocidos de este tipo de microencapsulación son las ciclodextrinas (Reineccius *et al.* 2007, 409; Cho & Park, 2009, 185).

Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de glucosa, no tóxicos, formados por 6, 7 u 8 unidades de glucosa, llamados respectivamente α , β y γ - ciclodextrinas. Las β -ciclodextrinas son las más comúnmente empleadas para llevar a cabo la microencapsulación por inclusión molecular (Cho & Park, 2009, 185) debido al hecho de que las moléculas se encuentran fuertemente sostenidas dentro de su cavidad (Karathanos *et al.* 2007, 652), así mismo son las ciclodextrinas más accesibles y de menor precio, que proveen protección efectiva para cada componente individual presente en un sistema alimentario (Bhandari *et al.* 1998, 1494).

Por otra parte en los materiales encapsulados el estado físico de la matriz de encapsulación y su adsorción de humedad es crítico para detener el desarrollo de la oxidación durante el almacenamiento (Shimada *et al.* 1991). La estabilidad está muy influenciada por las características de adsorción de humedad y la microestructura de los alimentos (Flores *et al.* 2017). La termodinámica de la adsorción de agua en alimentos deshidratados ha despertado gran interés porque proporciona una interpretación más completa del fenómeno de isoterma de adsorción y ayuda a comprender mejor su mecanismo (Hassini *et al.* 2015; Alpizar *et al.* 2017).

De acuerdo a lo reportado por Beristain & Azuara (1990), existe una zona de mínima entropía integral donde se muestra un nivel adecuado de actividad de agua para obtener una máxima estabilidad de los productos deshidratados, puesto que en dicho nivel, el agua está menos disponible para que se lleven a cabo reacciones de deterioro (Beristain *et al.* 2002, 206; Azuara & Beristain, 2006, 1501; Domínguez *et al.* 2007, 359; Gutiérrez *et al.* 2007, 54; Viveros *et al.* 2013, 29).

El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades termodinámicas del complejo de inclusión molecular (OCH- β CD) en dos diferentes proporciones de preparación (20:80 y 30:70), a diferentes condiciones de temperatura y a_w para predecir sus condiciones de máxima estabilidad durante el almacenamiento.

Método

Materiales

Se utilizó oleoresina de chile habanero (OCH), AMCO de México, S.A., β -ciclodextrina (β CD), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO. USA). Acetona grado HPLC, y etanol grado reactivo, J.T. Baker (Center Valley, PA. USA). P_2O_5 , LiCl, $KC_2H_3O_2$, $MgCl_2$, K_2CO_3 , $Mg(NO_3)_2$, $NaNO_3$, NaCl y KCl (Sigma-Aldrich, México), fueron utilizadas para la determinación de las isothermas de adsorción.

Microencapsulación

Se utilizó un método de precipitación para preparar el complejo de inclusión OCH- β CD (Domínguez-Cañedo & Beristain Guevara, 2011; Domínguez *et al.* 2015, 152). 50 ± 0.01 g de β CD se disolvieron en 500 ml de una mezcla de etanol:agua (1:2) y se mantuvo a 55 ± 2 °C en agitación continua a 150 (rpm) aproximadamente, en una parrilla con agitador magnético (Scorpion Scientific Mod. A-50,022).

Se prepararon dos proporciones de OCH- β CD por separado, 20:80 y 30:70 (p:p) (Domínguez *et al.* 2015, 152), disolviendo en acetona 12.50 g de OCH para la proporción 20:80 y 21.43 ± 0.1 g para la proporción 30:70, para ser agregada lentamente a cada solución de β CD, manteniendo la agitación y la temperatura a 55 ± 2 °C.

Terminada la incorporación de la OCH a la β CD se suspendió la aplicación de calor, se cubrieron las mezclas y se mantuvieron en agitación por 4 h más. Las soluciones finales se refrigeraron entre 8-12 h a 4 °C. Los precipitados formados del complejo de inclusión molecular OCH- β CD se recuperaron mediante filtración y se secaron en un horno de convección con vacío (ShellLab Inc.) de 15 pulg Hg, a 50 °C, por 24 h.

Los complejos de inclusión OCH- β CD formados, se pesaron y colocaron en recipientes herméticos de color ámbar, con ambiente de nitrógeno y se almacenaron a 4° C. Cada preparación fue realizada y analizada por triplicado (Domínguez *et al.* 2015, 152).

Isotermas de adsorción

Los estudios de adsorción de agua fueron realizados usando el método gravimétrico propuesto por Lang *et al.* (1981). Se colocaron 1 ± 0.01 g de muestra en polvo, en desecadores conteniendo P_2O_5 durante una semana para alcanzar un contenido de humedad de cero.

Se prepararon soluciones saturadas de sales que permitían estabilizar las muestras a diferentes a_w (Tabla 1), de acuerdo con Labuza *et al.* (1985). La actividad de agua (a_w) fue medida utilizando el equipo AQUALAB con compensador de temperatura modelo CX2 (DECAGON Devices, Inc., Pullman WA. EUA).

Las muestras se colocaron en celdas de equilibrio que contenían las soluciones saturadas de sales a una temperatura constante de 25, 35 y 45 °C respectivamente. Cada tres días las muestras fueron pesadas en una balanza analítica (Ohaus Analytical Plus, AP210S, Parsippany, NJ, USA) y este procedimiento se repitió hasta alcanzar peso constante.

El contenido de humedad en el equilibrio se determinó para cada actividad de agua. Las pruebas se realizaron por triplicado y fueron ajustadas con el modelo de Henderson (Ecuación 1), usando el software KaleidaGraph (Synergy, Reading PA, USA). Se evaluó el coeficiente de determinación (R^2) y el porcentaje de error estándar (% EMR).

Tabla 1. Actividad de agua de las sales.

Formula	25°C	35°C	45°C
P ₂ O ₅	0.000	0.000	0.000
LiCl	0.115	0.108	0.103
KC ₂ H ₃ O ₂	0.234	0.215	0.197
MgCl ₂	0.329	0.318	0.309
K ₂ CO ₃	0.443	0.436	0.429
Mg(NO ₃) ₂	0.536	0.515	0.496
NaNO ₃	0.654	0.628	0.599
NaCl	0.765	0.743	0.727
KCl	0.846	0.821	0.786

$$X = \left[-\frac{\ln(1-a_w)}{k_1} \right] 1/K2 \quad (1)$$

Donde X = contenido de humedad de equilibrio (g H₂O / g s.s.), a_w = actividad de agua
 $k1$ y $k2$ = constantes propias del modelo.

Cálculo de las propiedades termodinámicas

El conocimiento de los datos de adsorción del agua a diferentes temperaturas hace posible un análisis termodinámico del sistema alimento-vapor de agua.

Los cambios de entalpía integral $(\Delta H_{int})_T$ (J/mol) de las muestras a diferentes actividades de agua fueron determinadas usando la ecuación de Othmer, (1940), Ecuación 2.

$$\frac{d \ln P_V}{d \ln P_V^0} = \frac{H_v(T)}{H_V^0(T)} \quad (2)$$

Donde P_v (atm) es la presión de vapor de agua en la muestra, P_v^0 (atm) es la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura de sorción, $H_v(T)$ (J/mol) es el calor molar integral de sorción, $H_v^0(T)$ es el calor de condensación del agua pura.

Como todos estos términos son dependientes de la temperatura, la ecuación se puede integrar de la siguiente manera, Ecuación 3:

$$\ln P_V = \left[\frac{H_v(T)}{H_V^0(T)} \right]_{\phi} \ln P_V^0 + A \quad (3)$$

Donde A es una constante de adsorción, ϕ (J/mol) es la presión de difusión o potencial de superficie del alimento. Una gráfica $\ln P_V$ versus $\ln P_V^0$ da una línea recta si la proporción $H_v(T)/H_V^0(T)$ es constante dentro del rango de temperaturas usadas.

La entalpía integral fue calculada usando la Ecuación 4, a una presión constante de difusión (Beristain *et al.* 1994, 1221) y de acuerdo con Nunes & Rotstein (1991), Ecuación 5:

$$(\Delta H_{int})_T = \left[\frac{H_v(T)}{H_V^0(T)} - 1 \right]_{\phi} H_V^0(T) \quad (4)$$

$$\phi = \mu_{ap} - \mu_a = RT \frac{W_{ap}}{W_v} \int_0^{a_w} M d \ln(a_w) \quad (5)$$

Donde μ_a (J/mol) es el potencial químico del adsorbente en la fase condensada, μ_{ap} (J/mol) es el potencial químico del adsorbente puro, W_{ap} (J/mol) es el peso molecular del adsorbente, y W_v (g/mol) es el peso molecular del agua.

Calculando $H_v(T)/H_V^0(T)$ de la Ecuación 3 y sustituyendo en la Ecuación 4 es posible calcular la entalpía integral siempre y cuando se disponga de una buena determinación de $H_V^0(T)$ tal como lo propone Wexler (1976), Ecuación 6:

$$H_V^0(T) \text{ J/mol}^{-1}\text{K}^{-1} = 6.15 \times 10^4 - 94.14T + 17.74 \times 10^{-2}T^2 - 2.03 \times 10^{-4}T^3 \quad (6)$$

Utilizando los valores obtenidos de la entalpía molar integral $(\Delta H_{int})_T$ es posible estimar los cambios de entropía integral $(\Delta S_{int})_T$ mediante la siguiente Ecuación 7:

$$(\Delta S_{int})_T = S_s - S_L = -\frac{(\Delta H_{int})_T}{T} - R \ln a_w \quad (7)$$

Donde $SS=S/N_I$ (J/mol K) es la entropía integral del agua adsorbida en el alimento y SL (J/mol K) es la entropía molar del agua adsorbida a temperatura y presión constante.

La presión de vapor de agua del producto puede calcularse para una humedad y temperatura dadas, a partir del valor de la a_w y de la presión de vapor del agua pura (p^o) a la misma temperatura.

La energía libre de Gibbs (ΔG) proporciona valiosa información sobre el grado de higroscopicidad del producto alimenticio en cuestión y puede predecir la espontaneidad del proceso.

La energía libre de Gibbs ΔG fue calculada a partir de la ecuación de Beristain *et al.* (1996), Ecuación 8:

$$\Delta G = (\Delta H_{int})_T - T(\Delta S_{int})_T \quad (8)$$

Evaluación de color durante el almacenamiento

Se evaluó el cambio en la coloración de las muestras durante el almacenamiento empleando un colorímetro Color Tec PCM, basado en los 3 componentes del espacio de color de la escala CIELab: L^* , a^* y b^* (Kim *et al.* 2002, 2957). A partir de las variables L^* , a^* , b^* se determinó el cambio de color ΔE , utilizando la Ecuación 9:

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (9)$$

Análisis de la microestructura

Para el estudio de la topografía externa, las microcápsulas se montaron en un porta muestras con doble lado adhesivo y fueron recubiertas con grafito para ser observadas a diferentes aumentos utilizando un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-5600LV a 15 Kv.

Eficiencia de encapsulación

Aceite superficial

El contenido de OCH superficial se determinó de acuerdo la técnica de Sankarikutty *et al.* (1988) y Domínguez *et al.* (2015). Se colocaron 2 ± 0.01 g de encapsulado y 20 mL de éter de petróleo en un frasco ámbar y se agitó manualmente durante 5 minutos. Se filtró la solución con papel filtro y se recogió cada una de las muestras en un vaso de precipitado. Al residuo de la filtración se le realizó un lavado con 10 mL de acetona. Se colectó el disolvente en un vaso de precipitado y fue evaporado en una estufa de convección a (ShellLab Inc.) 70°C por 24 h y/o hasta alcanzar el peso constante.

Aceite total

La cantidad total de OCH se determinó por el método Soxhlet. Un peso de 2 ± 0.01 g de encapsulado se colocó en papel filtro bien sellado llevándose a cabo la extracción con n-hexano J.T. Baker (Center Valley, PA. USA) durante 4 horas, mediante goteo constante de aproximadamente 10 gotas/min.

Al término de este tiempo se colectó todo el disolvente y se eliminó el exceso del mismo utilizando un rotavapor marca Heidolph, modelo LABOROTA 4001-efficient. Finalmente, la muestra se llevó a una estufa de vacío (ShellLab Inc.) por 24 h. La diferencia de pesos se reportó como g aceite total/g de encapsulado (Domínguez *et al.* 2015, 152).

Para el cálculo de la eficiencia de encapsulación se utilizó la ecuación 10 (Pauletti & Amestoy, 1999):

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{\text{Aceite total} - \text{Aceite superficial}}{\text{Aceite total}} \times 100 \quad (10)$$

Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado y se muestra el promedio con la desviación estándar. Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA de una vía. Las diferencias entre medias fueron determinadas por la prueba de Tukey usando el software SPSS V18 (13M® SPSS®, Armonk, N.Y., USA).

Resultados

Comportamiento de adsorción y propiedades termodinámicas

Para el ajuste de los datos experimentales se utilizó la ecuación de Henderson en lugar de la ecuación de GAB (Guggenheim, Anderson y de Boer) en función de la irregularidad que presentaron las isothermas ajustadas bajo este modelo matemático, pues se obtuvieron valores inferiores a la unidad para la constante K de GAB, lo que representaría que los valores de a_w llegarían a ser mayores que 1, considerándose una inconsistencia termodinámica (García-Alvarado *et al.* 1995, 2141).

La Figura 1 muestra los puntos experimentales (símbolos) y la línea continua muestra el ajuste de las isothermas de adsorción de agua a 25, 35 y 45 °C para ambas preparaciones del complejo de inclusión molecular OCH- β CD usando la ecuación de Henderson. Todas las isothermas mostraron una forma sigmoideal típica para alimentos, las que pueden ser clasificadas como del tipo II (Brunauer *et al.* 1940, 1723), que es indicativo de una adsorción física en multicapas y características de productos solubles.

Con respecto al efecto de la temperatura, la Figura 1 muestra también la dependencia de los fenómenos de adsorción con la temperatura, es decir, la higroscopicidad disminuye con el aumento de la temperatura. Este comportamiento se atribuye a que las interacciones de los componentes con el agua se reducen (menor energía de enlace) con la superficie de adsorción.

Por otro lado, es también deducible de las isothermas, que el microencapsulado OCH- β CD en la proporción 20:80 es más higroscópico que el preparado en la razón 30:70, en las tres temperaturas de análisis, pues mostró grandes cambios en la humedad con el aumento de la a_w , mientras que en las isothermas para el complejo en la preparación 30:70 se presentaron cambios menores de humedad con el aumento de la a_w , lo que las hace teóricamente más estables (Labuza, 1980, 67), puesto que la estabilidad física, química y microbiológica de un alimento depende de las características de adsorción de humedad del agua.

Cambios en la microestructura de los alimentos durante su almacenamiento son afectados por el contenido de humedad, así como por el estado en el que se encuentra el agua dentro de los alimentos. Alimentos más higroscópicos, están más propensos a que se lleven a cabo reacciones de deterioro.

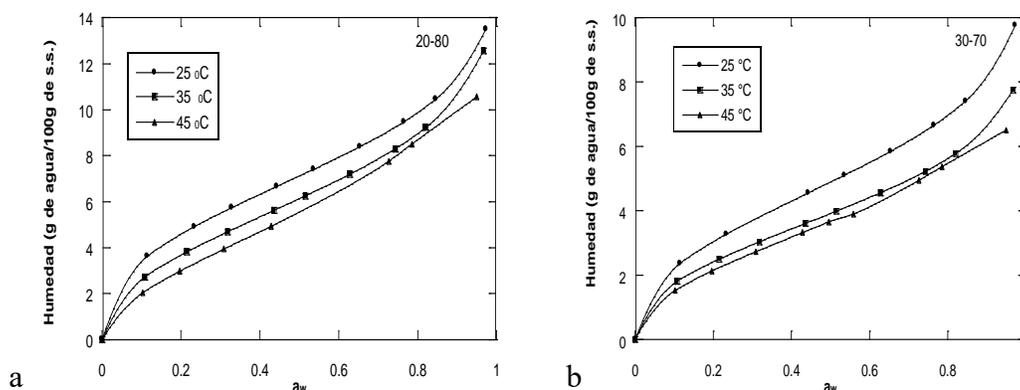


Figura 1. Isothermas de adsorción a 25, 35 y 45 °C para el complejo de inclusión molecular OCH-βCD en su preparación 20:80 (a) y 30:70 (b), ajustadas con el modelo de Henderson.

En la Tabla 2 se muestran los valores de los parámetros de la ecuación de Henderson para las isothermas del complejo de inclusión molecular (OCH-βCD) almacenado en sus dos proporciones de preparación y a las tres temperaturas de estudio. Se obtuvo un ajuste del modelo aceptable pues en todos los casos el % *EMR* estuvo por debajo del 10 %, y R^2 presenta un valor cercano a la unidad (Lomauro *et al.* 1985).

Los valores del parámetro k_1 aumentaron con la temperatura, los menores valores indican una mayor velocidad de equilibrio en la humedad siendo ésta dependiente de su estado inicialmente mayor (Flores *et al.* 2008), estos resultados coinciden con lo reportado por Ayala-Aponte (2011), al ajustar a la ecuación de Henderson a los datos de adsorción en harina de yuca a diferentes temperaturas.

Tabla 2. Parámetros estimados de la ecuación de Henderson para el complejo de inclusión molécula OCH-βCD.

Proporción	T (°C)	k_1^*	k_2^*	% <i>EMR</i> *	R^2
20:80	25	50.426	1.533	9.474	0.974

Propiedades termodinámicas de la oleoresina de chile habanero (*Capsicum Chinense*) microencapsulada en β -ciclodextrina

	35	151.912	1.814	5.198	0.951
	45	185.546	1.916	8.549	0.937
	25	144.185	1.649	6.518	0.981
30:70	35	446.795	1.968	4.903	0.947
	45	1183.345	2.221	6.354	0.902

* k_1 y k_2 , son parámetros característicos del producto, % *EMR*=Error medio relativo.

A partir de propiedades termodinámicas integrales es posible obtener información aplicable en el control de la estabilidad de los alimentos, si se cuenta con isothermas a tres temperaturas (Azua & Beristain, 2007).

En la Figura 2 se observa tanto en el complejo de inclusión OCH- β CD en la proporción 30:70 y en la 20:80, que al inicio y conforme se incrementa la a_w las moléculas de agua tienen acceso a sitios de mayor energía de interacción, mientras que con posteriores aumentos en la a_w ocurre una caída gradual en la entalpía integral.

Esto es debido a que, inicialmente, la adsorción ocurre en los sitios más activos disponibles y conforme estos sitios llegan a ser ocupados ocurre una interacción de las moléculas de vapor de agua con los sitios activos menos favorables, así como la formación de multicapas de vapor de agua adsorbida.

El valor máximo de entalpía integral nos indica el cubrimiento total de los sitios de adsorción más fuertes y las mayores interacciones agua-sólido (Beristain & Azua, 1990).

De lo anterior se deduce que en el complejo de inclusión OCH- β CD en la formulación 20:80, existen sitios activos de adsorción de mayor energía que en la formulación 30:70. Lo que indica que la interacción energética entre el agua y el microencapsulado fue mayor en la formulación 20:80 que en la 30:70 debido a que el complejo en la proporción 20:80 tiene un mayor número de sitios hidrofílicos expuestos que interaccionan con las moléculas de agua.

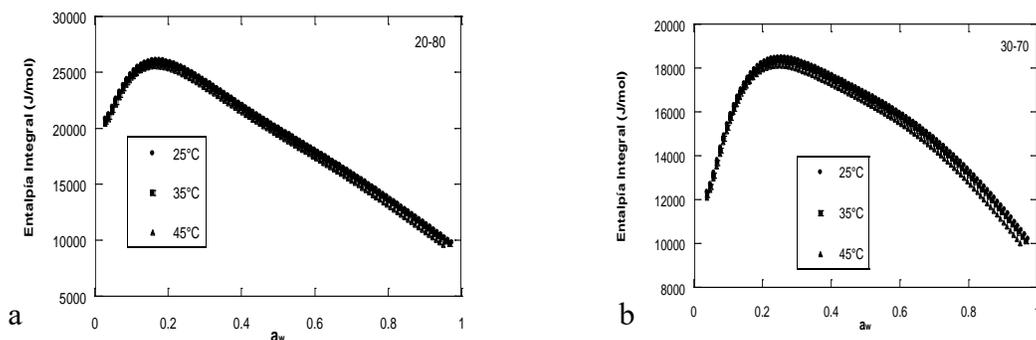


Figura 2. Variación de la entalpía integral con la a_w a 25, 35 y 45 °C para el complejo de inclusión molecular OCH- β CD en su preparación 20:80 (a) y 30:70 (b).

La entropía integral es la función termodinámica adecuada para estudiar el ordenamiento de las moléculas de agua durante la adsorción. La mínima entropía integral puede considerarse como el punto de máxima estabilidad, ya que las moléculas de agua están más ordenadas dentro de la matriz alimenticia y existen enlaces fuertes entre el adsorbato y el adsorbente (Beristain & Azuara, 1990, 229; Beristain *et al.* 2002, 206; Azuara & Beristain, 2006, 1501; Domínguez *et al.* 2007, 576; Gutiérrez *et al.* 2007, 54; Viveros *et al.* 2013, 29).

La Figura 3 muestra los cambios en la entropía integral de las micropartículas del complejo de inclusión molecular OCH- β CD, en sus dos formulaciones de elaboración, 20:80 y 30:70. Se puede observar que en el complejo 30:70 las moléculas de agua tienen acceso a sitios de menor energía de interacción, que en la proporción 20:80, esto es debido al estado en el que se encuentra el agua dentro de la matriz del alimento, ya que como se mencionó anteriormente, en la proporción 20:80 se tiene un mayor número de sitios hidrofílicos expuestos que interaccionan con las moléculas de agua.

Analizando la gráfica para la formulación 20:80 a 25 °C el valor de la mínima entropía integral se presentó a una $a_w=0.2$, que corresponde a un contenido de humedad de 4.527 g H₂O/g s.s., pudiendo ser interpretado este valor como el contenido de humedad correspondiente a la monocapa (Nunes & Rotstein, 1991, 113), pues esta mínima entropía se presenta con la saturación de los grupos polares correspondientes al agua adsorbida en los sitios más activos. Para el encapsulado elaborado con la formulación 30:70, se presentó una zona, en un intervalo de a_w de 0.3 a 0.6, en el cual el mínimo valor de la entropía no varía apreciablemente con la a_w , estos

resultados concuerda con lo ya reportado por Viveros *et al.* (2013), y Beristain *et al.* (1996), pues permite desplazar la mínima entropía integral a mayor a_w y así tener alimentos más estables.

Lo anterior nos confirma que el complejo en la preparación 30:70 tiene grandes ventajas de estabilidad sobre el complejo 20:80, en la protección contra el deterioro ocasionado a los carotenoides de la OCH microencapsulada.

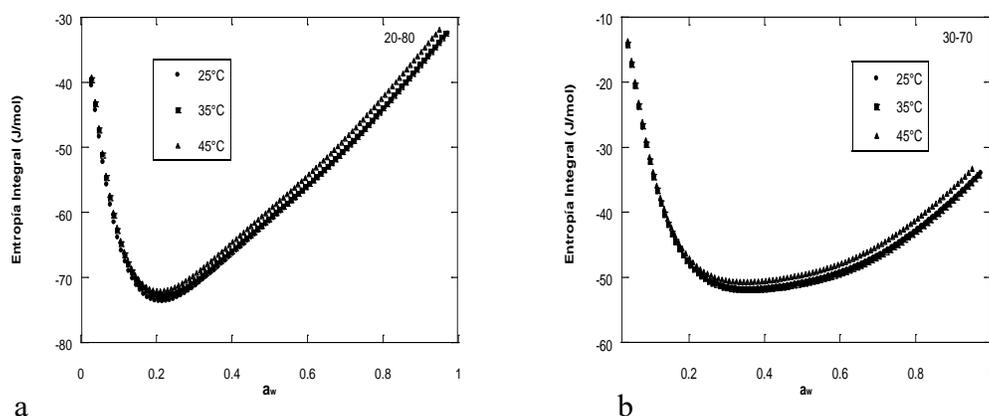


Figura 3. Variación de la de la entropía integral con la a_w a 25, 35 y 45 °C para el complejo de inclusión molecular OCH- β CD en su preparación 20:80 (a) y 30:70 (b).

El conocimiento de la variación de la energía libre de Gibbs proporciona valiosa información sobre el grado de higroscopicidad del producto alimenticio en cuestión y puede predecir la espontaneidad de un proceso.

La Figura 4 muestra los cambios en la energía libre de Gibbs con respecto a la a_w del complejo de inclusión molecular de OCH- β CD elaborado con las formulaciones 20:80 y 30:70 y almacenadas a diferentes temperaturas, podemos observar que en ambos casos fue necesaria una mayor energía libre para llevar una molécula de agua del estado de vapor al estado adsorbido sobre la superficie de las micropartículas al aumentar la temperatura.

Con lo anterior se comprueba que la adsorción es un proceso exotérmico, en el que una parte de la energía desprendida se utiliza en realizar el trabajo necesario para que la molécula se adsorba y el resto de la energía se libera en forma de calor y a su vez produce los cambios de entropía en el agua adsorbida (Beristain & Azuara, 1990; Flores, 2010).

Se puede observar también, en función de una comparación por temperaturas, que los valores de ΔG presentados por el complejo de 30:70 en general tienen valores más grandes (más negativos) que el complejo en la proporción 20:80, lo que indica que necesitará más energía libre para llevar una molécula de agua en estado de vapor al estado adsorbido.

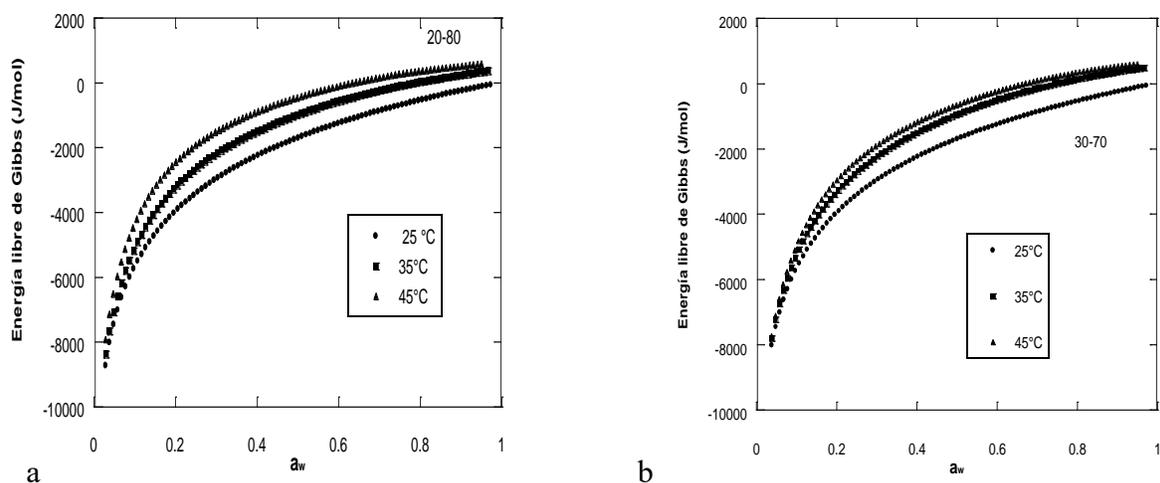


Figura 4. Variación de la de la energía libre de Gibbs con la a_w a 25, 35 y 45 °C para el complejo de inclusión molecular OCH- β CD en su preparación 20:80 (a) y 30:70 (b).

Evaluación de la variación de color (ΔE) durante el almacenamiento

En la Tabla 3 se muestran las variaciones de ΔE para ambas preparaciones almacenadas a las diferentes temperaturas de estudio, donde se puede observar que conforme aumenta la temperatura de almacenamiento los valores de ΔE aumentan en ambas proporciones.

Un fenómeno muy notorio, es la marcada pérdida de color que presentaron las muestras a $a_w \sim 0.5$, lo cual podría explicarse, de acuerdo a Rodríguez-Huezo *et al.* (2004), a la presencia de ciertas condiciones prooxidantes que afectaron la calidad de los carotenoides presentes, causadas por la reducida viscosidad en estas condiciones de a_w .

Los valores menores se presentaron a una temperatura de 25 °C y a una a_w alrededor de 0.536, siendo el complejo en la preparación 30:70, el que conservó mayormente su coloración rojiza al presentar un valor de ΔE de 0.672, que de acuerdo con Kim *et al.* (2002), corresponde a cambios de “imperceptibles” a “apenas notorios”, y al mismo tiempo se encuentra dentro de la zona de mínima entropía integral, que nos indicó la máxima estabilidad del complejo de OCH-

β CD 30:70, y de acuerdo con los resultados de las propiedades termodinámicas, es en esta zona donde las reacciones de deterioro serán poco probables si se almacena a estos niveles de a_w .

De acuerdo a Lozano & Ibarz (1997), el valor de ΔE es el parámetro colorimétrico más representativo ocasionado por reacciones de degradación de carotenoides provocadas por incremento en la temperatura del procesamiento de las mismas.

Tabla 3. Cambios de color (ΔE) para los complejos de inclusión molecular OCH- β CD en función de la actividad de agua a 25, 35 y 45 °C, después de 5 semanas de almacenamiento.

Proporción	Temperatura	a_w	ΔE
20:80	25 °C	0.115	9.469±0.36 ^b
		0.329	5.315±0.35 ^a
		0.536	2.563±0.13 ^a
		0.765	3.284±0.12 ^a
	35 °C	0.108	15.754±0.098 ^a
		0.318	13.142±0.16 ^a
		0.515	14.088±0.30 ^a
		0.743	12.735±0.26 ^a
	45 °C	0.103	63.286±0.11 ^a
		0.309	59.395±0.25 ^a
		0.496	63.501±0.19 ^a
		0.727	24.252±0.11 ^b
30:70	25 °C	0.115	3.930±0.01 ^a
		0.329	3.53±0.09 ^a
		0.536	0.672±0.02 ^b
		0.765	3.015±0.20 ^a
	35 °C	0.108	45.344±0.29 ^a
		0.318	28.537±0.25 ^b
		0.515	20.207±0.35 ^c
		0.743	14.925±0.09 ^d
	45 °C	0.103	57.751±0.24 ^a
		0.309	39.766±0.32 ^b
		0.496	49.485±0.19 ^c
		0.727	18.102±0.090 ^d

^{abcd} Valores en la misma columna con diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Promedio de tres determinaciones \pm desviación estándar.

De esta manera, con los análisis termodinámicos realizados en este trabajo y las pruebas de la variación de ΔE , fue posible obtener un indicativo de las mejores condiciones de temperatura y humedad relativa, para almacenar los complejos de inclusión molecular de oleorresina y en qué

proporción, con el propósito de evitar cambios drásticos en el color, producto de la degradación térmica y oxidativa de los carotenoides presentes en la muestra.

Análisis de la microestructura

En la Figura 5 se presentan las micrografías de la β CD en estado puro y a diferentes aumentos, se puede observar que este material de pared está compuesto de partículas irregulares que no tienen una geometría homogénea y por lo tanto no presentaron partículas uniformes, al menos tal y como se visualizó en las muestras analizadas por SEM.

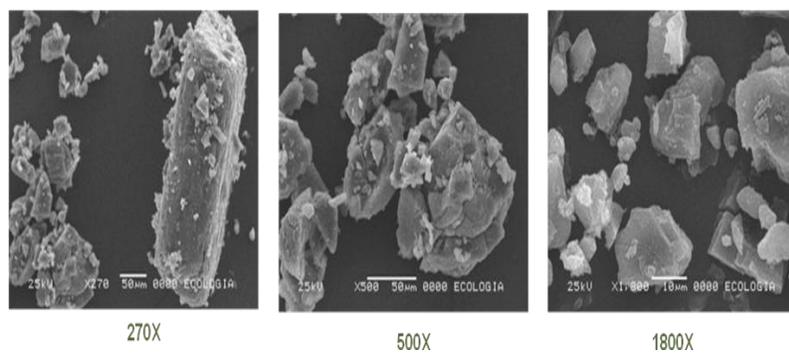


Figura 5. Micrografías de la β -ciclodextrina en estado puro.

La Figura 6 muestra las micrografías de las micropartículas del complejo de inclusión OCH- β CD, en las proporciones de preparación 20:80 y 30:70 respectivamente.

Donde se puede observar que las micropartículas mantuvieron una forma y tamaño irregular, con la formación de aglomerados de aspecto más redondeado y compacto debido a la incorporación de OCH; similar a lo reportado en trabajos anteriores en los que se han elaborado complejos de inclusión molecular con aceites vegetales en β CD (Reineccius *et al.* 2002, 3272; Padukka *et al.* 2000, 59).

También es posible notar que la proporción de preparación tiene un efecto en la morfología de las micropartículas, con la proporción 30:70 se obtuvieron micropartículas menos irregulares que con 20:80, que en base a los estudios comportamiento de adsorción de agua y propiedades termodinámicas también fueron las más estables.

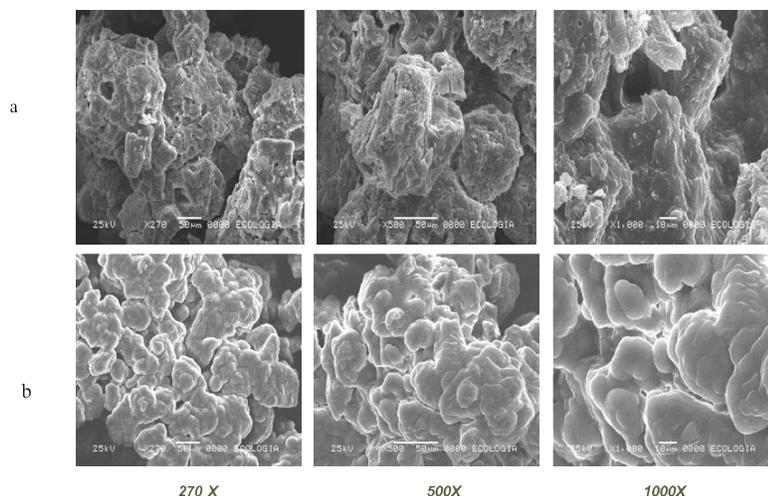


Figura 6. Micrografías del complejo OCH- β CD recién elaborado en la proporción 20:80 (a) y 30:70 (b)

Eficiencia de encapsulación (*EE*)

La *EE* para los complejos OCH- β CD en su proporción 20:80 fue de 79.81% y para 30:70 fue más baja 76.44 %, sin embargo no presentaron diferencias significativas (Tabla 4), estos resultados fueron reportados previamente por Domínguez *et al.* 2015, 154.

Los resultados pueden ser atribuidos a la relación material de pared-núcleo utilizada, ya que la relación pared-núcleo es un parámetro importante en la eficiencia de microencapsulación de los productos secos en polvo (Ramakrishnan *et al.* 2014). Minemoto *et al.* (2002), microencapsularon ácido linoleico, donde observaron que la eficiencia de microencapsulación disminuye cuando la relación pared-núcleo aumenta. A pesar que la *EE* fue menor para la proporción 30:70, no se presentaron diferencias significativas en los resultados (Tabla 4).

Tabla 4. Eficiencia de Encapsulación (*EE*) para los complejos de inclusión OCH- β CD.

Proporción OCH: β CD	Aceite superficial (%)	Aceite total (%)	<i>EE</i> (%)
20:80	3.62 \pm 0.017 ^a	17.93 \pm 0.08 ^a	79.81 \pm 0.048 ^a
30:70	6.45 \pm 0.06 ^b	27.38 \pm 0.09 ^b	76.44 \pm 0.20 ^a

*Valores en la misma columna con diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Promedio de tres determinaciones \pm desviación estándar.

Conclusiones

El proceso de adsorción resultó ser energéticamente menos espontáneo en el complejo de inclusión OCH- β CD en la proporción 30:70 y por lo tanto resultó ser menos higroscópico que el preparado en la proporción 20:80. Respecto al valor de la entropía integral para el complejo de inclusión 20:80 el valor mínimo se presentó a un $a_w = 0.2$; para el elaborado con la formulación 30:70, se presentó una zona amplia de mínima entropía integral, que va de valores de $a_w = 0.3-0.6$ dándole al producto un mayor margen de estabilidad, ante el deterioro causado por los efectos de la humedad y la a_w . Finalmente, de acuerdo con los resultados termodinámicos y la evaluación en la variación de color (ΔE) de los OCH- β CD fue posible determinar que, la proporción 30:70 fue la más estable y que las mejores condiciones de almacenamiento se obtuvieron a una a_w de alrededor de 0.536 y a una temperatura de 25 °C.

Referencias

- Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Romero-Romero, R., Varela-Guerrero, V., Álvarez-Ramírez, J., Pérez-Alonso, C. (2017). Thermodynamic sorption properties and glass transition temperature of tamarind seed mucilage (*Tamarindus indica* L.). Food and Bioproducts Processing: 166-176.
- Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J. C., Rial-Otero, R., Simal-Gándara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. Food Hydrocolloids (23): 1631-1640.
- Ayala-Aponte, A. (2011). Estimación de las isotermas de adsorción y del calor isostérico en harina de yuca. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial (9): 88-96.
- Azuara, E., Beristain, C.I. (2006). Enthalpic and entropic mechanisms related to water sorption on yogurt. Drying Technology (24): 1501-1507.
- Azuara, E., Beristain, C.I. (2007). Estudio termodinámico y cinético de la adsorción de agua en proteína de suero de leche. Revista mexicana de Ingeniería Química (6): 359-365.
- Barbero, G.F., Palma, M., Barroso, C.G. (2006). Pressurized liquid extraction of capsaicinoids from peppers. Journal of Agricultural and Food Chemistry (54): 3231-3236.
- Beristain, C. I., Azuara, E. (1990). Estabilidad máxima en productos deshidratados. Ciencia (41): 229-236.

- Beristain, C. I., Diaz, R., Garcia, H. S., Azuara, E. (1994). Thermodynamic behavior of green whole and decaffeinated coffee beans during adsorption. *Drying Technology* (12): 1221-1233.
- Beristain, C.I., García, H.S., Azuara, E. (1996). Enthalpy-entropy compensation in food vapours adsorption. *Journal of Food Engineering* (30): 405-415.
- Beristain, C. I., Azuara, E., Vernon-Carter, E. J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis juliflora*) as wall material. *Journal of Food Science* (67): 206-211.
- Bhandari, B.R., D'Arcy, B.R., Thi-Bich, L. L. (1998). Lemon oil to β -cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of β -cyclodextrin and the retention of oil volatiles in the complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (46): 1494-1499.
- Brunauer, S., Deming, L.S., Deming, W.E., Teller, E. (1940). On a Theory of the vander waals adsorption of gases. *Journal of the American Chemical Society* (62): 1723-1732.
- Cano-Sarmiento, C., Alamilla-Beltrán, L., Azuara-Nieto, E., Hernández-Sánchez, H., Téllez-Medina, D.I., Jiménez-Martínez, C., Gutiérrez-López, G.F. (2015). High shear methods to produce nano-sized food related to dispersed systems. In *Food Nanoscience and Nanotechnology*, compilado por Hernández-Sánchez, H., Gutiérrez-López, G., 145-161. Springer International Publishing.
- Cho, Y.H., Park, J. (2009). Encapsulation of flavor by molecular inclusion using β -cyclodextrin: comparison with spray-drying process using carbohydrate-based wall materials. *Food Science and Biotechnology* (18): 185-189.
- Domínguez, L., Azuara, E., Vernon-Carter, E. J. Beristain, C. I. (2007). Thermodynamic analysis of the effect of water activity on the stability of macadamia nut. *Journal of Food Engineering* (81): 566-571.
- Domínguez-Cañedo, I.L., Beristain-Guevara, C.I. (2011). Microencapsulation of habanero chili (*Capsicum chinense*) oleoresin in β -cyclodextrin and antioxidant activity during storage. *Memorias del Congreso Internacional "III European Drying Conference-EuroDrying 2011"*, Palma de Mallorca, España, 26–28 October ISBN 978-84-694-7298-9.
- Domínguez, L., Beristain, C.I., Díaz, R., Vázquez, L. (2015). Degradación de carotenoides y capsaicina en el complejo de inclusión molecular de oleoresina de chile habanero (*Capsicum chinense*) con β -ciclodextrina. *CyTA Journal of Food* (13): 151-158.

- Flores, J.S., Giraldo, G., Duque, A. (2008). Isotermas de sorción modeladas a partir de la determinación de la humedad y la actividad de agua en trozos de frutas tropicales. *Revista de Investigaciones de la Universidad del Quindío* (18): 81-86.
- Flores-Andrade, E. (2010). Construcción de sistemas nanoestructurados y su aplicación en estudios sobre estabilidad de alimentos. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Alimentos, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.
- Flores-Andrade, E., Pascual-Pineda, L.A., Quintanilla-Carvajal, M.X., Gutiérrez-López, G.F. Beristain, C.I. and Azuara, E. (2017). Fractal surface analysis and thermodynamic properties of moisture sorption of calcium–sucrose powders. *Drying Technology*: 1-14.
- García-Alvarado, M.A., De La Cruz-Medina, J., Waliszewski-Kubiak, K.N., Salgado-Cervantes, M.A. (1995). Statistical analysis of the GAB and Henderson equations for sorption isotherms of foods. *Drying Technology* (13): 2141-2152.
- Gutierrez, G. F., Flores, E., Pascual, L. A., Azuara, E., Chanona, J. J., & Alamilla, L. (2007). Construction of micro and nano-structures: possibility for food preservation. *Alimentos Ciencia e Ingeniería* (16): 54-63.
- Hassini, L., Bettaieba, E., Desmorieux, H., Sandoval, S., Touil, A. (2015). Desorption isotherms and thermodynamic properties of prickly pear seeds. *Industrial Crops and Products* (67): 457–465.
- Kanakdande, D., Bhosale, R., Singhal, R.S. (2007). Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers* (67): 536-541.
- Karathanos, V. T., Mourtzinos, I., Yannakopoulous, K., Andrikopoulos, N. K. (2007). Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β -cyclodextrin. *Food Chemistry* (101): 652-658.
- Kim, S., Park, J.B., Hwang, I. J. (2002). Quality attributes of various varieties of Korean red pepper powders (*Capsicum annuum L.*) and color stability during sunlight exposure. *Food Chemistry and Toxicology* (67): 2957-2961.
- Krishnan, S., Bhosale, R., Singhal, R. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: evaluation of blends of gum Arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrates Polymers* (61): 95-102.

- Kurian, A.L., Starks, A.N. (2002). HPLC analysis of capsaicinoids extracted from whole orange habanero chili Peppers. *Journal of Food Science* (67): 956-962.
- Labuza, T.P. (1980). Enthalpy-entropy compensation in food reactions. *Food Technology* (34): 67-77.
- Labuza, T. P., Kaanane, A., Chen, J. Y. (1985). Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. *Journal of Food Science* (50): 385-391.
- Lang, K. W., McCune, T. D., Steinberg, M. P. (1981). Proximity equilibration cell for rapid determination of sorption isotherms. *Journal of Food Science* (46): 936-938.
- Lomauro, C.J., Bakshi, A.S., Labuza, T.P. (1985). Evaluation of food moisture sorption isotherms equations. Part II: Milk, coffee, tea, nuts, oilseed, spices and starchy foods. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* (18): 118-124.
- Lozano J.E., Ibarz, A. (1997). Colour changes in concentrated adri pulp during heating at high temperatures. *Journal of Food Engineering* (31): 365-373.
- Minemoto, Hakamata, K, Adachi, S., Matsuno, R. (2002). Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation* (9): 181-189.
- Nunes, R.V., Rotstein, E. (1991). Thermodynamics of the water-foodstuff equilibrium. *Drying Technology* (9): 113-137.
- Othmer, D.F. (1940). Correlating vapor pressure and latent heat data. A new plot. *Industrial and Engineering Chemistry* (32): 841-856.
- Padukka, I., Bhandari, B., D'Arcy, B. (2000). Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from β -cyclodextrin-lemon oil complex powder. *Journal of Food Composition and Analysis* (13): 59-70.
- Pauletti, M.S., Amestoy, P. (1999). Butter microencapsulation as affected by composition of wall material and fat. *Journal of Food Science* (64): 279-281.
- Ramakrishnan, S., Ferrand, M., Muñoz, A., Mestres, M., De Lamo, S., Güell, C. (2014). Influence of emulsification technique and wall composition on physicochemical properties and oxidative stability of fish oil microcapsules produced by spray drying. *Food and Bioprocess Technology* (7): 1959-1972.

- Reineccius, T. A., Reineccius, G. A., Peppard, T. L. (2002). Encapsulation of flavors using cyclodextrins: Comparison of flavor retention in alpha, beta and gamma types. *Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology* (67): 3271-3279.
- Reineccius, G.A. (2007). Flavour-isolation techniques. *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (18): 409-426.
- Restrepo, G. M. (2006). Oleorresinas de capsicum en la industria alimentaria. *Revista Lasallista de Investigación* (3): 43-47.
- Rodríguez-Huezo, M.E., Pedrosa-Islas, R., Prado-Barragán, L.A., Beristain, C.I., Vernon-Carter, E.J. (2004). Microencapsulation by spray-drying of multiple emulsion containing carotenoids. *Journal of Food Science* (69): E351-E358.
- Sankarikutty, B., Sreekumar, M.M., Narayanan, C.S., Mathew, A.G. (1988). Studies on microencapsulation of cardamom oil by spray drying technique. *Journal of Food Science and Technology* (25): 325-355.
- Shimada, Y., Roos, Y., Karel, M. (1991). Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. *Journal of Agricultural Food Chemistry* (39): 637-641.
- Shaikh, J., Bhosale, R., Singhal, R. (2006). Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food chemistry* (94): 105-110.
- Singh, S.R., Jarret, R., Russo, V., Majetich, G., Shimkus, J., Bushway, R., Perkins, B. (2009). Determination of capsinoids by HPLC-DAD in capsicum species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (57): 3452-3457.
- Viveros, R., Tellez, D., Perea, M.J., Alamilla, L., Cornejo, M., Beristain, C.I., Azuara, E., Gutiérrez, G.F. (2013). Encapsulation of ascorbic acid into calcium alginate matrices through coacervation coupled to freeze-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (12): 29-39.
- Wexler, A. (1976). Vapor pressure formulation for water in range 0 to 100°C. A revision. *Journal of Research of the National Bureau of Standards. A. Physics and Chemistry* (80): 775–785.
- Zaibunnisa, A.H., Norashikin, S., Mamot, S., Osman, H. (2009). Stability of curcumin in turmeric oleoresin- β -cyclodextrin inclusion complex during storage. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences* (13): 165-169.